

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Научно-практический журнал
Выходит 4 раза в год

Том 16, № 3, 2017

ISSN 1682-0363 (print)
ISSN 1819-3684 (on-line)

УЧРЕДИТЕЛЬ И ИЗДАТЕЛЬ:

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный
медицинский университет» Минздрава России

Журнал основан в 2001 году
Зарегистрирован в Министерстве РФ
по делам печати, телерадиовещания
и средств массовых коммуникаций
Свидетельство регистрации ПИ № 77-7366
от 26.03.2001 г.

Журнал издается при поддержке
ТРОО «Академия доказательной медицины»

Журнал входит в Перечень ведущих
рецензируемых научных журналов и изданий,
выпускаемых в РФ, в которых должны быть
опубликованы основные научные результаты
диссертаций на соискание ученой степени
доктора и кандидата наук

Индексация:
Web of Science (WoS (ESCI))
РИНЦ (Science Index)
RSCI
Ulrich's International Periodicals Directory
Cyberleninka
DOAS

Редакция:
634050, г. Томск, пр. Ленина, 107.
Тел.: (382-2)-51-41-53.
<http://bulletin.tomsk.ru>
E-mail: bulletin@bulletin.tomsk.ru

Оригинал-макет:
Издательство СибГМУ.
634050, г. Томск, Московский тракт, 2.
Редактор Е.Е. Степанова
Электронная верстка, дизайн обложки
А.Д. Кривцова

Отпечатано в ООО «Литбюро»,
634055, г. Томск, ул. Королёва, 4.

Подписано в печать 19.09.2017 г.
Формат 60 × 84/8. Печать офсетная.
Бумага мелованная. Гарнитура «Мысль».
Печ. л. 29,75. Усл. печ. л. 27,66.
Тираж 500 экз. Заказ 238.

Цена – свободная.
Дата выхода в свет 26.09.2017.

Подписка по каталогу «Роспечать» в любом
отделении почты России, подписной индекс 46319

При перепечатке ссылка на
«Бюллетень сибирской медицины» обязательна

Ответственность за достоверность информации,
содержащейся в рекламных материалах, несут рекламодатели.

© Сибирский государственный
медицинский университет, 2017

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

В.В. Новицкий, *академик РАН* (Томск)

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

А.М. Огородова, *член-корреспондент РАН* (Томск)

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР

В.В. Калюжин, *профессор, д-р мед. наук* (Томск)

РЕДКОЛЛЕГИЯ:

В.М. Алифирова, *профессор, д-р мед. наук* (Томск)
А.И. Афтанас, *академик РАН* (Новосибирск)
А.Н. Байков, *профессор, д-р мед. наук* (Томск)
А.А. Баранов, *академик РАН* (Москва)
А.И. Венгеровский, *профессор, д-р мед. наук* (Томск)
Е.Г. Григорьев, *член-корреспондент РАН* (Иркутск)
А.М. Дыгай, *академик РАН* (Томск)
М.В. Завьялова, *профессор, д-р мед. наук* (Томск)
А.В. Капилевич, *профессор, д-р мед. наук* (Томск)
С.И. Карась, *профессор, д-р мед. наук* (Томск)
Р.С. Карпов, *академик РАН* (Томск)
В.И. Киселев, *член-корреспондент РАН* (Барнаул)
Н.А. Корнетов, *профессор, д-р мед. наук* (Томск)
С.В. Логвинов, *профессор, д-р мед. наук* (Томск)
А.Д. Макацария, *член-корреспондент РАН* (Москва)
А.С. Намазова-Баранова, *академик РАН* (Москва)
С.А. Некрылов, *профессор, д-р ист. наук* (Томск)
В.П. Пузырёв, *академик РАН* (Томск)
В.Ю. Серебров, *профессор, д-р мед. наук* (Томск)
В.И. Стародубов, *академик РАН* (Москва)
Е.А. Степовая, *профессор, д-р мед. наук* (Томск)
А.Т. Тепляков, *профессор, д-р мед. наук* (Томск)
В.А. Ткачук, *академик РАН* (Москва)
В.А. Труфакин, *академик РАН* (Новосибирск)
О.И. Уразова, *член-корреспондент РАН* (Томск)
О.С. Федорова, *профессор, д-р мед. наук* (Томск)
И.А. Хлусов, *профессор, д-р мед. наук* (Томск)
Е.А. Чойнзонов, *академик РАН* (Томск)
А.Г. Чучалин, *академик РАН* (Москва)
А.В. Шабров, *академик РАН* (Санкт-Петербург)
В.А. Шкурूपий, *академик РАН* (Новосибирск)
Г.С. Якобсон, *академик РАН* (Новосибирск)
М.С. Юсубов, *профессор, д-р хим. наук* (Томск)
А. Antsaklis, *профессор* (Греция)
F. Chervenak, *профессор* (США)
C. Dadak, *профессор* (Австрия)
Y. Dekhtyar, *профессор* (Латвия)
M. Erppl, *профессор* (Германия)
D. Gailani, *профессор* (США)
S. Orlov, *профессор* (Канада)
M. Poyurovsky, *профессор* (Израиль)
V. Zhdankin, *профессор* (США)

BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

Peer-reviewed scientific-practical journal
Issued quarterly

Volume 16, No. 3, 2017

ISSN 1682-0363 (print)
ISSN 1819-3684 (on-line)

FOUNDER AND PUBLISHER:

Siberian State Medical University,
the Ministry for Healthcare
of the Russian Federation

Registered by the Ministry of the Russian Federation
for Affairs of the Press,
Television and Radio Broadcasting and Mass
Communication Media
Certificate of registration PI No. 77-7366
dated to 26.03.2001

The journal is published and supported
by Tomsk Regional Organization «Academy
of Evidence-based Medicine»

Bulletin of Siberian Medicine is included:
in the List of peer-reviewed scientific journals
and publications issued in the Russian Federation,
which should publish main scientific results
of doctor's and candidate's theses

Bulletin of Siberian Medicine is indexed:
Web of Science (WoS (ESCI))
Science Index
RSCI
Ulrich's International Periodicals Directory
Cyberleninka
DOAS

Editorial Board Office:
107, Lenin Av., Tomsk, 634050, Russian Federation
Telephone: +7-(382-2)-51-41-53.
<http://bulletin.tomsk.ru>
E-mail: bulletin@bulletin.tomsk.ru

Publisher: the Siberian State Medical University.
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050,
Russian Federation.
Editor E.E. Stepanova
Electronic makeup, cover design
L.D. Krivtsova

Printed in Litburo LLC,
4, Korolev Str., Tomsk, 634055, Russian Federation

Signed to print 19.09.2017
Format 60 X 84/8. Offset print.
Coated paper. Mysl' font.
P.l. 29,75. C.p.l. 27,66.
500 copies. Odder no. 238.

The price – free.
Date of publication 26.09.2017.

Pass-through copyright.
Advertising providers are liable for the truthfulness
of information in advertising materials.

EDITOR-IN-CHIEF

V.V. Novitsky, *Academician of RAS (Tomsk)*

DEPUTY-EDITOR-IN-CHIEF

L.M. Ogorodova, *Corresponding Member of RAS (Tomsk)*

SCIENCE EDITOR

V.V. Kalyuzhin, *Professor (Tomsk)*

EDITORIAL BOARD:

V.M. Alifirova, *Professor (Tomsk)*
L.I. Aftanas, *Academician of RAS (Novosibirsk)*
A.N. Baikov, *Professor (Tomsk)*
A.A. Baranov, *Academician of RAS (Moscow)*
A.I. Vengerovsky, *Professor (Tomsk)*
Ye.G. Grigoriyev, *Corresponding Member of RAS (Irkutsk)*
A.M. Dygai, *Academician of RAS (Tomsk)*
M.V. Zav'yalova, *Professor (Tomsk)*
L.V. Kapilevich, *Professor (Tomsk)*
S.I. Karas, *Professor (Tomsk)*
R.S. Karpov, *Academician of RAS (Tomsk)*
V.I. Kiselyov, *Corresponding Member of RAS (Barnaul)*
A.N. Kornetov, *Professor (Tomsk)*
S.V. Logvinov, *Professor (Tomsk)*
A.D. Makatsaria, *Corresponding Member of RAS (Moscow)*
L.S. Namazova-Baranova, *Academician of RAS (Moscow)*
S.A. Nekrylov, *Professor (Tomsk)*
V.P. Puzryov, *Academician of RAS (Tomsk)*
V.Yu. Serebrov, *Professor (Tomsk)*
V.I. Starodubov, *Academician of RAS (Moscow)*
Ye.A. Stepovaya, *Professor (Tomsk)*
A.T. Teplyakov, *Professor (Tomsk)*
V.A. Tkachuk, *Academician of RAS (Moscow)*
V.A. Trufakin, *Academician of RAS (Novosibirsk)*
O.I. Urazova, *Corresponding Member of RAS (Tomsk)*
O.S. Fedorova, *Professor (Tomsk)*
I.A. Khlusov, *Professor (Tomsk)*
Ye.L. Choinzonov, *Academician of RAS (Tomsk)*
A.G. Chuchalin, *Academician of RAS (Moscow)*
A.V. Shabrov, *Academician of RAS (St. Petersburg)*
V.A. Shkurupiy, *Academician of RAS (Novosibirsk)*
G.S. Yakobson, *Academician of RAS (Novosibirsk)*
M.S. Yusubov, *Professor (Tomsk)*
A. Antsaklis, *Professor (Greece)*
F. Chervenak, *Professor (USA)*
C. Dadak, *Professor (Austria)*
Y. Dekhtyar, *Professor (Latvia)*
M. Epple, *Professor (Germany)*
D. Gailani, *Professor (USA)*
S. Orlov, *Professor (Canada)*
M. Poyurovsky, *Professor (Israel)*
V. Zhdankin, *Professor (USA)*



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ	ORIGINAL ARTICLES
Адекенов С.М., Данилец М.Г., Ивасенко С.А., Никифоров Л.А., Кривошеков С.В., Лигачева А.А., Трофимова Е.С., Шерстобоев Е.Ю., Жданов В.В., Белоусов М.В. Фенольные соединения этанольных извлечений <i>Lemna minor</i> L., <i>Lemna trisulca</i> L. и <i>Lemna polyrrhiza</i> L. Schleid. и их иммуномодулирующая активность	Adekenov S.M., Danilets M.G., Ivashenko S.A., Nikiforov L.A., Krivoshebekov S.V., Ligacheva A.A., Trofimova E.S., Sherstoboev E.Yu., Zhdanov V.V., Belousov M.V. Phenolic compounds of ethanol extracts of <i>Lemna minor</i> L., <i>Lemna trisulca</i> L. and <i>Lemna polyrrhiza</i> L. Schleid. and their immunomodulating activity
Байтингер Н.Н., Варакута Е.Ю., Мустафина Л.Р., Коняева А.Д., Логвинов С.В., Плотников М.Б., Герасимов А.В., Потапов А.В. Эффективность применения н-тирозола для стимули- рования регенерации слизистой оболочки губы при экспериментальном стоматите	Baitinger N.N., Varakuta E.Yu., Mustafina L.R., Konjaeva A.D., Logvinov S.V., Plotnikov M.B., Gerasimov A.V., Potapov A.V. Efficacy of <i>n</i> -tyrosol medication for regeneration stimula- tion of lip mucous membrane at experimental stomatitis
Брагина О.Д., Ларкина М.С., Стасюк Е.С., Чернов В.И., Юсубов М.С., Скуридин В.С., Деев С.М., Зельчан Р.В., Булдаков М.А., Подрезова Е.В., Белоусов М.В. Разработка высокоспецифичного радиохимического соединения на основе меченых ^{99m} Tc рекомбинантных адресных молекул для визуализации клеток с ги- перэкспрессией Her-2/neu	Bragina O.D., Larkina M.S., Stasyuk E.S., Chernov V.I., Yusubov M.S., Skuridin V.S., Deyev S.M., Zelchan R.V., Buldakov M.A., Podrezova E.V., Belousov M.V. The development of a highly specific radiochemical compound based on labeled ^{99m} Tc recombinant molecules for targeted imaging of cells with the overexpression of Her-2/neu
Заднипрый И.В., Третьякова О.С., Кубышкин А.В., Сатаева Т.П. Эффективность применения концентрата полифенолов винограда «Фэнокор» при гипоксическом повреждении миокарда	Zadnipyryany I.V., Tretiakova O.S., Kubysbkin A.V., Sataieva T.P. Protective effect of grapes polyphenol concentrate “Fenokor” in terms of hypoxic myocardial injury
Горохова А.С., Григорьян А.Ю., Бежин А.И., Панкрусхева Т.А., Суковатых Б.С., Жилева А.В., Мишина Е.С., Кобзарева Е.В. Применение иммобилизованной формы бензалкония хлорида и метронидазола в лечении гнойных ран	Gorobova A.S., Grigoryan A.Yu., Bezbin A.I., Pankrusheva T.A., Sukovatykh B.S., Zbilyeva L.V., Mishina E.S., Kobzareva E.V. The use of immobilized form of benzalkonium chloride and metronidazole in the treatment of purulent wounds
Гудилина Н.А., Иванова Э.С., Сибиряков А.В., Мехоношина Н.В., Ростова Н.Б., Файзрахманов Р.А. Использование кластерного анализа при разработке подходов по выбору и назначению схем лечения ВИЧ-инфицированным пациентам	Gudilina N.A., Ivanova E.S., Sibiryakov A.V., Mekhonoshina N.V., Rostova N.B., Fayzrakmanov R.A. The use of cluster analysis at the development of approaches on selection and administration of treatment to HIV-infected patients
Иванова В.В., Мильто И.В., Суходоло И.В., Дзюман А.Н. Моделирование гипертрофии больших слюнных желез у неполовозрелых крыс: морфометрическая и гистохимическая характеристика эпителиоцитов	Ivanova V.V., Milto I.V., Sukhodolo I.V., Dzuman A.N. Major salivary gland hypertrophy model in immature rats: morphometric and histochemical epithelial cell characteristics
Иванова С.А., Алифирова В.М., Жукова И.А., Тигунцев В.В., Пожидаяев И.В., Османова Д.З., Федоренко О.Ю., Фрейдин М.Б., Миронова Ю.С., Жукова Н.Г., Бохан Н.А., Лунен А.Дж.М. Ассоциация полиморфизмов гена COMT с болезнью Паркинсона	Ivanova S.A., Alifirova V.M., Zhukova I.A., Tiguntsev V.V., Pozhidayev I.V., Osmanova D.Z., Fedorenko O.Yu., Freydin M.B., Mironova Yu.S., Zhukova N.G., Bokhan N.A., Loonen A. J.M. Association of COMT gene polymorphisms with Parkin- son's disease
Кулеш А.А., Дробаха В.Е., Куклина Е.М., Шестаков В.В. Амилоид-бета 40 как биомаркер когнитивных нарушений в остром периоде ишемического инсульта	Kulesh A.A., Drobakha V.E., Kuklina E.M., Shestakov V.V. Amyloid-beta 40 as a biomarker of cognitive impairment in acute ischemic stroke
Латышев О.Ю., Санникова Е.С., Самсонова Л.Н., Киселева Е.В., Окминян Г.Ф., Дондуп О.М., Касаткина Э.П. Нарушение формирования пола 45,X/46,XY: клинико-лабораторная характеристика пациентов	Latyshev O.Yu., Sannikova E.S., Samsonova L.N., Kiseleva E.V., Okminyan G.F., Dondup O.M., Kasatkina E.P. Disorders of sex development 45,X/46,XY: clinical and laboratory characteristics of patients
Никифорова Т.А., Доронин Б.М., Песков С.А., Марущак А.А. Значимость показателей цитокинового статуса в оценке клинического течения геморрагической трансформации ишемического инсульта	Nikiforova T.A., Doronin B.M., Peskov S.A., Maruschak A.A. Significance of indexes of cytokine status in evaluation of clinical course of hemorrhagic transformation of ischemic stroke

Рогова О.С., Самсонова Л.Н., Окминян Г.Ф., Киселева Е.В., Латышев О.Ю., Касаткина Э.П., Пыков М.И., Окулов А.Б., Мираков К.К. Исходы оперативного лечения патологии щитовидной железы у детей	107	Rogova O.S., Samsonova L.N., Okminyan G.F., Kiseleva E.V., Latyshev O.Yu., Kasatkina E.P., Pykov M.I., Okulov A.B., Mirakov K.K. Outcomes of surgical treatment of thyroid disease in children	107
Скальский С.В., Соколова Т.Ф., Сычев Д.А., Турок Н.Е. Влияние верапамила на формирование спаек при асептическом воспалении брюшины	119	Skalskiy S.V., Sokolova T.F., Sychev D.A., Turok N.E. Effect of verapamil on the formation of adhesions in aseptic peritonitis	119
Тепляков А.Т., Шилов С.Н., Попова А.А., Гракова Е.В., Березикова Е.Н., Неупокоева М.Н., Молоков А.В., Копьева К.В., Калюжин В.В. Состояние сердечно-сосудистой системы у больных с антрациклиновой кардиомиопатией	127	Tepliyakov A.T., Shilov S.N., Popova A.A., Grakova E.V., Berezikova E.N., Neupokoeva M.N., Molokov A.V., Kopeva K.V., Kalyuzhin V.V. The cardiovascular system in patients with anthracycline cardiomyopathy	127
Трус Д.А., Тихоновская О.А., Окорочков А.О., Мустафина Л.Р., Тимофеева О.С., Логвинов С.В., Герасимов А.В., Варакута Е.Ю., Потапов А.В., Суханова Г.А., Куценко И.Г. Моделирование функциональных кист яичников путем введения фолликулостимулирующего гормона	137	Trus D.A., Tikhonovskaya O.A., Okorokov A.O., Mustafina L.R., Timofeeva O.S., Logvinov S.V., Gerasimov A.V., Varakuta E.Yu., Potapov A.V., Sukhanova G.A., Kutsenko I.G. Modeling of functional ovarian cysts by introducing a follicle-stimulating hormone	137
Фанаскова Е.В., Груздева О.В., Акбашева О.Е., Тютрин И.И., Пенская Т.Ю., Учасова Е.Г., Дылева Ю.А., Барбараш О.Л. Возможность применения метода низкочастотной пьезотромбоэластографии для оценки гемостатического потенциала крови при операциях коронарного шунтирования на фоне длительной аспиринотерапии	145	Fanaskova E.V., Gruzdeva O.V., Akbasheva O.E., Tyutrin I.I., Penskaya T.Yu., Uchasova E.G.I., Dyleva Yu.A., Barbarash O.L. Possibility of application of low-frequency piezothromboelastography method for the evaluation of haemostatic potential of blood in coronary bypass surgery on the background of long aspirinotherapy	145
Хабаров Д.В., Сюткина И.П., Королева Е.Г., Смагин А.А., Кочеткова М.В., Демура А.Ю. Динамика маркеров стресс-реакции при эмболизации маточных артерий	156	Khabarov D.V., Siutkina I.P., Koroleva E.G., Smagin A.A., Kochetkova M.V., Demura A.Yu. The dynamics of the stress response markers in uterine artery embolization	156
ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ		REVIEWS AND LECTURES	
Идигов А.М., Гудков А.В., Семичев Е.В., Бушланов П.С. От первого сосудистого шва к реконструктивно-восстановительной хирургии при патологии сосудов почек	166	Idigov A.M., Gudkov A.V., Semichev E.V., Busblanov P.S. From the first vascular suture to reconstructive and restorative surgery of vascular kidneys pathology	166
Сенаторова О.В., Храмова Е.Б., Кузнецов В.А., Сергейчик О.И. Клинико-метаболические эффекты применения аминофосфонатов у детей при нарушениях сердечного ритма	176	Senatorova O.V., Khramova E.B., Kuznetsov V.A., Sergeychik O.I. Clinical and metabolic effects of aminophosphonate therapy in children with heart rhythm disturbances	176
Уфимцева М.А., Бочкарев Ю.М., Лесная О.Д., Береснева Т.А. Псевдоксантома эластическая: обзор литературы и описание клинических случаев	185	Ufimiseva M.A., Bochkarev J.M., Lesnaya O.D., Beresneva T.A. Pseudoxanthoma elasticum: literature review and case reports	185
Шейно И.Н., Ижевский П.В., Липенгольц А.А., Кулаков В.Н., Вагнер А.Р., Сухих Е.С., Варлачев В.А. Разработка бинарных технологий лучевой терапии злокачественных новообразований: состояние и проблемы	192	Sheino I.N., Izhevskiy P.V., Lipengolts A.A., Kulakov V.N., Wagner A.A., Sukbikh E.S., Varlachev V.A. Development of binary technologies of radiotherapy of malignant neoplasms: condition and problems	192
СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ		CASE OF CLINICAL PRACTICE	
Федосеева И.Ф., Попонникова Т.В., Галиева Г.Ю., Илясова О.В. Клинические наблюдения поздней младенческой и юношеской форм болезни Ниманна – Пика, тип С	210	Fedoseeva I.F., Poponnikova T.V., Galieva G.Yu., Ilyasova O.V. Clinical observations of late infantile and juvenile forms of Niemann – Pick disease type C	210
Королева Е.С., Алифиров В.М., Рязанцева А.А., Косоватцева Ю.И. Паранеопластическая мозжечковая дегенерация у пациента с антителами anti-Yo и аденокарциномой простаты	218	Koroleva E.S., Alifirova V.M., Ryzantseva A.A., Kosovaitseva Yu.I. Paraneoplastic cerebellar degeneration in a patient with anti-Yo antibodies and prostate adenocarcinoma	218
МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЙ СЕМИНАР		METHODOLOGICAL SEMINAR	
Кожевников А.Н., Поздеева Н.А., Конев М.А., Маричева О.Н., Афонищев К.А., Новик Г.А. Рентгенодиагностика хронического олигоартрита у детей	224	Kozhevnikov A.N., Pozdeeva N.A., Konev M.A., Maricheva O.N., Afonichev K.A., Novik G.A. X-ray diagnosis of juvenile chronic oligoarthritis	224
ПАМЯТЬ		MEMORY	
Памяти профессора И.В. Запускалова (1957–2016)	235	In memory of Professor I.V. Zapuskalov (1957–2016)	235
Памяти профессора И.Д. Евтушенко	237	In memory of Professor I.D. Evtushenko	237

УДК 615.322.012:582.521.43.088.1:615.37

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-5-15

Для цитирования: Адекенов С.М., Данилец М.Г., Ивасенко С.А., Никифоров Л.А., Кривошеков С.В., Лигачёва А.А., Трофимова Е.С., Шерстобоев Е.Ю., Жданов В.В., Белоусов М.В. Фенольные соединения этанольных извлечений *Lemna minor* L., *Lemna trisulca* L. и *Lemna polyrrhiza* L. Schleid. и их иммуномодулирующая активность. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 5–15

Фенольные соединения этанольных извлечений *Lemna minor* L., *Lemna trisulca* L. и *Lemna polyrrhiza* L. Schleid. и их иммуномодулирующая активность

Адекенов С.М.¹, Данилец М.Г.², Ивасенко С.А.¹, Никифоров Л.А.⁴, Кривошеков С.В.^{3,4}, Лигачёва А.А.², Трофимова Е.С.², Шерстобоев Е.Ю.², Жданов В.В.², Белоусов М.В.⁴

¹ Международным научно-производственным холдинг (МНПХ) «Фитохимия»
Республика Казахстан, 100009, г. Караганда, ул. Газалиева, 4

² Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга (НИИ-ФиРМ им. Е.Д. Гольдберга) Томского национального исследовательского медицинского центра (НИМЦ) Российской академии наук (РАН)
Россия, 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3

³ Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

⁴ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Определение состава фенольных соединений этанольных извлечений, выделенных из трех видов ряски: ряска малой (*Lemna minor* L.), ряска тройчатой (*Lemna trisulca* L.) и ряска многокорневой (*Lemna polyrrhiza* L., синоним *Spirodella polyrrhiza* L.) Schleid., и изучение его влияния на активацию системы иммунитета.

Материал и методы. Объект исследования: воздушно-сухие образцы травы ряска малой (*Lemna minor* L.), ряска тройчатой (*Lemna trisulca* L.) и ряска многокорневой (*Lemna polyrrhiza* L.), собранные в период их вегетации в 2010–2011 гг. в малопотоковых и стоячих водоемах Кожевниковского и Томского районов Томской области. Выделение полифенольных комплексов (ПФК) проводили экстракцией воздушно-сухого сырья спиртом этиловым. При качественном и количественном анализе исследуемых образцов применяли метод обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии на приборе Agilent 1100 Series (США) в изократическом режиме. В экспериментах для определения иммуномодулирующей активности использовали 200 самцов мышей линий C57BL/6 и BALB/C в возрасте 8–12 нед. Пролиферацию клеток оценивали колориметрическим методом. Абсорбцию полученных растворов измеряли при помощи многоканального спектрофотометра при длине волны 540 нм. Определение антителообразующих клеток в селезенке проводили методом локального гемолиза. Титр антител в сыворотке крови оценивали в реакции гемагглютинации. Локальную реакцию гиперчувствительности немедленного типа оценивали по методике в авторской модификации.

Результаты. Впервые проведено исследование качественного состава и количественного содержания ПФК ряска малой *Lemna minor* L. (LM), ряска трисульки *Lemna trisulca* L. (LT) и ряска многокорневой *Lemna polyrrhiza* L. (LP): (4,7 ± 0,4)%, (3,3 ± 0,3)%, (12,8 ± 0,7)% соответственно. Наибольшее содержа-

✉ Кривошеков Сергей Владимирович, e-mail: chrom@tpu.ru.

ние фенолокислот (10,76%) и суммы флавоноидов, изофлавоноидов и кумаринов (14,7%) обнаружено в образце LP. Содержание хлорогеновой и 3,5-дигидроксibenзойной кислот в 2–9 раз больше в LP, чем других видах ряски. LM, LT в концентрации 5 мкг/мл и LP в диапазоне 0,5–160 мкг/мл не оказывают токсического действия на антигенпрезентирующие клетки. При инкубации с LT (20 мкг/мл) пролиферация макрофагов снижается в 1,2 раза, а при инкубации с LM и LT (80 мкг/мл) в 1,2 и 1,8 раза соответственно. ПФК ряски многокорневой (LP) не оказывают подобного эффекта. LM и LP оказывают стимулирующее действие на продукцию нитритов в концентрациях 5 и 20 мкг/мл, усиливая ее в 1,3–1,6 раза. Курсовое введение LT и LP приводит к достоверному снижению числа антителообразующих клеток в 1,5 и 2,3 раза и уменьшению величины локальной реакции гиперчувствительности в 1,9 и 1,5 раза соответственно.

Ключевые слова: полифенольный комплекс, ряска, род *Lemna*, оксид азота, макрофаги, Th-2.

ВВЕДЕНИЕ

Растения семейства ароидные (*Araceae*) относятся к числу ценных кормовых, пищевых и лекарственных растений. Препараты рясков применяются в народной медицине при лечении воспалительных простудных заболеваний различной этиологии, витилиго, аллергических заболеваний (крапивницы), заболеваний печени и щитовидной железы [1]. Однако в литературе мало сведений о химическом составе рясков. В ранее проведенных исследованиях [2] изучен качественный и количественный состав первичных метаболитов трех видов ряски, которые являются субстратом для биосинтеза биологически активных веществ, в том числе фенольных соединений, таких как фенолкарбоновые кислоты, флавоноиды и кумарины.

Многочисленные исследования показывают, что растительные фенольные соединения (ФС), обладая крайне низкой цитотоксичностью, проявляют широкий спектр фармакологических и терапевтических эффектов, включая антиоксидантные, антипролиферативные, противовирусные, антибактериальные и антивозрастные свойства [3–6]. В литературе [7–9] приведены экспериментальные данные (*in vitro* и *in vivo*), в том числе клинические, доказывающие наличие у ФС противовоспалительных свойств, основанных на их способности влиять на экспрессию ряда генов, отвечающих за продукцию цитокинов и молекул адгезии, и (или) активность ферментов. Однако роль ФС в специфическом иммунном ответе все еще остается совершенно не изученной. Выявлено, что ФС, обладая иммуномодулирующей активностью, способны как стимулировать, так и угнетать продукцию оксида азота в культуре клеток, дозозависимо снижать уровень провоспалительных цитокинов интерлейкина (ИЛ)-2, интерферона (ИФН)- γ , иммуноглобулинов (Ig) М и G митогенстимулированных мононуклеаров

человека и подавлять секрецию TNF- α , оказывая протективный эффект при Кон-А-индуцированном иммунном повреждении печени. Фенольные соединения группы проантоцианидинов, ингибируя синтез ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-12p70, и, напротив, активируя синтез ИЛ-10, селективно подавляют поляризацию наивных Т-лимфоцитов по Th1-типу иммунного ответа [10, 11]. Флавоноловый агликон кверцетин способен эффективно подавлять функции липополисахарид-активированных дендритных клеток мышей, снижая секрецию провоспалительных цитокинов и экспрессию молекул гистосовместимости 2-го класса [12]. Полученные результаты, по мнению авторов, позволяют рассматривать проантоцианидины и кверцетин в качестве перспективных веществ для профилактики и терапии хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваний, а также иммунодепрессанта при проведении трансплантаций. В целом анализ литературы позволяет проследить тенденцию исследований по изучению ФС в направлении применения как лекарственных кандидатов, так и в виде пищевых добавок для активации системы иммунитета при хронических воспалительных процессах [13].

Цель данной работы – определение состава фенольных соединений этанольных извлечений, выделенных из трех видов ряски: ряска малой *Lemna minor* L., ряска тройчатой *Lemna trisulca* L. и ряска многокорневой *Lemna polyrrhiza* L. (синоним *Spirodella polyrrhiza* (L.) Schleid.), и изучение его влияния на активацию системы иммунитета.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили воздушно-сухие образцы травы ряска малой (*Lemna minor* L.), ряска тройчатой (*Lemna trisulca* L.) и ряска многокорневой (*Lemna polyrrhiza* L.), собранные в период их вегетации в 2010–2011 гг. в малопроточных и стоячих водоемах Кожевни-

ковского (окр. села Десятова) и Томского (окр. села Коларова) районов Томской области.

Выделение полифенольных комплексов. Выделение полифенольных комплексов (ПФК) проводили экстракцией воздушно-сухого сырья (20 г) 70%-м (об./об.) спиртом этиловым (соотношение сырье – экстрагент 1 : 25) на кипящей водяной бане в колбе, снабженной обратным холодильником. Экстракт отделяли от сырья фильтрацией через тканевый фильтр, затем повторно фильтровали через бумажный фильтр («синяя лента») при пониженном давлении. Для очистки от липофильных веществ экстракт на 70%-м (об./об.) спирте этиловом, содержащим полифенольный комплекс, дважды экстрагировали гексаном (400 мл). Очищенный полифенольный комплекс упаривали на ротаторном испарителе и лиофилизировали.

Определение фенольных соединений. Качественный и количественный анализ исследуемых образцов проводили методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии на приборе Agilent 1100 Series (США) в изократическом режиме с использованием аналитической колонки, заполненной сорбентом Zorbax SB-C18 4,6 x 150 мм с размером частиц 5 мкм. Длина волны детектирования 254 нм, температура термостата колонки 25 °С [14]. Обработку хроматографических данных производили с использованием программного обеспечения ChemStation.

Количественное содержание (%) фенольных соединений в исследуемых образцах определяли методом внешнего стандарта:

$$W_{PA} = \frac{S_1 \times m_0 \times P}{S_0 \times m},$$

где W_{PA} – содержание вещества в образце, %; S_1 – среднее значение площади пика вещества, вычисленное из хроматограмм испытуемого раствора, $mAU \times \min$; S_0 – среднее значение площади пика вещества, вычисленное из хроматограмм стандартного раствора определяемого вещества, $mAU \times \min$; m_0 – масса навески определяемого вещества, взятая для приготовления стандартного раствора, г; m – масса навески исследуемого образца полифенольного комплекса, взятая для приготовления испытуемого раствора, г; P – чистота определяемого вещества (%).

Определение фенолокислот. Состав подвижной фазы: ацетонитрил – 5%-й раствор уксусной кислоты в соотношении 20 : 80. Для идентификации компонентов сравнивали время удерживания на хроматограммах испытуемых растворов и стандартных образцов ванильной кислоты, хлорогеновой кислоты, кофейной кислоты, *m*-кумаро-

вой кислоты, 2,3-дигидроксibenзойной кислоты, 2,5-дигидрокси-1,4-бензолдиуксусной кислоты, бензойной кислоты, хинной кислоты, феруловой кислоты, 2,5-дигидроксibenзойной кислоты, 3,5-дигидроксibenзойной кислоты, 2,6-дигидроксibenзойной кислоты, *o*-кумаровой кислоты, коричной кислоты. Для подтверждения достоверности проведенной идентификации анализируемых веществ использовали метод добавок.

Определение кумаринов, флавоноидов и изофлавоноидов. Состав подвижной фазы: метанол – 5%-й раствор уксусной кислоты в соотношении 40 : 60. Для идентификации компонентов сравнивали время удерживания на хроматограммах испытуемых растворов и стандартных образцов ононины, 4,5,7-тригидроксиизофлавоноида (генистеина), биоханина, формонетина; рутина, кверцетина, лютеолина; достоверных образцов мирицетина, кумарина, эскулина, эскулетина, хаплоперозида А, изопсоралена, фраксетина, капенсина, обтусинина, скиммина. Для подтверждения достоверности проведенной идентификации анализируемых веществ использовали метод добавок.

Определение иммуномодулирующей активности. В экспериментах использовали 200 самцов мышей линий C57BL/6 и BALB/C в возрасте 8–12 нед, полученных из отдела экспериментальных биологических моделей НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга. Перитонеальные макрофаги (МФ) получали прилипанием к пластику клеток перитонеального экссудата. Клетки культивировали при 37 °С в атмосфере с 5%-м CO_2 и абсолютной влажности (100%) в среде следующего состава: RPMI 1640 (Sigma, США) с добавлением 10% ЭТС (Hyclone, США), 20 мМ HEPES (Sigma), 0,05 мМ 2-меркаптоэтанол (Sigma), 50 мкг/мл гентамицина (Sigma) и 2 мМ L-глутамина (Sigma). Функциональную активность клеток оценивали при культивировании клеток в 96-луночных планшетах в присутствии полифенольных комплексов в различных концентрациях; липополисахарида (ЛПС) *E. coli* (серотип O111:B4, Sigma); конконавалин А (Кон А, Sigma) Продукцию оксида азота (NO) оценивали по содержанию нитритов в супернатантах при помощи реактива Грейса через 48 ч инкубации [15]. Активность аргиназы определяли по методике [16] в авторской модификации. Для этого в клеточном лизате измеряли концентрацию мочевины с помощью тест-системы «Мочевина-450» («Био-ЛА-Тест», Чехия) согласно приложенному к тест-системе протоколу с использованием спектрофотометра (длина волны 540 нм). За единицу активности фермента принимали

количество аргиназы, катализирующей образование 1 мкМ мочевины в минуту. Пролиферацию клеток оценивали колориметрическим методом, для чего за 4 ч до окончания культивирования спленоцитов в лунки с клетками вносили раствор МТТ (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide, Sigma) в конечной концентрации 200 мкг/мл. Осадок растворяли диметилсульфоксидом (Sigma). Абсорбцию полученных растворов измеряли при помощи многоканального спектрофотометра при длине волны 540 нм. Определение антителообразующих клеток (АОК) в селезенке проводили методом локального гемолиза. Титр антител в сыворотке крови оценивали в реакции гемагглютинации и выражали в логарифмической шкале с основанием 2 ($\log_2$) [17]. Локальную реакцию гиперчувствительности немедленного типа (ГНТ) оценивали по методике [18] в авторской модификации. На 7-е сут после третьей иммунизации подкожной инъекцией овальбумина (OVA) (Sigma) и гидроксида алюминия (Sigma) в подушечку задней лапы вводили OVA – опытная лапа, в контрлатеральную лапу (контрольную) – физиологический раствор (ФР). Местную воспалительную реакцию оценивали через 4 ч. Величину реакции оценивали как разницу массы между контрольной и опытной лапой и выражали в миллиграммах.

Статистическая обработка результатов. Полученные в ходе исследования данные обработаны с помощью пакета статистических программ Statistica 6.0. Для каждой выборки вычислено среднее арифметическое ($\bar{X}$), ошибка среднего арифметического (m), среднее арифметическое отклонение (σ). Проверка на нор-

мальность распределения проведена с помощью критерия Шапиро – Уилка. Использован метод однофакторного дисперсионного анализа и критерий множественных сравнений Даннета для сопоставления выборочных средних нескольких экспериментальных выборок с одной контрольной. Различия считали достоверными при $p < 0,001$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Выход полифенольных комплексов трех видов ряски составил ($4,7 \pm 0,4$)% (ряска малая (LM)); ($3,3 \pm 0,3$)% (ряска тройчатая (LT)) и ($12,8 \pm 0,7$)% (ряска многокорневая (LP)).

Наибольшее количество фенолокислот содержится в образце LP (10,76%), наименьшее – (5,27%) в образце LT (табл. 1). Основным компонентом фенолкарбоновой природы всех видов ряски является 2,5-дигидрокси-1,4-бензоилдиуксусная кислота с наибольшим содержанием в ПФК LM, в которой помимо этой кислоты определены еще 11 фенолкарбоновых кислот, но в меньшем количестве. Содержание в LM хлорогеновой, 3,5-дигидроксибензойной, 2,6-дигидроксибензойной кислот составляло 0,13–0,27%. Содержание других кислот не превышало 0,08%. Образец LP отличался от двух других видов ряски по содержанию ряда фенолкарбоновых кислот: 2,5-дигидроксибензойной (отсутствует во фракциях LM и LT); 2,6-дигидроксибензойной (LM – 0,17%; LT – 0,05%); *m*-кумаровой (LM, LT – следовые количества). Содержание хлорогеновой и 3,5-дигидроксикарбоновой кислот в 2 и 9,5 раз соответственно больше во фракциях LP, чем других видах ряски. Также ПФК LP отличались от LM и LT отсутствием коричной, *o*-кумаровой, ванильной кислот.

Т а б л и ц а 1

Содержание фенолкарбоновых кислот в полифенольных комплексах ряски малой (LM), ряски тройчатой (LT) и ряски многокорневой (LP) в пересчете на массу ПФК, $\bar{X} \pm m$, %			
Показатель	Вид ряски		
	LP	LT	LM
2,5-дигидрокси-1,4-бензоилдиуксусная кислота	$7,30 \pm 0,29$	$4,81 \pm 0,25$	$8,72 \pm 0,27$
Хлорогеновая кислота	$0,61 \pm 0,04$	$0,24 \pm 0,02$	$0,27 \pm 0,02$
3,5-дигидроксибензойная кислота	$0,30 \pm 0,02$	$0,12 \pm 0,01$	$0,13 \pm 0,01$
Кофеиновая кислота	$0,09 \pm 0,03$	$0,04 \pm 0,002$	$0,030 \pm 0,002$
Ванильная кислота	–	$0,01 \pm 0,001$	$0,03 \pm 0,002$
2,5-дигидроксибензойная кислота	$1,28 \pm 0,07$	–	–
2,6-дигидроксибензойная кислота	$0,89 \pm 0,05$	$0,02 \pm 0,001$	–
2,3-дигидроксибензойная кислота	$0,03 \pm 0,0002$	$0,002 \pm 0,0001$	$0,008 \pm 0,0005$
Хинная кислота	–	–	–
Феруловая кислота	$0,006 \pm 0,0003$	$0,001 \pm 0,0001$	–
<i>m</i> -Кумаровая кислота	$0,19 \pm 0,00007$	$0,0007 \pm 0,00002$	$0,0009 \pm 0,00003$

О к о н ч а н и е т а б л . 1

Показатель	Вид ряски		
	LP	LT	LM
<i>o</i> -Кумаровая кислота	–	0,005 ± 0,0003	0,005 ± 0,0003
Бензойная кислота	0,06	0,02 ± 0,001	0,02 ± 0,001
Коричная кислота	–	0,003 ± 0,0002	0,002 ± 0,0001

Исследуемые виды ряски отличаются между собой как по качественному, так и по количественному составу кумаринов, флавоноидов и изофла-

воноидов (табл. 2). Так, к мажорным компонентам LM относятся хаплоперозид А и эскулин, LT – эскулин и эскулетин, LP – эскулин и фраксетин.

Т а б л и ц а 2

Содержание кумаринов, флавоноидов и изофлавоноидов в полифенольных комплексах ряски малой (LM), ряски тройчатой (LT) и ряски многокорневой (LP) в пересчете на массу ПФК, $X \pm m$, %			
Показатель	Вид ряски		
	LP	LT	LM
Кумарины:			
хаплоперозид А	0,80 ± 0,05	0,27 ± 0,02	1,70 ± 0,09
эскулин	2,4 ± 0,16	1,58 ± 0,12	1,31 ± 0,07
эскулетин	0,7 ± 0,04	0,27 ± 0,02	0,46 ± 0,04
фраксетин	9,9 ± 0,71	0,13 ± 0,01	0,21 ± 0,02
обтусинин	–	–	0,008 ± 0,0005
кумарин	0,8 ± 0,05	0,033 ± 0,002	0,034 ± 0,002
изопсорален	–	–	–
Флавоноиды:			
рутин	–	0,031 ± 0,002	–
мирицетин	–	0,011 ± 0,001	–
кверцетин	–	–	–
Изофлавоноиды:			
ононин	0,1 ± 0,01	0,002 ± 0,0001	–
генистеин	–	–	–
биоханин	–	–	–

В образце LM установлено наличие кумаринов: хаплоперозида А ($t_R = 3,53$ мин) с содержанием 1,70%; эскулина ($t_R = 4,23$ мин) с содержанием 1,31%; эскулетина ($t_R = 5,17$ мин) – 0,46%; фраксетина ($t_R = 5,52$ мин) – 0,21%; обтусинина ($t_R = 10,89$ мин) – 0,008%; кумарина ($t_R = 13,07$ мин) – 0,034%. В образце LT установлено наличие кумаринов: хаплоперозида А ($t_R = 3,55$ мин) с содержанием 0,27%; эскулина ($t_R = 4,24$ мин) с содержанием 1,58%; эскулетина ($t_R = 5,19$ мин) – 0,27%; фраксетина ($t_R = 5,58$ мин) – 0,13%; кумарина ($t_R = 13,03$ мин) – 0,033%; флавоноидов: рутина ($t_R = 9,99$ мин) – 0,031%; мирицетина ($t_R = 13,78$ мин) – 0,011 %; изофлавоноидов: ононина ($t_R = 16,39$ мин) – 0,002%. В образце LP установлено наличие кумаринов: хаплоперозида А ($t_R = 3,54$ мин) с содержанием 0,80%; эскулина ($t_R = 4,22$ мин) – 2,40%; эскулетина ($t_R = 5,15$ мин) – 0,70%; фраксетина ($t_R = 5,49$ мин) – 9,9%; кума-

рина ($t_R = 12,99$ мин) – 0,80%; изофлавоноидов: ононина ($t_R = 16,36$ мин) – 0,1%.

Иммунотропные свойства полифенольных комплексов, выделенных из ряски малой, ряски тройчатой и ряски многокорневой, оценивали по их способности влиять на пролиферацию различных клеток системы иммунитета, продукцию ими оксида азота, метаболизм аргинина, а также клеточное и гуморальное звено иммунитета. Полифенольные комплексы, выделенные из данных видов ряски, не влияли на пролиферацию клеток лимфоцитарного звена иммунной системы (табл. 3). Уровень пролиферации не изменялся по сравнению с интактным контролем, но во всех использованных концентрациях был ниже в 1,4–1,9 раза (LM), 1,4–1,9 раза (LT) и 1,5–2,2 раза (LP), чем при совместном культивировании со стандартным активатором спленоцитов Кон А (контроль 2).

Т а б л и ц а 3

Влияние различных концентраций ПФК ряски малой (LM), ряски тройчатой (LT) и ряски многокорневой (LP) на пролиферацию спленцитов интактных мышей линии C57/BL6, $n = 8$, $\bar{X} \pm m$			
Показатель	Концентрация, мкг/мл	Пролиферация, у.е. оптической плотности	p
Интактный контроль 1 (среда)	—	$154,8 \pm 13,58$	—
Стимулированный контроль 2 (Кон А)	4	$266,3 \pm 15,14$	$< 0,001^*$
LM	0,5	$166,3 \pm 8,64$	$< 0,001^*$
	5	$159,3 \pm 4,52$	$< 0,001^*$
	10	$187,5 \pm 34,47$	$= 0,004^*$
	20	$167,0 \pm 8,89$	$< 0,001^*$
	80	$142,8 \pm 6,79$	$< 0,001^*$
	160	$170,8 \pm 42,91$	$< 0,001^*$
LT	0,5	$141,0 \pm 4,97$	$< 0,001^*$
	5	$137,0 \pm 6,96$	$< 0,001^*$
	10	$160,8 \pm 1,70$	$< 0,001^*$
	20	$185,4 \pm 11,68$	$< 0,001^*$
	80	$174,0 \pm 6,52$	$< 0,001^*$
	160	$152,4 \pm 4,26$	$< 0,001^*$
LP	0,5	$178,8 \pm 18,03$	$< 0,001^*$
	5	$168,5 \pm 11,44$	$< 0,001^*$
	10	$156,8 \pm 11,88$	$< 0,001^*$
	20	$133,3 \pm 4,07$	$< 0,001^*$
	80	$122,3 \pm 3,82$	$< 0,001^*$
	160	$131,8 \pm 5,86$	$< 0,001^*$

* различия показателя с контролем; • различия показателя с контролем 2 (здесь и в табл. 4, 5).

LM, LT в концентрации 5 мкг/мл и LP во всех используемых концентрациях также не оказывали токсического действия на антигенпрезентирующие клетки (табл. 4). Однако пролиферация МФ снижалась в 1,2 раза при инкубации с LT, начиная с концентрации 20 мкг/мл, а в концентрации 80 мкг/мл в 1,2 (LM) и 1,8 раза (LT).

ПФК, выделенные из всех изучаемых растений, оказывали умеренное стимулирующее действие на секреторные свойства макрофагов. Наиболее выраженный эффект, находящийся в обратной зависимости от концентрации ПФК в культуре клеток, был выявлен при инкубации МФ с LT: концентрация нитритов снижалась с $9,2 \pm 0,24$ (5 мкг/мл) и $3,6 \pm 0,13$ (20 мкг/мл) до практически контрольных значений $2,1 \pm 0,03$ мкМ (80 мкг/мл). LM и LP оказывали стимулирующее действие в концентрациях 5 и 20 мкг/мл, усиливая продукцию нитритов в 1,3–1,6 раза, но применение в концентрации 80 мкг/мл приводило к

снижению показателя относительно интактного контроля в 1,8 (LP) и 2,6 раза (LM). Следует отметить, что NO-активирующее действие изучаемых ПФК во всех используемых концентрациях было ниже, чем при стимуляции стандартным активатором макрофагов ЛПС.

Т а б л и ц а 4

Влияние различных концентраций ПФК ряски малой (LM), ряски тройчатой (LT) и ряски многокорневой (LP) на пролиферацию перитонеальных макрофагов интактных мышей линии C57/BL6 и продукцию ими оксида азота, $n = 8$, $\bar{X} \pm m$			
Исследуемое вещество	Концентрация, мкг/мл	Пролиферация, у.е. оптической плотности	Концентрация нитритов, мкМ
Интактный контроль 1 (МФ + среда)	—	$305,0 \pm 22,05$	$2,3 \pm 0,04$
Стимулированный контроль 2 (МФ + ЛПС)	1	$341,5 \pm 10,22$	$24,2 \pm 0,36$ $*p < 0,0001$
LM	5	$298,5 \pm 9,26$	$3,1 \pm 0,13$ $*p = 0,004$ $\bullet p < 0,001$
	20	$331,5 \pm 8,42$	$3,6 \pm 0,22$ $*p < 0,001$ $\bullet p < 0,001$
	80	$248,8 \pm 2,02$ $*p = 0,002$ $\bullet p = 0,002$	$0,8 \pm 0,03$ $*p < 0,001$ $\bullet p < 0,001$
	5	$332,3 \pm 15,78$	$9,2 \pm 0,24$ $*p < 0,001$ $\bullet p < 0,001$
	20	$239,8 \pm 26,15$ $*p < 0,001$ $\bullet p < 0,001$	$3,6 \pm 0,13$ $*p < 0,001$ $\bullet p < 0,001$
	80	$165,8 \pm 15,90$ $*p < 0,001$ $\bullet p < 0,001$	$2,1 \pm 0,03$ $\bullet p < 0,001$
LT	5	$333,5 \pm 21,46$	$3,3 \pm 0,10$ $*p = 0,002$ $\bullet p < 0,001$
	20	$362,3 \pm 14,30$	$3,2 \pm 0,16$ $*p = 0,004$ $\bullet p < 0,001$
	80	$307,8 \pm 15,02$	$1,3 \pm 0,23$ $*p < 0,001$ $\bullet p < 0,001$
LP	5	$333,5 \pm 21,46$	$3,3 \pm 0,10$ $*p = 0,002$ $\bullet p < 0,001$
	20	$362,3 \pm 14,30$	$3,2 \pm 0,16$ $*p = 0,004$ $\bullet p < 0,001$
	80	$307,8 \pm 15,02$	$1,3 \pm 0,23$ $*p < 0,001$ $\bullet p < 0,001$

Полученные данные позволили предположить, что фенольные соединения исследованных растений способны оказывать влияние на антигенпрезентирующие клетки посредством активации одного из путей утилизации L-аргинина: через NO-синтазу, приводя к потенцированию классически активированных МФ либо через аргиназу (альтернативно активированных) [19, 20]. В связи с этим было изучено действие ПФК на продукцию оксида азота (M1) и активность аргиназы

(M2) перитонеальных макрофагов мышей линии C57/BL6. В качестве контроля был использован стандартный активатор макрофагов M1 – липополисахарид *E. coli*.

При изучении влияния ПФК на метаболизм аргинина перитонеальными макрофагами были получены неоднозначные результаты. Как видно из табл. 5, культивирование макрофагов с ЛПС приводило к увеличению продукции оксида азота в 40,5 раз с ($1,91 \pm 0,08$) в контроле до ($77,45 \pm 0,67$) мкМ. Активность аргиназы при этом снижалась в 3,1 раза с ($69,5 \pm 1,9$) до ($22,5 \pm 1,8$) ЕА. Концентрация нитритов относительно спонтанной продукции в разной степени увеличивалась при инкубации со всеми изучаемыми веществами, не превышая значения ЛПС-стимулированного контроля. При этом ПФК не оказывали влияния на спонтанную активность аргиназы, значительно превышая значения показателя при инкубации с ЛПС.

Т а б л и ц а 5

Влияние различных концентраций ПФК на метаболизм аргинина перитонеальными макрофагами интактных мышей линии C57/BL6, $n = 8$, $X \pm m$			
Исследуемое вещество	Концентрация, мкг/мл	Концентрация нитритов, мкМ	Активность аргиназы, ЕА
Среда (контроль 1)	–	$1,91 \pm 0,08$	$69,5 \pm 1,9$
ЛПС (контроль 2)	1	$77,45 \pm 0,67$ * $p < 0,001$	$22,5 \pm 1,8$ * $p < 0,001$
LM	5	$3,10 \pm 0,18$ * $p < 0,005$ • $p < 0,001$	$74,6 \pm 1,5$ • $p < 0,001$
LT	5	$14,28 \pm 0,31$ * $p < 0,001$ • $p < 0,001$	$70,2 \pm 1,7$ • $p < 0,001$
LP	5	$2,35 \pm 0,11$ * $p < 0,001$ • $p < 0,001$	$74,2 \pm 1,2$ • $p < 0,001$

Влияние исследуемых веществ на гуморальное звено Th1-зависимого иммунного ответа оценивали по количеству АОК и их функциональной активности, а именно продукции гемагглютининов. Показано, что курсовое введение ПФК ряски тройчатой и ряски многокорневой приводило к достоверному снижению числа АОК в 1,5 и 2,3 раза (табл. 6). ПФК ряски малой не влияют на антителообразование. Изменений синтеза антител, вырабатываемых В-лимфоцитами в ответ на эритроциты барана, не выявлено.

Влияние ПФК на Th2-зависимый иммунный ответ изучали в локальной реакции гиперчувствительности немедленного типа. Для этого трижды иммунизированным овалбумином мышам линии

BALB/c вводили инъекции изучаемых веществ в течение 10 сут, но за 10 сут до индукции местной реакции. Введение в подушечку лапы антигена (овальбумина) проводили на 7-е сут после последней иммунизации.

Т а б л и ц а 6

Влияние курсового введения ПФК ряски малой (LM), ряски тройчатой (LT) и ряски многокорневой (LP) на количество антителообразующих клеток и титр синтезируемых ими гемагглютининов у мышей C57/BL6, иммунизированных эритроцитами барана, $n = 7$, $X \pm m$			
Исследуемое вещество	Концентрация, мг/кг	Число АОК, тыс./селезёнку	Титр гемагглютининов, $\log_2 T$
Физраствор (контроль)	–	$36,4 \pm 3,0$	$3,5 \pm 0,8$
Ликопид	2	$102,3 \pm 14,8$ * $p < 0,002$	$5,2 \pm 0,6$
LM	5	$48,8 \pm 3,9$ • $p < 0,014$	$4,2 \pm 0,4$
LT	5	$23,6 \pm 4,4$ * $p < 0,004$ • $p < 0,002$	$4,5 \pm 0,5$
LP	5	$15,5 \pm 4,8$ * $p < 0,001$ • $p < 0,001$	$4,6 \pm 0,4$

* различия показателя с физраствором; • различия показателя с ликопидом.

Т а б л и ц а 7

Влияние курсового введения ПФК ряски малой (LM), ряски тройчатой (LT) и ряски многокорневой (LP) на локальную гиперчувствительность немедленного типа иммунизированных овалбумином мышей линии BALB/C, $n = 10$, $X \pm m$			
Исследуемое вещество	Концентрация, мг/кг	Величина реакции, мг	p
Физраствор (контроль)	–	$85,70 \pm 0,53$	–
LM	5	$72,90 \pm 4,93$	–
LT	5	$45,90 \pm 7,38$	* $p < 0,001$
LP	5	$58,20 \pm 7,38$	* $p < 0,009$

* различия показателя с контролем.

Как видно из табл. 7, курсовое введение ПФК ряски тройчатой и ряски многокорневой приводило к достоверному уменьшению величины реакции в 1,9 и 1,5 раза соответственно. ПФК ряски малой не влияли на показатель.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые проведено сравнительное исследование качественного состава и количественного содержания фенолкарбоновых кислот, кумаринов, фла-

воноидов, изофлавоноидов трех видов ряски. Основным компонентом фенолкарбоновой природы всех видов ряски является 2,5-дигидрокси-1,4-бензолдиуксусная кислота с наибольшим содержанием в ПФК ряски малой (LM), в которой помимо этой кислоты определены еще 11 фенолкарбоновых кислот, но в меньшем количестве. Мажорные компоненты флавоноидной структуры ПФК ряски малой – хапперозид А и эскулин, ПФК ряски тройчатой – эскулин и эскулетин, ПФК ряски многокорневой – эскулин и фраксетин.

ПФК, выделенные из ряски малой, ряски тройчатой и ряски многокорневой, обладают низкой цитотоксичностью по отношению к клеткам лимфоидной природы, но в высоких концентрациях снижают пролиферативные свойства клеток моноцитарно-макрофагального ряда. Выявленная цитотоксичность обуславливает снижение продукции нитритов антигенпрезентирующими клетками. Курсовое введение ФС приводило к угнетению Th1- и усилению Th2-зависимых иммунных реакций. Полученные данные доказывают наличие у изученных ФС иммуномодулирующих свойств и позволяют рассматривать их в качестве перспективных лекарственных субстанций для профилактики и терапии хронических воспалительных заболеваний.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ И ВКЛАД АВТОРОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи, и сообщают о вкладе авторов. Адекенов С.М. – разработка дизайна исследования, окончательное утверждение рукописи для публикации. Данилец М.Г. – проведение экспериментов, интерпретация данных, написание текста статьи. Ивасенко С.А. – разработка дизайна исследования, проведение экспериментов. Никифоров Л.А. – проведение экспериментов, интерпретация данных. Кривошеков С.В. – статистическая обработка результатов, интерпретация данных, написание текста статьи. Лигачева А.А. – проведение экспериментов, статистическая обработка результатов. Трофимова Е.С. – проведение экспериментов, интерпретация данных. Шерстобоев Е.Ю. – разработка дизайна исследования. Жданов В.В. – окончательное утверждение рукописи для публикации. Белоусов М.В. – разработка дизайна исследования, окончательное утверждение рукописи для публикации.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Эксперименты проводили в соответствии с Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985 г.). Удостоверяем, что протокол исследования соответствовал этическим нормам и принципам биомедицинских исследований, одобрен Комиссией по гуманному отношению к животным НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (протокол № 98122015).

ЛИТЕРАТУРА

1. Маркова А. Травник. Золотые рецепты народной медицины. М.: Эксмо-Форум, 2007: 928.
2. Никифоров Л.А., Фурса Н.С., Кривошеков С.В., Куркин В.А., Белоусов М.В. Сравнительное исследование веществ первичного обмена ряски малой (*Lemna minor* L.), ряски тройчатой (*Lemna trisulca* L.) и многокоренника обыкновенного (*Spirodella polyrrhiza* L. Schleid.) // *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (1): 59–64. DOI:10.20538/1682-0363-2017-1-59-64.
3. Schepetkin I.A., Ramstead A.G., Kirpotina L.N., Voyich J.M., Jutila M.A., Quinn M.T. Therapeutic Potential of Polyphenols from *Epilobium angustifolium* (Fireweed) // *Phytotherapy Research: PTR*. 2016; 30 (8): 1287–1297.
4. Williamson G., Manach C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. // *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2005; 81 (1 Suppl): 243S–255S.
5. Wang F., Xue Y., Yang J., Lin F., Sun Y., Li T., Wu C. Hepatoprotective effect of apple polyphenols against concanavalin A-induced immunological liver injury in mice // *Chemico-biological Interactions*. 2016; 258: 159–165.
6. Гилязова А.В., Корнилова Г.В., Хаметова К.М., Салихов Ш.И., Мавлянов С.М., Карамов Э.В. Сравнительный анализ активности растительных фенолов по ингибированию ВИЧ-инфекции в Т-лимфобластной клеточной линии и мононуклеарах периферической крови // *Иммунология*. 2011; (1)32: 4–6.
7. Sadowska B., Micota B., Ryżalski M., Redzynia M., Ryżalski M. The immunomodulatory potential of *Leonurus cardiaca* extract in relation to endothelial cells and platelets // *Innate Immunity*. 2017; 23 (3): 285–295.
8. Шукшина О. Г., Масная Н.В., Исайкина Н.В., Шерстобоев Е. Ю., Калинкина Г.И. Влияние растительных фенольных комплексов на функциональную активность иммунокомпетентных клеток *in vitro* // *Иммунология*. 2014; 3 (35): 138–142.
9. Lee N., Shin M.S., Kang Y., Park K., Maeda T., Nishioka H., Fujii H., Kang I. Oligonol, a lychee fruit-derived low-molecular form of polyphenol mixture, suppresses inflammatory cytokine production from human monocytes // *Human Immunology*. 2016; 77(6): 512–515.
10. Williams A.R., Klaver E.J., Laan L.C., Ramsay A., Fryganas C., Difborg R., Kringel H., Reed J.D., Mueller-Har-

- vey I., Skov S., van Die I., Thamsborg S.M. Co-operative suppression of inflammatory responses in human dendritic cells by plant proanthocyanidins and products from the parasitic nematode *Tricburis suis* // *Immunology*. 2017; 150 (3): 312–328.
11. Huang R.Y., Yu Y.L., Cheng W.C., OuYang C.N., Fu E., Chu C.L. Immunosuppressive effect of quercetin on dendritic cell activation and function // *Journal of Immunology*. 2010; 184 (12): 6815–6821.
 12. Pérez-Cano F.J., Castell M. Flavonoids, Inflammation and Immune System // *Nutrients*. 2016; 8 (10): 659.
 13. Погодин И.С., Лукша Е.А., Нурмухаметова К.А., Адекен С.М., Ивасенко С.А. Фитохимическое исследование надземной части соссуреи горькой (*Saussurea amara* L.) // *Омский научный вестник*. 2010; 1 (194): 115–118.
 14. Green L.C., Wagner D.A., Glogowski J. et al. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrite in biological fluids // *Anal. Biochem*. 1982; 126: 131–143.
 15. Munder M., Eichmann K., Modolell M. Alternative metabolic states in murine macrophages reflected by the nitric oxide synthase/arginase balance: competitive regulation by CD4+ T cells correlates with Th1/Th2 phenotype // *J. Immunol*. 1998; 11(160): 5347–5354.
 16. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. М.: Гриф и К, 2013: 64–79.
 17. Емельяненко И.Н., Душкин В.А. Характеристика общей анафилаксии // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1971; 10: 69–71.
 18. Laria A., Lurati A., Marrazza M., Mazzocchi D., Re K.A., Scarpellini M. The macrophages in rheumatic diseases // *J. Inflamm. Res*. 2016; 9: 1–11.
 19. Kreider T., Anthony R.M., Urban J.F.Jr., Gause W.C. Alternatively activated macrophages in helminth infections // *Curr. Opin. Immunol*. 2007; 19: 448–453.

Поступила в редакцию 26.05.2017

Утверждена к печати 30.06.2017

Адекен С.М., Сергазы Мынжасарович, д-р хим. наук, профессор, академик НАН, директор МНПХ «Фитохимия», г. Караганда.

Данилец Марина Григорьевна, д-р биол. наук, зав. отделом экспериментальных биологических моделей, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ РАН, г. Томск.

Ивасенко Светлана Александровна, канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория химии терпеноидов, МНПХ «Фитохимия», г. Караганда.

Никифоров Леонид Анатольевич, ассистент, кафедра фармацевтического анализа, СибГМУ, г. Томск.

Кривошеков Сергей Владимирович, мл. науч. сотрудник, центральная научно-исследовательская лаборатория (ЦНИЛ), СибГМУ; инженер кафедры технологии органических веществ и полимерных материалов, НИ ТПУ, г. Томск.

Лигачёва Анастасия Александровна, канд. биол. наук, науч. сотрудник, отдел иммунофармакологии, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ РАН, г. Томск.

Трофимова Евгения Сергеевна, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, отдел иммунофармакологии, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ РАН, г. Томск.

Шерстобоев Евгений Юрьевич, д-р мед. наук, зав. отделом иммунофармакологии, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ РАН, г. Томск.

Жданов Вадим Вадимович, д-р мед. наук, профессор, директор НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ РАН, г. Томск.

Белоусов Михаил Валерьевич, д-р фарм. наук, зав. кафедрой фармацевтического анализа, СибГМУ, г. Томск.

(✉) Кривошеков Сергей Владимирович, e-mail: chrom@tpu.ru.

УДК 615.322.012:582.521.43.088.1:615.37

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-5–15

For citation: Adekenov S.M., Danilets M.G., Ivasenko S.A., Nikiforov L.A., Krivoshchekov S.V., Ligacheva A.A., Trofimova E.S., Sherstoboev E.Yu., Zhdanov V.V., Belousov M.V. Phenolic compounds of *Lemna minor* L., *Lemna trisulca* L. and *Lemna polyrrhiza* L. *Schleiden* and their immunomodulating activity. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 5–15

Phenolic compounds of ethanol extracts of *Lemna minor* L., *Lemna trisulca* L. and *Lemna polyrrhiza* L. *Schleiden* and their immunomodulating activity

Adekenov S.M.⁴, Danilets M.G.², Ivasenko S.A.⁴, Nikiforov L.A.¹, Krivoshchekov S.V.^{1,3}, Ligacheva A.A.², Trofimova E.S.², Sherstoboev E.Yu.², Zhdanov V.V.², Belousov M.V.¹

¹ Scientific and Production Holding “Phytochemistry”

4, M. Gazalieva Str., Karaganda, 100009, Republic of Kazakhstan

² Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine (GRIPRM), Tomsk NRMC, RAN 3, Lenin Av., Tomsk, 634028, Russian Federation

³ National Research Tomsk Polytechnic University (NR TPU)
30, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

⁴ Siberian State Medical University
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

The purpose of the study is to determine the composition of the phenolic compounds of ethanol extracts isolated from three species of duckweed: *Lemna minor* L., *Lemna trisulca* L. and *Lemna polyrrhiza* L. (the synonym is *Spirodella polyrrhiza* Schleid.) and to study its effect on immune system activation.

Materials and methods. The objects of the study are: air-dried grass samples of *Lemna minor* L., *Lemna trisulca* L. and *Lemna polyrrhiza* L. collected during their growing season in 2010–2011 in low-flow and stagnant ponds of Kozhevnikovskiy and Tomsk districts of Tomsk region. Isolation of polyphenolic complexes (PFC) was carried out by extraction of air-dried raw material with ethyl alcohol. In qualitative and quantitative analysis of the samples studied the method of reversed-phase high-performance liquid chromatography on an Agilent 1100 Series instrument (USA) was used in isocratic mode. In the experiments, 200 male C57BL/6 and BALB/C mice aged 8–12 weeks were used to determine immunomodulatory activity. Cell proliferation was assessed by a colorimetric method. The absorption of the obtained solutions was measured with a multi-channel spectrophotometer at the wavelength of 540 nm. The determination of antibody-forming cells in the spleen was performed by local hemolysis. The titer of antibodies in serum was evaluated in the hemagglutination reaction. The local hypersensitivity reaction of immediate type was assessed by the author's modification.

Results. For the first time the study of the qualitative composition and quantitative content of PFC of *Lemna minor* L. (LM), *Lemna trisulca* L. (LT) trisulkas, and *Lemna polyrrhiza* L. (LP): (4,7 ± 0,4)%, (3,3 ± 0,3)%, (12,8 ± 0,7)% was carried out. The highest content of phenolic acids (10,76%) and the sum of flavonoids, isoflavonoids and coumarins (14,7%) were found in the LP sample. The content of chlorogenic and 3,5-dihydroxybenzoic acids was 2–9 times higher in LP than in other species of duckweed. In LM and LT with concentrations of 5 µg/ml and LP in the range of 0,5–160 µg/ml did not have a toxic effect on antigen presenting cells. When incubated with LT (20 µg/ml), the proliferation of macrophages was reduced by 1,2 times, and when incubated with LM and LT (80 µg/ml), by 1,2 and 1,8 times, respectively. PFC duckweed (LP) did not have a similar effect. LM and LP had a stimulating effect on the production of nitrites in the concentrations of 5 and 20 µg/ml, increasing it by 1,3–1,6 times. Course introduction of LT and LP led to a significant decrease in the number of antibody-forming cells by 1,5 and 2,3 times and a decrease in the local hypersensitivity reaction by 1,9 and 1,5 times, respectively.

Key words: polyphenol complex, duckweed, *Lemna*, nitric oxide, macrophages, Th-2.

REFERENCES

1. Markov A. Travniki. Zolotyie recepty narodnoy mediciny [Herbalist. Golden recipes of traditional medicine]. M.: Eksmo-Forum Publ., 2007: 928 (in Russian).
2. Nikiforov L.A., Fursa N.S., Krivoshchekov S.V., Kurkin V.A., Belousov M.V. Sravnitel'noe issledovanie veshhestv pervichnogo obmena rjaski maloij (*Lemna minor* L.), rjaski trojchatoj (*Lemna trisulca* L.) i mnogokorenника obyknovennogo (*Spirodella polyrrhiza* L. Schleid.) [Comparative study of compounds of primary exchange duckweed (*Lemna minor* L.), trisulki duckweed (*Lemna trisulca* L.) and spirodela (*Spirodella polyrrhiza* L. Schleid.)] // *Bulleten' sibirskoj mediciny – Bulletin of Siberian Medicine*. 2017;16 (1): 59–64 (in Russian).
3. Schepetkin I.A., Ramstead A.G., Kirpotina L.N., Voyich J.M., Jutila M.A., Quinn M.T. Therapeutic Potential of Polyphenols from *Epilobium angustifolium* (Fireweed) // *Phytotherapy Research: PTR*. 2016; 30 (8): 1287–1297.
4. Williamson G., Manach C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies // *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2005; 81 (1 Suppl): 243S–255S.
5. Wang F., Xue Y., Yang J., Lin F., Sun Y., Li T., Wu C. Hepatoprotective effect of apple polyphenols against concanavalin A-induced immunological liver injury in mice // *Chemico-biological Interactions*. 2016; 258:159–165.
6. Gilyazova A.V. et al. Sravnitel'nyj analiz aktivnosti rastitel'nyh fenolov po ingibirovaniyu VICH-infekcii v T-limfoblastoidnoj kletочноj linii i mononuklearah perifericheskoy krovi [Comparative analysis of the activity plant polyphenols on the inhibition of HIV-infection in the T-lymphoblastoid cell line and peripheral blood mononuclear cells] // *Immunologiya – Immunology*. 2011; (1)32: 4–6 (in Russian).

7. Sadowska B., Micota B., Ryżalski M., Redzynia M., Ryżalski M. The immunomodulatory potential of *Leonurus cardiaca* extract in relation to endothelial cells and platelets // *Innate Immunity*. 2017; 23 (3): 285–295.
8. Shukshina O.G. et.al. Vliyanie rastitel'nyh fenol'nyh kompleksov na funktsional'nyu aktivnost' immunokompetentnyh kletok in vitro [Influence of vegetative polyphenolic complexes on the functional activity of immunocompetent cells *in vitro*] // *Immunologiya – Immunology*. 2014; 3 (35): 138–142 (in Russian).
9. Lee N., Shin M.S., Kang Y., Park K., Maeda T., Nishiooka H., Fujii H., Kang I. Oligonol, a lychee fruit-derived low-molecular form of polyphenol mixture, suppresses inflammatory cytokine production from human monocytes // *Human Immunology*. 2016; 77 (6): 512–515.
10. Williams A.R., Klaver E.J., Laan L.C., Ramsay A., Fryganas C., Difborg R., Kringel H., Reed J.D., Mueller-Harvey I., Skov S., van Die I., Thamsborg S.M. Co-operative suppression of inflammatory responses in human dendritic cells by plant proanthocyanidins and products from the parasitic nematode *Trichuris suis* // *Immunology*. 2017; 150 (3): 312–328.
11. Huang R.Y., Yu Y.L., Cheng W.C., OuYang C.N., Fu E., Chu C.L. Immunosuppressive effect of quercetin on dendritic cell activation and function // *Journal of Immunology*. 2010; 184 (12): 6815–6821.
12. Pérez-Cano F.J., Castell M. Flavonoids, Inflammation and Immune System // *Nutrients*. 2016; 8 (10): 65.
13. Pogodin I.S., Luksha E.A., Nurmukhametova K.A., Adekenov S.M., Ivasenko S.A. . Fitohimicheskoe issledovanie nadzemnoj chasti sossjurei gor'koj (*Saussurea amara* L.) [Phytochemical study of the aerial part of *Saussurea amara* L.] // *Omskij nauchnyj vestnik*. 2010; 1(194):115–118 (in Russian).
14. Green L.C., Wagner D.A., Glogowski J. et al. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrite in biological fluids // *Anal. Biochem.* 1982; 126: 131–143.
15. Munder M., Eichmann K., Modolell M. Alternative metabolic states in murine macrophages reflected by the nitric oxide synthase/arginase balance: competitive regulation by CD4+ T cells correlates with Th1/Th2 phenotype // *J. Immunol.* 1998;(11)160: 5347–5354.
16. Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv. Ch.1 [A guide to preclinical drug research. Part 1]. M.: Grif i K. Publ., 2013: 64–79 (in Russian).
17. Emelianenko IN, Dushkin VA Harakteristika obshhej anafilaksii [Characteristics of general anaphylaxis] // *Bulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 1971; 10: 69–71 (in Russian).
18. Laria A., Lurati A., Marrazza M., Mazzocchi D., Re K.A., Scarpellini M. The macrophages in rheumatic diseases // *J. Inflamm. Res.* 2016; 9: 1–11.
19. Kreider T., Anthony R.M., Urban J.F. Jr., Gause W.C. Alternatively activated macrophages in helminth infections // *Curr. Opin. Immunol.* 2007; 19: 448–453.

Received May 26.2017

Accepted June 30.2017

Adekenov Sergazy M., DChSc, Professor, Academician of the National Academy of Sciences, Director of the MNPH “Phytochemistry”, Karaganda, Kazakhstan.

Danilets Marina G., DBSc, Head of the Department of Experimental Biological Models of Immunopharmacology, GRIPRM, Tomsk NIMC, RAN, Tomsk, Russian Federation.

Ivasenko Svetlana A., PhD, Senior Researcher, Terpenoids Chemistry Laboratory of the MNPH “Phytochemistry”, Karaganda, Kazakhstan.

Nikiforov Leonid A., Assistant, Department of Pharmaceutical Analysis, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Krivoshchekov Sergey V., Junior Researcher, Central Research Laboratory, Siberian State Medical University; Engineer National Research, NR TPU, Tomsk, Russian Federation.

Ligacheva Anastasija A., PhD, Researcher, Department of Immunopharmacology, GRIPRM, Tomsk NIMC, RAN, Tomsk, Russian Federation.

Trofimova Evgenija S., PhD, Senior Researcher, Department of Immunopharmacology, GRIPRM, Tomsk NIMC, RAN, Tomsk, Russian Federation.

Sherstoboev Evgeny Yu., DM, Head of the Department of Immunopharmacology, GRIPRM, Tomsk NIMC, RAN, Tomsk, Russian Federation.

Zhdanov Vadim V., DM, Professor, Director of the GRIPRM, Tomsk NIMC, RAN, Tomsk, Russian Federation.

Belousov Mikhail V., DPhSc, Professor, Head of the Department of Pharmaceutical Analysis, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

(✉) **Krivoshchekov Sergey V.**, e-mail: chrom@tpu.ru.

УДК 615.25:616.31-002-003.93-021.6-036.8

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-16-24

Для цитирования: Байтингер Н.Н., Варакута Е.Ю., Мустафина Л.Р., Коняева А.Д., Логвинов С.В., Плотников М.Б., Герасимов А.В., Потапов А.В. Эффективность применения *n*-тирозола для стимулирования регенерации слизистой оболочки губы при экспериментальном стоматите. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 16–24

Эффективность применения *n*-тирозола для стимулирования регенерации слизистой оболочки губы при экспериментальном стоматите

Байтингер Н.Н.¹, Варакута Е.Ю.¹, Мустафина Л.Р.¹, Коняева А.Д.¹,
Логвинов С.В.¹, Плотников М.Б.², Герасимов А.В.¹, Потапов А.В.¹

¹ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, ул. Московский тракт, 2

² Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга
(НИИФирМ им. Е.Д. Гольдберга) Томского национального исследовательского медицинского центра (НИМЦ)
Российской академии наук (РАН)
Россия, 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучение эффективности применения *n*-тирозола (экстракт родиолы розовой) в виде геля на слизистую оболочку губы у крыс с экспериментальным стоматитом.

Материал и методы. Эксперименты проводились на 54 белых самцах крыс массой 220–280 г. Животные были разделены на три группы: контрольная, экспериментальная сравнения и экспериментальная основная. При моделировании у крыс химического стоматита путем аппликации 5%-м раствором едкого натрия на слизистую оболочку губы наблюдалось развитие воспаления. Местное нанесение геля на основе *n*-тирозола проводили три раза в день в течение 12 сут.

Гистологическое и макроскопическое исследования осуществляли на 3-и, 7-е и 12-е сут. Размеры повреждения регистрировали путем измерения площади очага поражения, мм². Одновременно производили взятие контрольного материала, который фиксировали в формалине, заливали в парафин, окрашивали гематоксилином и эозином и по Ван Гизону. В очаге поражения и окружающих его тканях определяли удельные площади плотной неоформленной соединительной ткани, лимфомоноцитарной инфильтрации, грануляционной ткани; численную плотность сосудов в 1 мм². Данные, полученные в ходе исследования динамики заживления, усредняли по вышеуказанным группам и подвергали статистической обработке с использованием непараметрических (Манна – Уитни и Вилкоксона) методов при помощи компьютерной программы Statistica 8.0.

Результаты. На 12-е сут площадь участков поражения более чем вдвое превышала площадь ожоговых поверхностей, на которых применяли гель с *n*-тирозолом. Использование аппликаций геля на основе *n*-тирозола почти вдвое снижало удельную площадь лимфомоноцитарной инфильтрации в окружающих тканях и в самом очаге поражения, способствовало более быстрому созреванию соединительной ткани. Количественный анализ установил, что применение геля на основе *n*-тирозола стимулирует пролиферацию грануляционной и соединительной ткани, а также рост новообразованных сосудов в месте ожога. Таким образом, местное нанесение геля на основе *n*-тирозола способствовало уменьшению воспалительной реакции и стимулировало процесс регенерации.

Ключевые слова: *n*-тирозол, воспаление, стоматит, родиола розовая, слизистая оболочка губы.

✉ Байтингер Наталья Николаевна, e-mail: natalie_derkach@hotmail.com.

ВВЕДЕНИЕ

Многочисленные эпидемиологические исследования разных стран свидетельствуют о том, что болезни слизистой оболочки полости рта (СОПР) составляют 3–6% всех заболеваний стоматологического профиля ввиду постоянного воздействия различных раздражителей: химических, механических, термических, микробных и вирусных агентов и токсинов, которые являются причинами развития заболевания [1]. По данным ВОЗ, такими заболеваниями, как стоматит, гингивит и другие страдают до 80% детей и 93% взрослого населения [2]. Несмотря на широкое применение фармакологических препаратов, лекарственные растения вызывают повышенный интерес, так как в отличие от синтетических средств вызывают менее выраженные реакции со стороны других органов, следовательно лучше переносятся больными. *n*-Тирозол – компонент, полученный из родиолы розовой путем высокоэффективной жидкостной хроматографии [3]. Доказаны антиаритмическое, психостимулирующее, противовоспалительное [4], антиоксидантное [5], гемореологическое [6] и противоопухолевое действия этого препарата [7].

Целью исследования явилось изучение влияния *n*-тирозола на регенерацию слизистой оболочки губы и его эффективности в качестве лечебного средства при экспериментальном стоматите.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполняли на половозрелых самцах крыс линии Вистар в возрасте 3 мес ($n = 54$), массой 220–280 г, полученных из вивария СибГМУ. Крыс разделили на три равновеликие группы (в каждой $n = 18$). Первая группа – контрольная, интактные крысы. Вторая группа – экспериментальная сравнения, крысы, которым под ингаляционным наркозом смоделировали химический стоматит путем аппликации 5%-м раствором едкого натрия на 10 с в область десны и губы на уровне резцов [8]. Третья группа – экспериментальная основная, в которой животным аналогичным образом моделировали стоматит и проводили лечение гелем на основе *n*-тирозола (в концентрации 100 мг/кг массы, доза 25 мг), для чего наносили местно на очаг воспаления три раза в сутки в течение 12 сут.

Макро- и микроскопическое исследования проводили через 3, 7 и 12 сут. Регистрировали размеры повреждения путем измерения площади очага поражения, мм². Забор материала для мор-

фометрического анализа осуществляли передозировкой ингаляционного наркоза хлороформом на 3-и, 7-е и 12-е сут эксперимента. Одновременно производили взятие контрольного материала. Материал фиксировали в жидкости Карнуа при комнатной температуре, обезжизивали и заливали в парафин.

С помощью ротационного микротомы готовили серийные срезы толщиной 5 мкм. Полученные срезы окрашивали гематоксилином и эозином и по методике Ван Гизона. Морфометрические исследования структур слизистой оболочки производили с помощью программы AxioVision Rel 4.8 при увеличении в 400 раз (окуляр x10, объектив x40). В очаге поражения и окружающих его тканях определяли удельные площади плотной неоформленной соединительной ткани, лимфомоноцитарной инфильтрации, грануляционной ткани, мм²; численную плотность сосудов в 1 мм². Данные, полученные в ходе исследования динамики заживления, проверяли на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро – Уилка, затем усредняли по вышеуказанным группам и подвергали статистической обработке с использованием непараметрических методов (Манна – Уитни и Вилкоксона) при помощи компьютерной программы STATISTICA 8.0. Математическая обработка результатов выполнялась с использованием описательных статистик: медианы Me и интерквартильного размаха (в виде 25-го и 75-го перцентилей, $Q1-Q3$). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$, при $p = 0,051-0,060$ высказывались о тенденции.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Через 3 сут эксперимента пораженная поверхность слизистой оболочки губы у животных обеих исследованных групп макроскопически выглядела гиперемизированной, рыхлой, с мелкими белесоватыми наложениями, рыхло спаянными с подлежащей тканью. Участок ожога имел неровные края с валикообразными утолщениями, располагался ниже поверхности неповрежденной слизистой. Площадь пораженных участков не отличалась и составила 64,0 (58,2–71,7) мм² в группе животных без лечения и 62,8 (51,6–70,5) мм² ($p = 0,65$) у животных, которым наносили гель на основе *n*-тирозола (рис. 1).

При микроскопическом исследовании через 3 сут эксперимента слизистая оболочка губы в месте щелочного ожога характеризовалась полным слущиванием эпителиального пласта и некрозом подлежащей соединительной ткани

(рис. 2, а). Вблизи очага поражения в поверхностном эпителии отмечалась повышенная кератинизация рогового слоя. При использовании геля на основе п-тирозола многослойный плоский эпителий на границе с очагом поражения отличался значительной толщиной, клетки шиповатого и зернистого слоев подвергались дистрофическим изменениям, местами отмечалось расслоение рядов эпителиальных клеток с появлением полостей в виде пузырей (явления акантолиза). Эпителиоциты базального слоя характеризовались признаками активной пролиферации. В подлежащей строме наблюдалось разрастание грануляционной ткани, которая вдавалась в эпителиальный пласт хорошо выраженными сосочками (рис. 2, б).

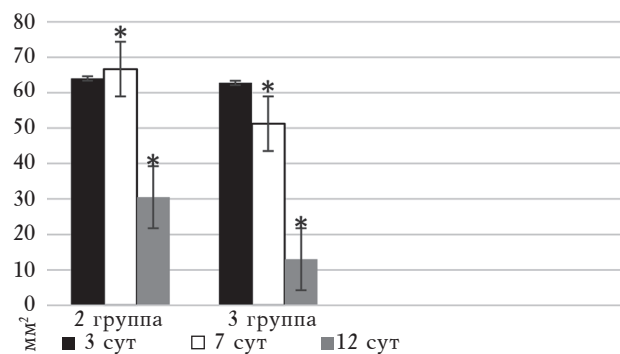


Рис. 1. Динамика заживления повреждения слизистой оболочки губы у крыс с экспериментальным стоматитом, мм². * статистически значимые отличия между группами сравнения

Fig. 1. Dynamics of healing the damage of the mucous membrane of the lip in rats with experimental stomatitis, mm². *statistically significant differences between the comparison groups

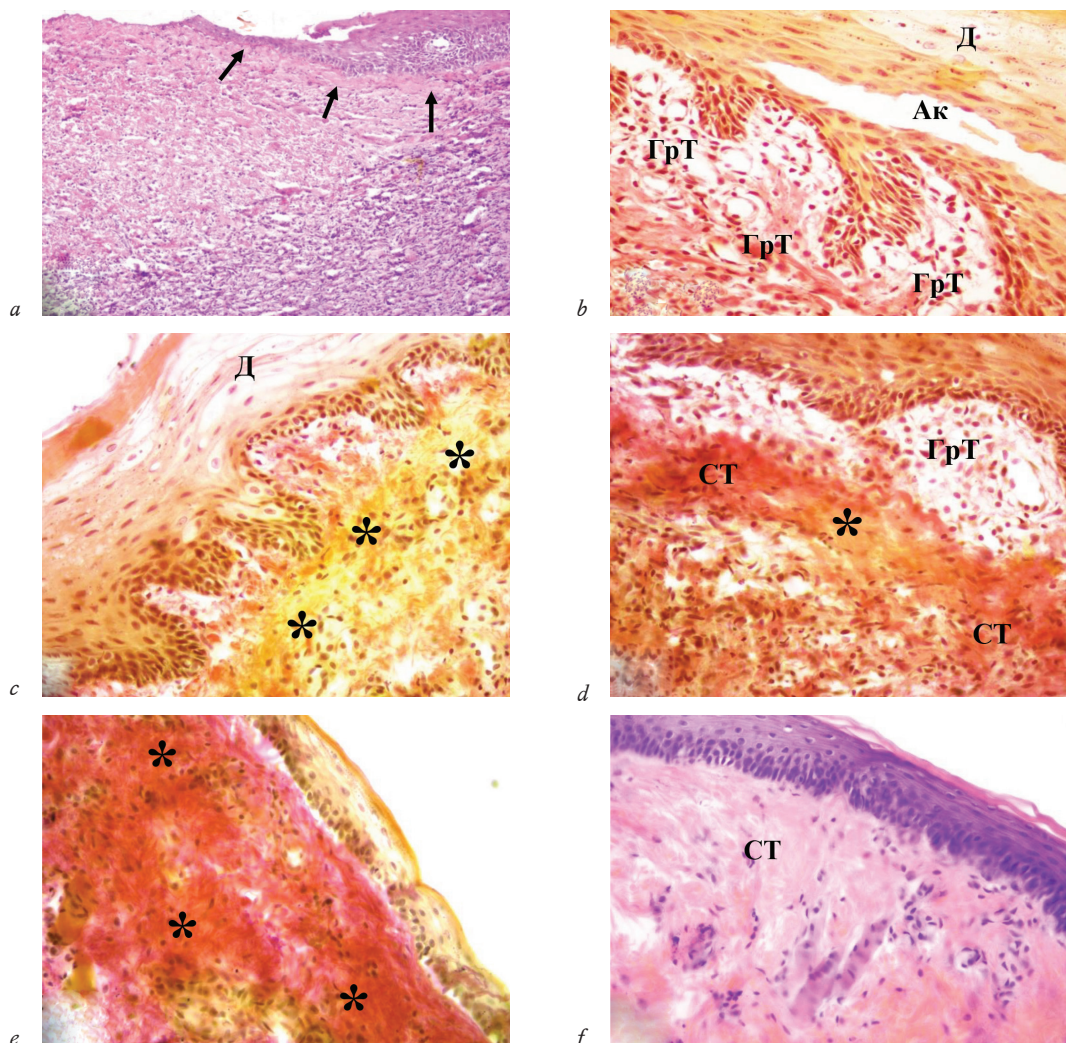


Рис. 2. Губа крысы после щелочного ожога: Ак – акантолиз, Д – дистрофия, ГрТ – грануляционная ткань, СТ – соединительная ткань. Стрелками указана зона некроза, звездочками – нарушение тинкториальных свойств. Окраска: а, ф – гематоксилин и эозин, б-е – гематоксилин и пикрофуксин по Ван Гизону. Ув.: а – 200; б-ф – 400

Fig. 2. The lip of the rat after an alkaline burn: AK – acantholysis, Д – dystrophy, ГрТ – granulation tissue, СТ – connective tissue. Arrows indicate the zone of necrosis, asterisks – violation of tinctorial properties. Color: а, ф – hematoxylin and eosin, б-д – hematoxylin and picrofuchsin according to Van Gieson. In.: а – 200; б-ф – 400

Морфоколичественный подсчет удельных объемов грануляционной ткани и сосудов в месте щелочного ожога и в окружающих тканях слизистой оболочки губы через 3 сут эксперимента не выявил отличий между группами (рис. 3, *a*). Статистически значимо отличались лишь показатели удельных объемов лимфомоноцитарной инфильтрации и соединительной ткани. Так, применение аппликаций геля на основе *n*-тирозола почти вдвое снижало удельную площадь лимфомоноцитарной инфильтрации в самом очаге с 57,9% (50,1–63,7), до 46,0% (39,1–51,8) ($p = 0,044$), в окружающих тканях с 45,2% (37,6–53,2) до 25,3% (16,3–33,1) ($p = 0,036$), а удельная площадь соединительной ткани вокруг очага составила 74,7% (64,8–81,3), что в 1,4 раза превышало показатели 2-й группы ($p = 0,027$) (рис. 3, *b*).

Через 7 сут эксперимента при макроскопическом исследовании ожоговая поверхность на слизистой оболочке губы у группы без коррекции выглядела гиперемизированной, рыхлой, влажной, с большим количеством белесоватых наложений, рыхло спаянных с подлежащей тканью. У животных, получавших лечение, раневая поверхность уплотнялась, наблюдалось отторжение белесоватых масс, местами с обнажением кровоточащей поверхности. Участок ожога у обеих групп имел неровные края с венчиком гиперемии, располагался выше поверхности неповрежденной слизистой. Площадь пораженных участков была значимо больше в группе без лечения и составила 66,7 (60,2–73,7) мм², тогда как в случае использования аппликаций геля на основе *n*-тирозола – 51,3 (44,2–57,7) мм² ($p = 0,020$) (см. рис. 1).

При гистологическом исследовании на 7-е сут эксперимента поверхностный эпителий вблизи участка ожога сохранял признаки дистрофии клеток шиповатого и зернистого слоев, выраженной неравномерно на протяжении эпителиального пласта. Подлежащая грануляционная и зрелая соединительная ткань формировала многочисленные сосочки, вдающиеся в эпителий, что соответствует нормальному строению слизистой оболочки губы. При этом волокна соединительной ткани характеризовались нарушением тинкториальных свойств, хорошо заметным при окраске по Ван Гизону (рис. 2, *c*). При использовании аппликаций геля с *n*-тирозолом наблюдалось более быстрое созревание соединительной ткани, а также лучшее восприятие коллагеновыми волокнами лейкофуксина (рис. 1, *d*). Граница между эпителием и собственной пластинкой слизистой оболочки становилась более сглаженной.

Количественный анализ в зоне ожога установил, что значения лимфомоноцитарной инфильтрации в группе без лечения продолжали превышать значения 3-й группы, а наибольшее разрастание грануляционной и соединительной ткани, новообразованных сосудов наблюдали в группе с использованием геля на основе *n*-тирозола (рис. 2, *a*). Так, удельные объемы лимфомоноцитарной инфильтрации во 2-й группе составили 60% (53,2–65,9), в 3-й – 30,0% (23,4–43,9) ($p = 0,041$); грануляционной ткани 24,6% (14,8–33,6) и 43,4% (32,8–52,5) ($p = 0,033$) соответственно; соединительной ткани 14,4% (8,4–23,0) и 26,6% (19,5–32,1) ($p = 0,029$) соответственно; численная плотность сосудов 45,9% (39,6–52,6) и 66,6% (60,2–73,9) ($p = 0,044$) соответственно. В зоне, окружающей очаг поражения, через 7 сут эксперимента не выявлено отличий между группами (рис. 2, *b*).

Через 12 сут эксперимента раневая поверхность у группы без лечения выглядела несколько гиперемизированной, местами сохранялись белесоватые массы, под которыми обнажалась кровоточащая поверхность. Участок ожога продолжал немного возвышаться над уровнем неповрежденной слизистой. У группы с коррекцией *n*-тирозолом пораженная поверхность полностью очистилась от белесоватых наложений, выглядела гладкой, блестящей, ярко-розового цвета с ровными краями, не возвышающимися над поверхностью неповрежденной слизистой. Площадь участков поражения составила в среднем 30,5 (23,4–35,7) мм², что более чем вдвое превышало площадь ожоговых поверхностей, на которых применяли гель с *n*-тирозолом (13,0 (7,4–19,0) мм²; $p = 0,011$) (см. рис. 1).

При микроскопическом исследовании через 12 сут эксперимента эпителиальный пласт слизистой оболочки вблизи участка ожога оставался сохранным, но был несколько истончен за счет уменьшения количества рядов клеток шиповатого слоя. Непосредственно в месте ожога эпителизация отсутствовала. В соединительной ткани собственной пластинки слизистой оболочки при окраске по Ван Гизону наблюдалось неравномерное восприятие красителя волокнами (см. рис. 2, *e*). После аппликаций геля с *n*-тирозолом эпителиальный пласт на границе с участком повреждения характеризовался незначительным истончением, сохранял четкую стратификацию слоев. Подлежащая собственная пластинка слизистой оболочки была представлена зрелой соединительной тканью (рис. 2, *f*).

При количественном исследовании установлено, что на 12-е сут удельные объемы лимфо-

моноцитарной инфильтрации снижались в обеих группах исследования по сравнению с предыдущими сроками (3 и 7 сут) как в очаге поражения, так и на его периферии. При этом наиболее выраженное уменьшение показателей отмечалось в группе животных, которым наносили гель с *n*-тирозолом. Так, в зоне ожога удельные объемы лимфоидных инфильтратов составляли 27,8% (19,6–33,9) у крыс без лечения и 16,1% (10,5–25,1) ($p = 0,019$) у животных 3-й группы. На периферии соответственно 39,7% (32,2–44,9) и 28,9% (20,5–

34,3) ($p = 0,033$). Удельные объемы зрелой соединительной ткани в очаге поражения в 3-й группе увеличились до 45,9% (39,2–52,7) (контроль 10,5% (6,2–16,4), что в 1,5 раз превышало значения 2-й группы ($p = 0,041$), а в зоне, окружающей ожог, – до 71,1% (64,2–80,9), что в 1,2 раза превышало значения 2-й группы ($p = 0,019$). Численная плотность сосудов также преобладала в группе с *n*-тирозолом и составила 88,4 (79,3–94,7) в 1 мм², тогда как в группе с ожогом 67,9 (59,9–75,4) в 1 мм² (контроль 64 (58,2–71,6) в 1 мм², $p = 0,016$) (см. рис. 3, б).

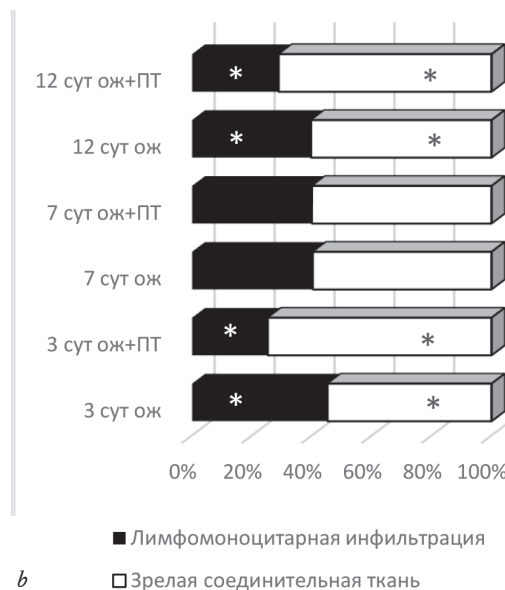
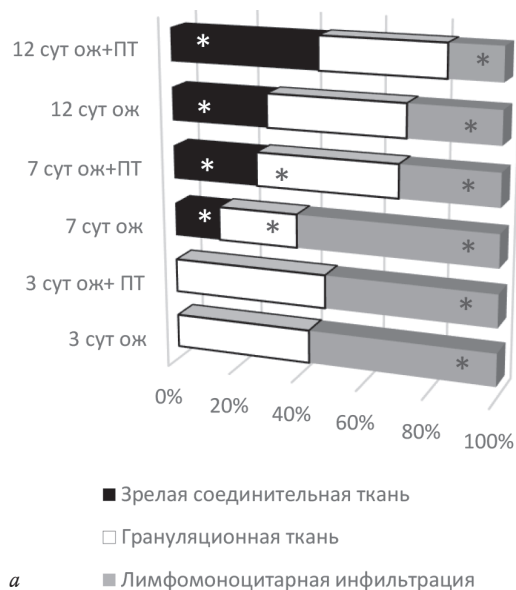


Рис. 3. Удельные объемы структурных компонентов слизистой оболочки губы после щелочного ожога, %: а – очаг ожогового поражения, б – зона, окружающая очаг поражения. * статистически значимые отличия между группами сравнения

Fig. 3. Specific volumes of structural components of the lip mucous membrane after an alkaline burn, %: а – focus of burn damage, б – zone surrounding the lesion. * statistically significant differences between the comparison groups

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты настоящего исследования продемонстрировали, что процесс регенерации ожоговой травмы слизистой оболочки губы в целом осуществлялся в пределах стереотипных реакций воспаления: альтерация (более выражена в 1–3-и сут), экссудация (3–5-е сут) и пролиферация (восстановление соединительнотканной основы на 7–12-е сут). Так, полученные данные совпадают с описанием других исследователей в экспериментах по изучению влияния различных препаратов на слизистую оболочку полости рта при моделировании травматического стоматита [9].

В процессе деструкции ткани возникает состояние гипоксии, вследствие чего повышается уровень потребления кислорода тканями без достаточного обеспечения его утилизации. Это приводит к росту концентрации активных форм кислорода с активацией свободно-радикально-

го окисления и перекисного окисления липидов, усиливающих повреждение [10]. Деструкция ткани в данном эксперименте проявляется очагами некроза эпителия и подлежащей соединительной ткани. *n*-Тирозол, обладая антиоксидантной активностью, восстанавливает равновесие окислительно-восстановительной системы, тем самым повышает резистентность клеток нормальных и пораженных тканей к повреждающему действию свободных радикалов [11]. Вследствие этого снижалась экссудация и миграция клеток в очаг поражения, что подтверждалось на 7-е сут снижением в два раза удельного объема лимфомоноцитарной инфильтрации на фоне лечения *n*-тирозолом по сравнению с группой без коррекции.

После повреждения клеток высвобождаются большие количества разнообразных медиаторов воспаления, которые вызывают расстройства кровообращения и микроциркуляции в воспален-

ной ткани. Так, еще больше усиливается гипоксия тканей [12]. Перечисленные нарушения приводят к замедлению процессов пролиферации и созревания грануляционной ткани, что наблюдалось у животных 2-й группы. У крыс 3-й группы показано увеличение удельных объемов грануляционной и зрелой соединительной тканей в два раза по сравнению с группой без лечения, что согласуется с литературными данными о способности *n*-тирозола снижать агрегационную активность тромбоцитов и улучшать деформируемость эритроцитов, усиливая кровоснабжение поврежденной области [13]. Также отмечено увеличение численной плотности сосудов за счет стимулирования физиологического ангиогенеза, вероятно, через регуляцию экспрессии и активности эндотелиальной синтазы оксида азота (NOS) [14], необходимой для регуляции кровообращения. Очевидно, что местное нанесение геля на основе *n*-тирозола улучшает кровообращение и трофику очага повреждения, а также стимулирует регенерацию слизистой оболочки губы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования показали, что при местном использовании геля на основе *n*-тирозола ускоряется регенерация ожоговой поверхности слизистой оболочки губы при экспериментальном стоматите за счет снижения лимфомоноцитарной инфильтрации, усиленного кровоснабжения поврежденной области, что обусловило интенсивное созревание соединительной ткани. *n*-Тирозол увеличивает скорость заживления раны, ускоряет эпителизацию ожоговой поверхности, оказывает выраженное противовоспалительное действие.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ И ВКЛАД АВТОРОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи, и сообщают о вкладе авторов. Байтингер Н.Н. – проведение экспериментальной части, анализ, интерпретация результатов, подготовка рукописи. Варакута Е.Ю. – разработка концепции экспериментальной части, окончательное утверждение рукописи для публикации. Мустафина Л.Р. – разработка дизайна, интерпретация результатов. Коняева А.Д. – проведение экспериментальной части, анализ результатов. Логвинов С.В. – разработка концепции рукописи. Потапов А.В. – разработка дизайна исследования. Герасимов А.В. – интерпретация результатов исследования. Плотников М.Б. – разработка концепции экспериментальной части.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование одобрено локальным комитетом по этике ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (протокол № 4972).

ЛИТЕРАТУРА

- Shashy R.G., Ridley M.B. Aphthous ulcers: A difficult clinical entity // *J. Am. Otolaryngol.* 2000; 93. DOI:10.1053/ajot.2000.18872.
- Shulman J.D., Beach M.M., Rivera-Hidalgo F. The prevalence of oral mucosal lesions in U.S. adults: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey // *J. Am. Dent. Assoc.* 2004; 86. DOI: 10.14219/jada.archive.2004.0403.
- Ming D.S. Hillhouse B.J., Guns E. S., Eberding A., Xie S., Vimalanathan S., Towers G.H. Bioactive compounds from *Rhodiola rosea* (Crassulaceae) // *Phytother. Res.* 2005; 19 (9): 22. DOI:10.1002/ptr.1597.
- Doncheva N.D., Mihaylova A.S., Getova D.P. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Rhodiola rosea* L. Extract in rats // *Folia Med.* 2013; 55: 70–75. DOI: 10.2478/folmed-2013-0030.
- Chernyshova G.A., Plotnikov M.B., Smoliakova V.I., Krasnov E.A. Main pharmacokinetic parameters of *p*-tyrosol after intravenous injection in rats. Part III: Distribution of *p*-tyrosol in rat // *Eksp. Klin. Farmakol.* 2011; 74: 27–29. DOI: 10.1007/s10517-007-0215-7.
- Плотников М.Б., Маслов М.Ю., Чернышева Г.А., Смольякова В.И., Алиев О.И.Э., Васильев А.С., Крысин А.П., Салахутдинов Н.Ф., Толстиков Г.А., Толстикова Т.Г. Гемореологическое и антитромбоцитарное средство. Патент RU 2239423. 2004.
- Mendonza R.J.D., Coutinho-Netto J. Cellular aspects of healing // *An. Bras. Dermatol.* 2009; 84 (3): 257–262. DOI: 10.1590/s0365-05962009000300007.
- Левицкий А.П., Деньга О.В., Макаренко О.А., Хромагина Л.Н., Ступак Е.П., Томилина Т.В., Кнава О.Э. Экспериментальные методы воспроизведения гингивита // *Инновации в стоматологии.* 2013; 1: 2–6.
- Мазанова Л.С., Абакумова Т.А., Спасов А.А., Тёмкин Э.С., Новочадов В.В. Изучение эффективности геля «поликатан» при травматическом стоматите // *Саратовский научно-медицинский журнал.* 2008; 4(4): 75–77.
- Попков В.М., Чеснокова Н.П., Ледванов М.Ю. Активация липопероксидации как ведущий патогенетический фактор развития типовых патологических процессов и заболеваний различной этиологии. Саратов: СГМУ, 2012.
- Sarris J., Panossian A., Schweitzer I., Stough C., Schley A. Herbal medicine for depression, anxiety and insomnia: a review of psychopharmacology and clinical evidence //

- Eur. Neuropsychopharmacol.* 2011; 21: 841–860. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2011.04.002.
12. Константинова Е.Э. Основные закономерности изменения реологических свойств крови и состояния микроциркуляции у больных ишемической болезнью сердца в условиях дислипотеинемий // *Тромбоз, гемостаз, реология.* 2004; 18 (12): 62–68.
 13. Голубева И.В. Механизмы кардиопротекторного действия и параметры фармакокинетики *n*-тирозола: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Томск, 2007.
 14. Radomska-Leśniewska D.M., Skopiński P., Bałan B.J., Biłozewska A., Jyżwiak J., Rokicki D., Skopińska-Ryżewska E., Borecka A., Hevelke A. Angiomodulatory properties of *Rhodiola* spp. and other natural antioxidants // *Cent. Eur. J. Immunol.* 2015; 40 (2): 249–262. DOI: 10.5114/ceji.2015.52839.

Поступила в редакцию 08.02.2017

Утверждена к печати 30.06.2017

Байтингер Наталия Николаевна, ассистент, кафедра стоматологии, СибГМУ, г. Томск.

Варакута Елена Юрьевна, д-р мед. наук, профессор, кафедра анатомии человека с курсом топографической анатомии и оперативной хирургии, СибГМУ, г. Томск.

Мустафина Лилия Рамильевна, д-р мед. наук, профессор, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск.

Коняева Анастасия Денисовна, студент 4-го курса, СибГМУ, г. Томск.

Логвинов Сергей Валентинович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск.

Плотников Марк Борисович, д-р биол. наук, профессор, зав. отделом фармакологии, НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ РАН, г. Томск.

Герасимов Александр Владимирович, д-р мед. наук, профессор, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск.

Потапов Алексей Валерьевич, д-р мед. наук, профессор, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск.

(✉) Байтингер Наталия Николаевна, e-mail: natalie_derkach@hotmail.com.

УДК 615.25:616.31-002-003.93-021.6-036.8

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-16-24

For citation: Baitinger N.N., Varakuta E.Yu., Mustafina L.R., Koniaeva A.D., Logvinov S.V., Plotnikov M.B., Gerasimov A.V., Potapov A.V., Efficacy of the *n*-tyrosol upon the state of lip mucous membrane at experimental stomatitis. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2017; 16 (3): 16–24

Efficacy of *n*-tyrosol medication for regeneration stimulation of lip mucous membrane at experimental stomatitis

Baitinger N.N.¹, Varakuta E.Yu.¹, Mustafina L.R.¹, Koniaeva A.D.¹,
Logvinov S.V.¹, Gerasimov A.V.¹, Potapov A.V.¹, Plotnikov M.B.²

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Goldberg Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine (GIPRM), Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences (RAS)

3, Lenina Str., Tomsk, 634028, Russian Federation

ABSTRACT

The purpose of the study is to investigate the effectiveness of the use of *n*-tyrosol (extract of *rhodiola rosea*) in the form of gel on the mucous membrane of the lip in rats with experimental stomatitis.

Materials and methods. The experiments were carried out on 54 white male rats weighing 220–280 g. The animals were divided into three groups: control, experimental for comparison and experimental main. When modeling chemical stomatitis in rats by applying 5% solution of caustic sodium to the mucous membrane of the lip, the development of inflammation was observed. The local application of the gel based on *n*-tyrosol was carried out three times a day for 12 days.

Histological and macroscopic examination was performed on the 3rd, 7th and 12th days. The extent of damage was recorded by measuring the area of the lesion in square millimeters (mm²). At the same time a control material was taken and was fixed in formalin, embedded into paraffin, stained with hematoxylin and eosin by Van Gieson. Specific areas of dense unformed connective tissue, lymphomonocytic infiltration, granulation tissue were determined in the lesion and surrounding tissues; the numerical density of the vessels was determined in 1 mm². The data obtained during the study of the dynamics of healing were averaged in the groups mentioned above and subjected to statistical processing using nonparametric (Mann–Whitney and Wilcoxon) methods using the computer program Statistica 8.0.

Results. On the 12th day, the area of the lesions was more than twice as large as the surface of burn surfaces, on which the gel with *n*-tyrosol was used. The use of *n*-tyrosine-based gel applications reduced by half the specific area of lymphomonocytic infiltration in the surrounding tissues and in the lesion itself, and promoted a more rapid maturation of the connective tissue. Quantitative analysis revealed that the use of the gel with *n*-tyrosol stimulated the proliferation of granulation and connective tissue, as well as the growth of newly formed vessels in the burn area. Thus, topical application of the *n*-tyrosine-based gel helped to reduce the inflammatory response and stimulated the regeneration process.

Key words: *n*-tyrosol, inflammation, stomatitis, *rhodiola rosea*, mucous membrane of the lip.

REFERENCES

- Shashy R.G., Ridley M.B. Aphthous ulcers: A difficult clinical entity // *J. Am. Otolaryngol.* 2000; 93. DOI: 10.1053/ajot.2000.18872.
- Shulman J.D., Beach M.M., Rivera-Hidalgo F. The prevalence of oral mucosal lesions in U.S. adults: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey // *J. Am. Dent. Assoc.* 2004; 86. DOI: 10.14219/jada.archive.2004.0403.
- Ming D.S., Hillhouse B.J., Guns E. S., Eberding A., Xie S., Vimalanathan S., Towers G.H. Bioactive compounds from *Rhodiola rosea* (Crassulaceae) // *Phytother. Res.* 2005;19 (9): 22. DOI:10.1002/ptr.1597.
- Doncheva N.D., Mihaylova A.S., Getova D.P. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Rhodiola rosea* L. Extract in rats // *Folia Med.* 2013; 55: 70–75. DOI: 10.2478/folmed-2013-0030.
- Chernyshova G.A., Plotnikov M.B., Smoliakova V.I., Krasnov E.A. Main pharmacokinetic parameters of *p*-tyrosol after intravenous injection in rats. Part III: Distribution of *p*-tyrosol in rat // *Eksp. Klin. Farmakol.* 2011; 74: 27–29. DOI: 10.1007/s10517-007-0215-7.
- Plotnikov M.B., Maslov M.Yu., Chernysheva G.A., Smol'yakova V.I., Aliev O.I.E., Vasil'ev A.S., Krysin A.P., Salakhutdinov N.F., Tolstikov G.A., Tolstikova T.G. Gemoreologicheskoe i antitrombotsitarnoe sredstvo [Hemorheological and antiplatelet agent]. Patent RUS 2239423. 2004 (in Russian).
- Mendonza R.J.D., Coutinho-Netto J. Cellular aspects of healing // *An. Bras. Dermatol.* 2009; 84 (3): 257–262. DOI: 10.1590/s0365-05962009000300007.
- Levitskiy A.P., Den'ga O.V., Makarenko O.A., Khromagina L.N., Stupak E.P., Tomilina T.V., Knava O.E. Eksperimental'nye metody vosproizvedeniya gingivita [Experimental methods gingivitis] // *Innovatsii v stomatologii – Innovations in Dentistry.* 2013; 1: 2–6 (in Russian).
- Mazanova L.S., Abakumova T.A., Spasov A.A., Temkin E.S., Novochadov V.V. Izuchenie effektivnosti gelya «polikatan» pri travmaticheskom stomatite [The study of the effectiveness of the gel “polikatan” traumatic stomatitis] // *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal – Saratov Journal of Medical Scientific Research.* 2008; 4: 75–77 (in Russian).
- Popkov V.M., Chesnokova N.P., Ledvanov M.Yu. Aktivatsiya lipoperoksidatsii kak vedushchiy patogeneticheskii faktor razvitiya tipovykh patologicheskikh protsessov i zabolevaniy razlichnoy etiologii [Activation of lipid peroxidation as a leading pathogenetic factor in the development of typical pathological processes and diseases of different etiologies]. Saratov: SGMU, 2012 (in Russian).
- Sarris J., Panossian A., Schweitzer I., Stough C., Schley A. Herbal medicine for depression, anxiety and insomnia: a review of psychopharmacology and clinical evidence // *Eur. Neuropsychopharmacol.* 2011; 21: 841–860. DOI: 10.1016/j.euroneuro.2011.04.002.
- Konstantinova E.E. Osnovnye zakonomernosti izmeneniya reologicheskikh svoystv krovi i sostoyaniya mikrotsirkulyatsii u bol'nykh ishemicheskoy bolezniyu serdtsa v usloviyakh dislipoproteinemii [The basic laws of change blood rheology and microcirculation state in patients with coronary heart disease in a dislipoproteinemia] // *Tromboz, gemostaz, reologiya – Thrombosis, hemostasis, reologiya.* 2004; 18 (12): 62–68 (in Russian).
- Golubeva I.V. Mekhanizmy kardioprotekornogo deystviya i parametry farmakokinetiki *p*-tirozola: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk [Cardioprotective mechanisms of action and pharmacokinetics parameters of *p*-tyrosol: author. dis. ... cand. biol. scien]. Tomsk, 2007 (in Russian).

14. Radomska-Leśniewska D.M., Skopiński P., Bałan B.J., Bi-
ałoszewska A., Jyżwiak J., Rokicki D., Skopińska-Ryżews-
ka E., Borecka A., Hevelke A. Angiomodulatory prop-

erties of Rhodiola spp. and other natural antioxidants // *Cent. Eur. J. Immunol.* 2015; 40 (2): 249–262. DOI: 10.5114/ceji.2015.52839.

Received February 8.2017

Accepted June 30.2017

Baitinger Nataliia N., Assistant, Department of Dentistry, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Varakuta Elena Yu., DM, Professor, Head of the Department of Human Anatomy with Course of Topography Anatomy and Operative Surgery, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Mustafina Liliia R., DM, Professor, Department of Histology, Embryology and Cytology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Koniaeva Anastasiia D., Student of the 4-year, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Logvinov Sergei V., DM, Professor, Head of the Department of Histology, Embryology and Cytology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Plotnikov Mark B., DBSc, Professor, Head of the Laboratory of Pharmacology of Blood Circulation, GIPRM, Tomsk NRMC, RAS, Tomsk, Russian Federation.

Gerasimov Alexandr V., DM, Professor of the Department of Histology, Embryology and Cytology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Potapov Alexei V., DM, Professor of the Department of Histology, Embryology and Cytology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

(✉) **Baitinger Nataliia N.**, e-mail: natalie_derkach@hotmail.com.

УДК 576.3.086.8:544.582.3

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-25–33

Для цитирования: Брагина О.Д., Ларькина М.С., Стасюк Е.С., Чернов В.И., Юсубов М.С., Скуридин В.С., Деев С.М., Зельчан Р.В., Булдаков М.А., Подрезова Е.В., Белоусов М.В. Разработка высокоспецифичного радиохимического соединения на основе меченых ^{99m}Tc рекомбинантных адресных молекул для визуализации клеток с гиперэкспрессией Her-2/neu. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 25–33

Разработка высокоспецифичного радиохимического соединения на основе меченых ^{99m}Tc рекомбинантных адресных молекул для визуализации клеток с гиперэкспрессией Her-2/neu

Брагина О.Д.¹, Ларькина М.С.³, Стасюк Е.С.², Чернов В.И.^{1,2}, Юсубов М.С.^{2,3}, Скуридин В.С.², Деев С.М.^{2,5}, Зельчан Р.В.¹, Булдаков М.А.^{1,4}, Подрезова Е.В.², Белоусов М.В.³

¹ Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии Томского национального исследовательского медицинского центра (НИМЦ) Российской академии наук (РАН)
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

² Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

³ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

⁴ Национальный исследовательский Томский государственный университет (НИ ТГУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36

⁵ Институт биоорганической химии (ИБХ) им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН
Россия, 117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

РЕЗЮМЕ

В настоящее время актуальным является поиск новых диагностических методов, позволяющих с высокой информативностью и достоверностью выявлять злокачественные образования с гиперэкспрессией Her-2/neu. В последние годы активно развиваются радиоизотопные методы для выявления специфических опухолевых мишеней, при этом в качестве «нацеливающего» модуля выступают антитела.

Цель исследования. Создание химически стабильного радиохимического соединения для визуализации клеток с гиперэкспрессией Her-2/neu.

Материал и методы. Исследование проводилось с использованием двух клеточных линий аденокарцином человека с экспрессией (BT-474) и без экспрессии (MCF-7) Her-2/neu. Характеристика специфичности связывания исследуемого комплекса с рецептором Her-2/neu определялась с помощью прямой радиометрии и планарной сцинтиграфии. Для оценки отличий количественных признаков между группами применялся непараметрический тест Манна – Уитни.

Результаты. Выход меченого комплекса составил более 91%, при радиохимической чистоте – более 94%. При проведении визуальной сцинтиграфической оценки значительно большая интенсивность накопления изучаемого радиохимического соединения отмечалась в культуре клеток с гиперэкспрессией поверхностного рецептора Her-2/neu. Результаты прямой радиометрии также продемонстрировали более высокое накопление радиофармацевтического препарата в клеточной линии аденокарциномы

✉ Брагина Ольга Дмитриевна, e-mail: rungis@mail.ru.

молочной железы человека BT-474 с гиперэкспрессией Her-2/neu по сравнению с контрольной группой.

Заключение. При проведении доклинических испытаний *in vitro* показана высокая стабильность исследуемого соединения, а также его аккумуляция в группе клеток с гиперэкспрессией Her-2/neu.

Ключевые слова: DARPIn, технеций-99м, хелатирующий агент, Her-2/neu, молекулярная визуализация, рак молочной железы.

ВВЕДЕНИЕ

На протяжении двух последних десятилетий особый интерес вызывает изучение поверхностного рецептора Her-2/neu, относящегося к семейству трансмембранных тирозинкиназных рецепторов (EGFR = ErbB1/HER1; ErbB2/HER2; ErbB3/HER3; ErbB4/HER4) и в норме экспрессирующегося на поверхности всех эпителиальных клеток организма [1]. При злокачественной трансформации происходит амплификация гена *Her-2/neu*, приводящая к гиперэкспрессии кодируемого им рецептора и усиленному формированию гомо- и гетеродимеров, что обуславливает неконтролируемую передачу сигнала и нарушение процессов апоптоза, пролиферации и клеточного деления [2, 3].

Наличие гиперэкспрессии Her-2/neu выявляется на поверхности опухолевых клеток при раке легкого, яичников, желудка, простаты и пр. [4]. Особое место среди злокачественных новообразований занимает рак молочной железы, при котором амплификация гена *Her-2/neu* отмечается у 15–20% больных и ассоциируется с агрессивным течением заболевания, а также с низкими показателями общей и безрецидивной выживаемости [5]. Все это позволяет успешно использовать Her-2/neu в качестве мишени не только для диагностики, но также и для проведения направленной (таргетной) терапии у пациентов с гиперэкспрессией данного параметра [6]. Наиболее ярким примером является использование таргетного препарата трастузумаб (герцептин), который до сих пор остается золотым стандартом терапии больных Her-2/neu-позитивным раком молочной железы, значительно увеличивающим показатели общей и безрецидивной выживаемости [7]. При этом на первом этапе определяется наличие и (или) отсутствие гиперэкспрессии этого рецептора на поверхности опухолевой клетки, а на втором (при наличии экспрессии соответственно) проводится лечение [8].

В настоящее время существует ряд диагностических методик, позволяющих выявить наличие гиперэкспрессии рецептора Her-2/neu

[9]. Наибольшее распространение получил иммуногистохимический метод, что обусловлено возможностью повседневной оценки экспрессии с использованием срезов парафиновых блоков ткани, фиксированной формалином [10]. Однако, несмотря на доступность и относительную дешевизну, он имеет ряд недостатков, к которым относят необходимость инвазивной процедуры (взятие биопсийного или операционного материала), высокую частоту ложноположительных и ложноотрицательных результатов, а также возможное нарушение методологии выполнения исследования и неправильную интерпретацию полученных результатов [11]. Более надежным способом выявления гиперэкспрессии Her-2/neu является флуоресцентная гибридизация *in situ* [12]. Однако, несмотря на высокую информативность, данная методика также имеет свои недостатки: невозможность выполнения исследования *in vivo* с оценкой распространенности опухолевого процесса (оценка основного опухолевого узла, регионарных лимфатических узлов, отдаленных органов и тканей). Неоднозначными также остаются случаи, связанные с опухолевой гетерогенностью экспрессии HER2, что является серьезной диагностической проблемой в определении точного рецепторного статуса злокачественного образования, и, соответственно, разрозненностью полученных результатов исследования [13, 14]. В связи с этим в настоящее время по-прежнему остается актуальным поиск новых диагностических методов, позволяющих с высокой информативностью и достоверностью выявлять злокачественные образования с гиперэкспрессией Her-2/neu [15].

В последние годы активно развиваются радиоизотопные методы для выявления специфических опухолевых мишеней с применением радиоизотопов [16]. При этом в качестве «нацеливающего» на молекулярные мишени модуля выступают антитела [17]. Представляет интерес новый класс адресных молекул неиммуноглобулиновой природы Design Ankyrin Repeat Protein (DARPIn), которые являются пригодными для соединения с радиоактивными изотопами [18]. Главными

преимуществами таких белковых структур являются небольшой размер (14–20 кДа), стабильная структура, высокая специфичность и аффинность к антигену, а также значительно более низкая стоимость производства, обусловленная их экспрессией в бактериальных средах [19, 20].

Наиболее часто используемым радионуклидом для радиодиагностических препаратов выступает технеций-99м (^{99m}Tc), главными достоинствами которого является его доступность, короткий период полураспада ($T_{1/2} = 6,05$ ч), невысокая стоимость изготовления и эксплуатации генераторов ^{99m}Tc , а также простая технология получения элюата из генератора ^{99m}Tc [21, 22].

Важным в радиохимическом синтезе является выбор хелатирующего агента для связывания ^{99m}Tc , а также разработка методики химической модификации рекомбинантных адресных молекул с сохранением их способности связываться со специфическими рецепторами опухолевых клеток [23, 24].

Целью настоящего исследования являлось создание химически стабильного радиохимического соединения для визуализации клеток с гиперэкспрессией Her-2/neu. При этом в качестве «нацеливающего» модуля использовался анти-Her-2/neu белок DARPIn9_29, а в качестве визуализирующего – радиоизотоп ^{99m}Tc . В качестве хелатирующего агента применялся сукцинимид-1-ил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноат (DPAH-NHS ester) [25].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Кодирующая последовательность DARPIn9_29 была амплифицирована с плазмиды pCG-Hnse-DARPIn-d18-9-29 с использованием специфических праймеров 5'-cgccgaattcttgcaggtttcagccag (предоставлена проф. Деевым С.М., ИБХ им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН).

Технеций-99м для исследований был получен из генератора технеция « ^{99m}Tc -ГТ-ТОМ» [21]. Пертехнетат-ионы, присутствующие в исходном элюате из генератора, имеют высшую степень окисления (VII), при которой они не обладают высокой химической активностью и не проявляют склонности к комплексообразованию. Для понижения их степени окисления используются различные восстановители, но чаще всего применяют хлорид двухвалентного олова [26]. В данной работе в качестве восстановителя также использовался хлорид двухвалентного олова ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). В качестве хелатирующего агента применялся сукцинимид-1-ил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноат (DPAH-NHS ester).

Для исследования и синтеза хелатирующего агента применялись субстраты, реагенты и органические растворители, являющиеся товарными продуктами фирм Aldrich (США), Fluka (Швейцария) и других, соответствующей чистоты, которые использовались без предварительной очистки.

Синтез DPAH-NHS ester проводили по разработанной методике на кафедре технологии органических веществ и полимерных материалов НИ ТПУ. В качестве основного субстрата использовали циклогексанон, промежуточного субстрата – метиловый эфир 6-иодгексановой кислоты [27].

Для получения радиофармацевтического препарата (РФП) во флакон вместимостью 10 см³ с набором реагентов (100 мкл раствора DPAH-DARPIn9_29 концентрацией 0,5 мг/мл (в фосфатном буфере), 60 мкл раствора цитрата натрия с концентрацией 100 мг/мл и 20–60 мкл раствора $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ с концентрацией 7 мг/мл) через пробку вводят 1 мл элюата ^{99m}Tc с активностью 0,5–3,7 ГБк (не вставляя воздушную иглу). После перемешивания и инкубации в течение 30 мин при комнатной температуре препарат готов к применению.

Определения радиохимического выхода и радиохимической чистоты (РХЧ) полученного РФП проводили с помощью тонкослойной хроматографии на пластинах силикагеля (Sorbfil, Россия). В качестве подвижных фаз применяли две системы: ацетон (система 1) и смесь – $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (96%) : NH_4OH (25%) : H_2O в соотношении 2 : 5 : 5 (система 2) соответственно. В ацетоне комплекс ^{99m}Tc -DPAH-DARPIn9_29 остается на линии старта, а пертехнетат-ионы ^{99m}Tc (VII) поднимаются с фронтом растворителя. В систему 2 комплекс ^{99m}Tc -DPAH-DARPIn9_29 и свободные пертехнетат-ионы поднимаются с фронтом элюента, а гидролизированный технеций остается на линии старта. Распределение активности ^{99m}Tc на радиохроматограммах изучали с помощью установки «ГаммаСкан-01А» («Амплитуда», Россия).

В качестве исследуемой группы использовали клетки аденокарциномы молочной железы человека BT-474 с гиперэкспрессией Her-2/neu, контрольной – клетки человеческой аденокарциномы молочной железы MCF-7. Обе клеточные линии культивировали в питательной среде DMEM («Панэко», Россия) с добавлением 10%-й инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки (Biosera, Франция) и пенициллина-стрептомицина («Панэко», Россия) при 37 °С и 5%-м уровне CO_2 . Клеточную суспензию пересевали в новые чашки Петри (ТТР, Швейцария) каждые

3–4 дня при достижении 70–80% монослоя. Клетки снимали раствором трипсин-ЭДТА («Панэко», Россия). Подсчет количества клеток проводили в камере Горяева.

Характеристику специфичности связывания комплекса с рецептором Her-2/неу определяли с помощью прямой радиометрии и планарной сцинтиграфии в пяти экспериментальных исследованиях. Для изучения особенностей накопления исследуемого комплекса клетки аденокарциномы молочной железы человека BT-474 и MCF-7 в количестве 35 000 клеток/мл среды рассеивали в 96-луночный планшет в объеме 200 мкл суспензии на лунку и культивировали в течение ночи, затем среда удалялась, а клетки промывались натрий-фосфатным буфером (PBS). Далее каждую клеточную культуру объемом по 1 мл (3 млн клеток/мл) распределяли по пяти пробиркам и в каждую добавляли по 70 МБк (100 мкл) исследуемого РФП с последующей инкубацией в течение 40 мин при температуре 4 °С. После завершения инкубации пробирки с исследуемыми субстанциями центрифугировали в течение 5 мин при скорости 1000 g, затем удаляли надосадочную жидкость и измеряли радиоактивность осадка. Измерение производилось с использованием гамма-счетчика для исследований *in vitro* («Амплитуда», Россия).

После трехкратной отмывки выполнялась визуальная сцинтиграфическая оценка интенсивности включения РФП в исследуемые группы клеток с использованием гамма-камеры (мультидетекторная гамма-камера E.CAM180 (Siemens, Германия) с последующей обработкой получен-

ных данных с применением пакета специализированных программ Esoft 5.5 (Siemens, Германия).

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с использованием пакета программ Statistica for Windows. Для оценки отличий количественных признаков между группами применялся непараметрический тест Манна – Уитни. Во всех процедурах статистического анализа уровень значимости p принимали равным 0,05. Результаты представлены как $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 представлены результаты связывания молекулы DPAH–DARPin9_29 с технецием-99м в зависимости от количества вводимого восстановителя. Наибольший радиохимический выход при низком содержании примесей невосстановленного и гидролизованного технеция-99м наблюдался при добавлении к смеси состава 100 мкл раствора DPAH–DARPin9_29, 60 мкл раствора цитрата натрия и 50 мкл раствора хлорида олова, он составил более 91%. При добавлении большего количества хлорида олова радиохимический выход снижался из-за увеличения количества образовавшегося коллоида гидролизованного технеция-99м. Дальнейшие исследования *in vitro* выполнялись с соединением, имеющим следующий состав: 100 мкл раствора DPAH–DARPin9_29 с концентрацией 0,5 мг/мл (в фосфатном буфере), 60 мкл раствора цитрата натрия с концентрацией 100 мг/мл, 50 мкл раствора $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ с концентрацией 7 мг/мл и $^{99\text{m}}\text{Tc}$ с активностью 0,5–3,7 ГБк.

Т а б л и ц а 1

Эффективность связывания молекулы DPAH–DARPin9_29 с технецием-99м в зависимости от количества восстановителя, %			
Состав радиофармпрепарата	Выход	Невосстановленный $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (VII)	Гидролизированный $^{99\text{m}}\text{Tc}$
100 мкл DPAH–DARPin9_29 + 20 мкл раствора $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 60 мкл раствора цитрата натрия	79,0	15,8	0,9
100 мкл DPAH–DARPin9_29 + 30 мкл раствора $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 60 мкл раствора цитрата натрия	83,0	10,8	1,2
100 мкл DPAH–DARPin9_29 + 40 мкл раствора $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 60 мкл раствора цитрата натрия	89,7	8,6	2,4
100 мкл DPAH–DARPin9_29 + 50 мкл раствора $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 60 мкл раствора цитрата натрия	91,3	2,0	3,0
100 мкл DPAH–DARPin9_29 + 60 мкл раствора $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 60 мкл раствора цитрата натрия	89,3	0,9	8,9

Основной механизм действия специфических РФП на основе рекомбинантных адресных молекул DARPIn9_29 заключается в их взаимодействии с рецепторами на поверхности опухолевых клеток, что позволяет с высокой чувствительностью и специфичностью выявлять злокачественные новообразования различных локализаций с гиперэкспрессией Her-2/neu. Для изучения специфичности накопления изучаемого препарата на основе рекомбинантных адресных молекул ^{99m}Tc -DPAH-DARPIn9_29 была выбрана клеточная линия аденокарциномы молочной железы человека BT-474, которая характеризуется гиперэкспрессией рецептора Her-2/neu. Доказательством селективного взаимодействия с препаратом является высокая аккумуляция препарата на поверхности исследуемой группы клеток.

При проведении визуальной сцинтиграфической оценки значительно большая интенсивность накопления изучаемого РФП отмечалась в культуре клеток с гиперэкспрессией поверхностного рецептора Her-2/neu (рисунок).

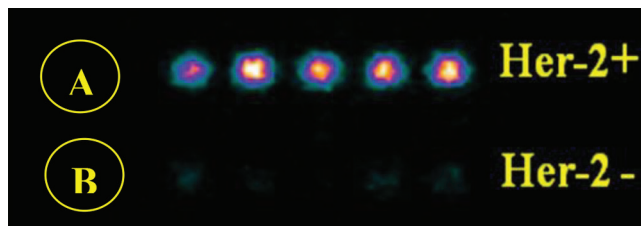


Рисунок. Визуальная сцинтиграфическая оценка накопления радиофармпрепарата ^{99m}Tc -DPAH-DARPIn9_29: А – клетки тканей злокачественных опухолей с гиперэкспрессией Her-2/neu (BT-474, Her-2/neu – позитивная, человеческая аденокарцинома молочной железы); В – клетки тканей злокачественных опухолей без гиперэкспрессии Her-2/neu (MCF-7, Her-2/neu – отрицательная, человеческая аденокарцинома молочной железы)

Fig. Visual scintigraphic evaluation of the accumulation of radiopharmaceutical ^{99m}Tc -DPAH-DARPIn9_29: А – tissue cells of malignant tumors with Her-2/neu overexpression (BT-474, Her-2/neu-positive, human mammary gland adenocarcinoma); В – tissue cells of malignant tumors without overexpression of Her-2/neu (MCF-7, Her-2/neu – negative, human mammary gland adenocarcinoma)

Т а б л и ц а 2

Накопление радиофармацевтического препарата ^{99m}Tc -DPAH-DARPIn9_29 в клеточных линиях BT-474 и MCF-7, $M \pm SD$			
№ эксперимента	MCF-7 (МБк)	BT-474 (МБк)	p
1	$0,098 \pm 0,014$	$0,306 \pm 0,038$	0,043
2	$0,072 \pm 0,021$	$0,4 \pm 10,025$	0,038
3	$0,087 \pm 0,019$	$0,29 \pm 0,042$	0,019
4	$0,069 \pm 0,022$	$0,31 \pm 0,039$	0,025
5	$0,091 \pm 0,015$	$0,40 \pm 20,051$	0,003

При проведении прямой радиометрии также продемонстрировано более высокое накопление РФП в клеточной линии аденокарциномы молочной железы человека BT-474 с гиперэкспрессией Her-2/neu по сравнению с контрольной группой (табл. 2).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в работе изучено новое специфичное соединение на основе рекомбинантных адресных молекул ^{99m}Tc -DPAH-DARPIn9_29, описана процедура его получения, охарактеризованы его специфичность и аффинность к рецептору Her-2/neu. Высокая специфичность и стабильность данного препарата делают его перспективным агентом для диагностики онкологических заболеваний с гиперэкспрессией Her-2/neu.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ И ВКЛАД АВТОРОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи, и сообщают о вкладе авторов. Брагина О.Д. – разработка концепции и дизайна исследования, интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, подготовка текста статьи, окончательное утверждение версии, которая сдается в печать. Ларькина М.С. – разработка концепции и дизайна исследования, интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, подготовка текста статьи. Чернов В.И. – обоснование рукописи, разработка концепции и дизайна исследования, интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, подготовка текста статьи. Юсубов М.С. – разработка концепции и дизайна исследования, интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, подготовка текста статьи. Скуридин В.С. – разработка концепции и дизайна исследования, интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, подготовка текста статьи. Деев С.М. – разработка концепции и дизайна исследования, Зельчан Р.В. – подготовка текста статьи. Булдаков М.А. – подготовка текста статьи. Подрезова Е.В. – интерпретация данных. Белоусов М.В. – интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

ЛИТЕРАТУРА

- Полянский О.А., Лебеденко Е.Н., Деев С.М. ERBB онкогены – мишени моноклональных антител // *Биохимия*. 2012; 3 (77): 289–311.
- Чернов В.И., Брагина О.Д., Синилкин И.Г., Медведева А.А., Зельчан Р.В. Радиоиммунотерапия: современное состояние проблемы // *Вопросы онкологии*. 2016; 62 (1): 24–30.
- Чернов В.И., Брагина О.Д., Синилкин И.Г., Медведева А.А., Зельчан Р.В. Радиоиммунотерапия в лечении злокачественных образований // *Сибирский онкологический журнал*. 2016; 15 (2): 101–106.
- Slamon D.J., Clark G.M., Wong S.G. et al. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the Her-2/neu oncogenes // *Science*. 1987; 235: 177–182. doi: 10.1126/science.3798106.
- Romond E.H., Perez E.A., Bryant J. et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer // *N. Engl. J. Med.* 2005; 353: 1673–1684. doi: 10.1056/NEJMoa052122.
- Verma S., Miles D., Gianni L. et al. Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer // *N. Engl. J. Med.* 2012; 367: 1783–1791. doi: 10.1056/NEJMoa1209124.
- Babyshkina N., Malinovskaya E., Cherdinceva N. et al. Neoadjuvant chemotherapy for different molecular breast cancer subtypes: a retrospective study in Russian population // *Medical Oncology*. 2014; 31 (9): 1–12.
- Чернов В.И., Брагина О.Д., Синилкин И.Г., Медведева А.А., Зельчан Р.В. Радионуклидная тераностика злокачественных образований // *Вестник рентгенологии и радиологии*. 2016; 97 (5): 306–313.
- Zahid M., Khan S., Khan R. et al. Detection of HER2/neu gene amplification by fluorescence in situ hybridization technique // *Pathology*. 2016; 48 (1): 163–170.
- Orlando L., Viale G., Bria E. et al. Discordance in pathology report after central pathology review: Implications for breast cancer adjuvant treatment // *Breast*. 2016; 30: 151–155. doi: 10.1016/j.breast.2016.09.015.
- Telugu R.B., Chowhan A.K., Rukmangadha N. et al. Human epidermal growth factor receptor 2/neu protein expression in meningiomas: An immunohistochemical study // *J. Neurosci Rural Pract.* 2016; 7 (4): 526–531. doi: 10.4103/0976-3147.188640.
- Hanna W.M., Rüschoff J., Bilous M. et al. HER2 in situ hybridization in breast cancer: clinical implications of polysomy 17 and genetic heterogeneity // *Mod. Pathol.* 2013; 27: 4–18. doi: 10.1038/modpathol.2013.103.
- Kurosumi S., Padilla M., Kurosumi M. et al. HER2 intratumoral heterogeneity analyses by concurrent HER2 gene and protein assessment for the prognosis of HER2 negative invasive breast cancer patients // *Breast Cancer Res Treat.* 2016; 158: 99–111. doi: 10.1007/s10549-016-3856-2.
- Seol H., Lee H.J., Choi Y. et al. Intratumoral heterogeneity of HER2 gene amplification in breast cancer: its clinicopathological significance // *Modern Pathology*. 2012; 25: 938–948. doi: 10.1038/modpathol.2012.36.
- Riccardona G., Decristoforo C. Peptide targeted imaging of cancer // *Cancer Biother. Radiopharm.* 2003; 18: 675–687. doi:10.1089/108497803770418238.
- Engfeldt T., Orlova A., Tran T. et al. Imaging of HER2-expressing tumours using a synthetic Affibody molecule containing the 99mTc-chelating mercaptoacetyl-glycyl-glycyl-glycyl (MAG3) sequence // *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2007; 34 (5): 722–733. doi: 10.1007/s00259-006-0266-4.
- Stumpp M. T., Binz H.K., Amstutz P. DARPins: A new generation of protein therapeutics // *Drug Discovery Today*. 2008; 13 (15): 695–701.
- Tamaskovic R., Simon M., Stefan N. et al. Designed ankyrin repeat proteins (DARPins) from research to therapy // *Methods Enzymol.* 2012; 503: 101–134. doi: 10.1016/j.drudis.2008.04.013.
- Boersma Y.L., Pluckthun A. DARPins and other repeat protein scaffolds: advances in engineering and applications // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2011; 22: 849–57. doi: 10.1016/j.copbio.2011.06.004.
- Binz H.K., Stumpp M.T., Forrer P., Amstutz P., Pluckthun A. Designing repeat proteins: well-expressed, soluble and stable proteins from combinatorial libraries of consensus ankyrin repeat proteins // *J. Mol. Biol.* 2003; 332: 489–503.
- Skuridin V.S., Stasyuk E.S., Nesterov E.A., Sadkin V.L., Rogov A.S. Adsorption of 99mTc on Aluminum Oxide // *Radiochemistry*. 2011; 5 (53): 448–451.
- Stasyuk E.S., Nesterov E.A., Skuridin V.S. et al. A procedure for sorbent pretreatment for the production of high-activity ^{99m}Mo/^{99m}Tc generators based on enriched ⁹⁸Mo // *Radiochemistry*. 2012; 54 (4): 391–394.
- Gabriel M., Decristoforo C., Donnemiller E. et al. An inpatient comparison of 99mTc-EDDA/HYNICTOC with 111In-DTPA-octreotide for diagnosis of somatostatin receptorexpressing tumors // *J. Nucl. Med.* 2003; 44: 708–716.
- Yusubov M.S., Svitich D.Y., Larkina M.S. et al. Applications of iodonium salts and iodonium ylides as precursors for nucleophilic fluorination in Positron Emission Tomography // *ARKIVOC*. 2013; (i): 364–395.
- Kulibaba E.V., Larkina M.S. New syntheses of bis(2-pyridylmethyl)amino acid // *IX international conference of young scientists on chemistry «Mendeleev 2015»*. Book of abstracts. Saint Petersburg. 7–10 of April 2015; 250.
- Skuridin V.S., Stasyuk E.S., Rogov A.S. et al. Modified DTPA molecule-based nanocolloid radiopharma-

ceuticals // *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2015; 303 (3): 1961–1965.

27. Юсубов М.С., Жданкин В.В., Ларькина М.С., Дрыгу-

нова Л.А. Способ получения ω-иодалифатических карбоновых кислот и их эфиров. Патент № 2494087. 2013; Оpubл. 27.09.2013. Бюл. № 27.

Поступила в редакцию 22.12.2016

Утверждена к печати 30.06.2017

Брагина Ольга Дмитриевна, канд. мед. наук, мл. науч. сотрудник, отделение радионуклидной диагностики, НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, г. Томск.

Ларькина Мария Сергеевна, канд. фарм. наук, доцент, кафедра фармацевтического анализа, СибГМУ, г. Томск.

Стасюк Елена Сергеевна, канд. техн. наук, науч. сотрудник, лаборатория № 31, НИ ТПУ, г. Томск.

Чернов Владимир Иванович, д-р мед. наук, профессор, зам. директора по научной работе и инновационной деятельности, зав. отделением радионуклидной диагностики, НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, г. Томск.

Юсубов Мехман Сулейман-оглы, д-р хим. наук, профессор, зав. кафедрой технологии органических веществ и полимерных материалов, НИ ТПУ, г. Томск.

Скуридин Виктор Сергеевич, д-р техн. наук, профессор, зав. лабораторией № 31, НИ ТПУ, г. Томск.

Деев Сергей Михайлович, канд. хим. наук, д-р биол. наук, профессор, член-корр. РАН, зав. лабораторией молекулярной иммунологии, ИБХ им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Москва; эксперт лаборатории № 31, НИ ТПУ, г. Томск.

Зельчан Роман Владимирович, канд. мед. наук, врач-радиолог, отделение радионуклидной диагностики, НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, г. Томск.

Булдаков Михаил Александрович, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория иммунологии, НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН; ст. науч. сотрудник, лаборатория трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, НИ ТГУ, г. Томск.

Подрезова Екатерина Владимировна, инженер, кафедра технологии органических веществ и полимерных материалов, НИ ТПУ, г. Томск.

Белоусов Михаил Валерьевич, д-р фарм. наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтического анализа, СибГМУ, г. Томск.

(✉) Брагина Ольга Дмитриевна, e-mail: rungis@mail.ru.

УДК 576.3.086.8:544.582.3

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-25–33

For citation: Bragina O.D., Larkina M.S., Stasyuk E.S., Chernov V.I., Yusubov M.S., Skuridin V.S., Deyev S.M., Zelchan R.V., Buldakov M.A., Podrezova E.V., Belousov M.V. Development of highly specific radiochemical compounds based on ^{99m}Tc-labeled recombinant molecules for targeted imaging of cells overexpressing Her-2/neu. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 25–33

The development of a highly specific radiochemical compound based on labeled ^{99m}Tc recombinant molecules for targeted imaging of cells with the overexpression of Her-2 / neu

Bragina O.D.¹, Larkina M.S.³, Stasyuk E.S.², Chernov V.I.^{1,2}, Yusubov M.S.^{2,3}, Skuridin V.S.², Deyev S.M.⁵, Zelchan R.V.¹, Buldakov M.A.^{1,4}, Podrezova E.V.², Belousov M.V.³

¹ Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Science (RAS) 5, Kooperativnii Str., Tomsk, 634009, Russian Federation

² National Research Tomsk Polytechnic University (NR TPU) 30, Lenina Str., Tomsk, 634050, Russian Federation

³ Siberian State Medical University 2, Moskow Tract, Tomsk, 634050, Russian Federation

⁴ National Research Tomsk State University (NR TSU) 36, Lenina Str., Tomsk, 634050, Russian Federation

⁵ Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences 16/10, Miklukbo-Maklaya Str., Moscow, 117997, Russian Federation

ABSTRACT

Currently, there is a urgent need to search for new diagnostic methods that allow us to reveal malignant tumors with the overexpression of Her-2/neu with high accuracy. In recent years radioisotope methods have been actively developing to identify specific tumor targets, with antibodies being the “targeting” module.

The purpose of the study. Creation of a chemically stable radiochemical compound for the imaging of cells with the overexpression of Her-2/neu.

Materials and methods. The study was conducted using two human adenocarcinoma cell lines with expression (BT-474) and without expression (MCF-7) Her-2/neu. The specificity of the binding of the test complex with Her-2/neu receptor was determined by direct radiometric and planar scintigraphy. To evaluate the differences in quantitative characteristics between the groups a non-parametric Mann – Whitney test was used.

Results. The yield of the labeled complex was more than 91% and the radiochemical frequency was more than 94%. When performing a visual scintigraphic evaluation, a much higher accumulation rate of the studied radiopharmaceutical preparation (RFP) was observed in the culture of cells with overexpression of the surface Her-2/neu receptor. Direct radiometric results also demonstrated a higher accumulation of RFPs in the human BT-474 mammary adenocarcinoma cell line with Her-2/neu overexpression in comparison with the control group.

Conclusion. Preclinical studies demonstrated high stability of the test compound, as well as its accumulation in the group of cells with Her-2/neu overexpression.

Key words: DARPIn, technetium-99m, chelating agent, Her-2/neu, molecular imaging, breast cancer.

REFERENCES

- Polanovski O. L., Lebedenko E. N., Deyev S. M. ERBB oncogeni – misheni monoclonalnikh antitel [ERBB – oncogenes as targets for monoclonal antibodies] // *Biokhimiya – Biochemistry*. 2012; 3 (77): 289–311 (in Russian).
- Chernov V.I., Bragina O.D., Sinilkin I.G., et al. Radioimmunoterapiya: sovremennoe sostoyanie problemi [Radioimmunotherapy: current state of the problem] // *Voprosi Oncologii – Questions of Oncology*. 2016; 62 (1): 24–30 (in Russian).
- Chernov V.I., Bragina O.D., Sinilkin I.G. et al. Radioimmunoterapiya v lechenii zlokachestvennix obrazovaniy [Radioimmunotherapy in the treatment of malignancies] // *Sibirskii Oncologicheskii Jurnal – Siber. J. Oncol*. 2016; 15 (2): 101–106 (in Russian).
- Slamon D.J., Clark G.M., Wong S.G. et al. Human breast cancer: correlation of relapse an survival with amplification of the Her-2/neu oncogenes // *Science*. 1987; 235: 177–182. doi: 10.1126/science.3798106.
- Romond E.H., Perez E.A., Bryant J. et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer // *N. Engl. J. Med*. 2005; 353: 1673–1684. doi: 10.1056/NEJMoa052122.
- Verma S., Miles D., Gianni L. et al. Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer // *N. Engl. J. Med*. 2012; 367: 1783–1791. doi: 10.1056/NEJMoa1209124.
- Babysheva N., Malinovskaya E., Cherdinceva N. et al. Neoadjuvant chemotherapy for different molecular breast cancer subtypes: a retrospective study in Russian population // *Medical Oncology*. 2014; 31 (9): 1–12.
- Chernov V.I., Bragina O.D., Sinilkin I.G. et al. Radionuclidnaya teranostica zlokachestvennix obrazovaniy [Radionuclide teranostic of malignancies] // *Vestnik Rentgenologii i Radiologii – Vestnik Rentgenologii and Radiologii*. 2016; 97 (5): 306–313 (in Russian).
- Zahid M., Khan S., Khan R. et al. Detection of HER2/neu gene amplification by fluorescence in situ hybridization technique // *Pathology*. 2016; 48 (1): 163–170.
- Orlando L., Viale G., Bria E. et al. Discordance in pathology report after central pathology review: Implications for breast cancer adjuvant treatment // *Breast*. 2016; 30: 151–155. doi: 10.1016/j.breast.2016.09.015.
- Telugu R.B., Chowhan A.K., Rukmangadha N. et al. Human epidermal growth factor receptor 2/neu protein expression in meningiomas: An immunohistochemical study // *J. Neurosci Rural Pract*. 2016; 7 (4): 526–531. doi: 10.4103/0976-3147.188640.
- Hanna W.M., Rüschoff J., Bilous M. et al. HER2 in situ hybridization in breast cancer: clinical implications of polysomy 17 and genetic heterogeneity // *Mod. Pathol*. 2013; 27: 4–18. doi: 10.1038/modpathol.2013.103.
- Kurozumi S., Padilla M., Kurozumi M. et al. HER2 intratumoral heterogeneity analyses by concurrent HER2 gene and protein assessment for the prognosis of HER2 negative invasive breast cancer patients // *Breast Cancer Res Treat*. 2016; 158: 99–111. doi: 10.1007/s10549-016-3856-2.
- Seol H., Lee H.J., Choi Y. et al. Intratumoral heterogeneity of HER2 gene amplification in breast cancer: its clinicopathological significance // *Modern Pathology*. 2012; 25: 938–948. doi: 10.1038/modpathol.2012.36.

15. Riccarbona G., Decristoforo C. Peptide targeted imaging of cancer // *Cancer Biother. Radiopharm.* 2003; 18: 675–687. doi:10.1089/108497803770418238.
16. Engfeldt T., Orlova A., Tran T. et al. Imaging of HER2-expressing tumours using a synthetic Affibody molecule containing the ^{99m}Tc -chelating mercaptoacetyl-glycyl-glycyl-glycyl (MAG3) sequence // *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging.* 2007; 34 (5). 722–733. doi: 10.1007/s00259-006-0266-4.
17. Stumpp M. T., Binz H.K., Amstutz P. DARPins: A new generation of protein therapeutics // *Drug Discovery Today.* 2008; 13 (15): 695–701.
18. Tamaskovic R., Simon M., Stefan N. et al. Designed ankyrin repeat proteins (DARPins) from research to therapy // *Methods Enzymol.* 2012; 503: 101–134. doi: 10.1016/j.drudis.2008.04.013.
19. Boersma Y.L., Pluckthun A. DARPins and other repeat protein scaffolds: advances in engineering and applications // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2011; 22: 849–57. doi: 10.1016/j.copbio.2011.06.004.
20. Binz H.K., Stumpp M.T., Forrer P., Amstutz P., Pluckthun A. Designing repeat proteins: well-expressed, soluble and stable proteins from combinatorial libraries of consensus ankyrin repeat proteins // *J. Mol. Biol.* 2003; 332: 489–503.
21. Skuridin V.S., Stasyuk E.S., Nesterov E.A., Sadkin V.L., Rogov A.S. Adsorption of ^{99m}Tc on Aluminum Oxide // *Radiochemistry.* 2011; 5 (53): 448–451.
22. Stasyuk E.S., Nesterov E.A., Skuridin V.S. et al. A procedure for sorbent pretreatment for the production of high-activity $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ generators based on enriched ^{98}Mo // *Radiochemistry.* 2012; 54 (4): 391–394.
23. Gabriel M., Decristoforo C., Donnemiller E. et al. An inpatient comparison of ^{99m}Tc -EDDA/HYNICTOC with ^{111}In -DTPA-octreotide for diagnosis of somatostatin receptorexpressing tumors // *J. Nucl. Med.* 2003; 44: 708–716.
24. Yusubov M.S., Svitich D.Y., Larkina M.S. et al. Applications of iodonium salts and iodonium ylides as precursors for nucleophilic fluorination in Positron Emission Tomography // *ARKIVOC.* 2013; (i): 364–395.
25. Kulibaba E.V., Larkina M.S. New syntheses of bis(2-pyridylmethyl)amino acid // *IX international conference of young scientists on chemistry «Mendeleev 2015»*. Book of abstracts. Saint Petersburg. 7–10 of April 2015; 250.
26. Skuridin V.S., Stasyuk E.S., Rogov A.S. et al. Modified DTPA molecule-based nanocolloid radiopharmaceuticals // *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry.* 2015; 303 (3): 1961–1965.
27. Yusubov M.S., Jdankin V.V., Larkina M.S. et al. Sposob polucheniya ω -iodalifalicheskix karbonovix kislot I ikh efirov [Method of producing omega-iodo-aliphatic carboxylic acids and esters thereof]. Patent № 2494087. 2013; 27.09.2013 (in Russian).

Received December 22.2016

Accepted June 30.2017

Bragina Olga D., PhD, Junior Researcher, Nuclear Medicine Department, Cancer Research Institute, Tomsk NRMC, RAS, Tomsk, Russian Federation.

Larkina Maria S., PhD, Associate Professor, Pharmaceutical Analysis Department, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Stasyuk Elena S., PhD, Researcher, Laboratory № 31, NR TPU, Tomsk, Russian Federation.

Chernov Vladimir I., DM, Professor, Head of the Nuclear Medicine Department, Cancer Research Institute, Tomsk NRMC, RAS, Tomsk, Russian Federation.

Yusubov Mekhman S., DChSc, Professor, Head of the Technology of Organic Substances and Polymer Materials Department, NR TPU, Tomsk, Russian Federation.

Skuridin Victor S., DTSc, Professor, Head of the Laboratory № 31, NR TPU, Tomsk, Russian Federation.

Deyev Sergei M., DBSc, Professor, Head of Laboratory of Molecular Immunology, Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry Russian Academy of Sciences, Moscow; Expert of the Laboratory № 31, NR TPU, Tomsk, Russian Federation.

Zel'chan Roman V., PhD, Radiologist of Nuclear Medicine Department, Cancer Research Institute, Tomsk NRMC, RAS, Tomsk, Russian Federation.

Buldaikov Michael A., PhD, Senior Researcher, Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, NR TSU; Senior Researcher, Laboratory of Immunology, Cancer Research Institute, Tomsk NRMC, RAS, Tomsk, Russian Federation.

Podrezova Ekaterina V., Engineer, Technology of Organic Substances and Polymer Materials Department, NR TPU, Tomsk, Russian Federation.

(✉) **Bragina Olga D.**, e-mail: rungis@mail.ru.

УДК 616.127-001.83--08:615.322:582.782:547.972

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-34-42

Для цитирования: Заднипрный И.В., Третьякова О.С., Кубышкин А.В., Сатаева Т.П. Эффективность применения концентрата полифенолов винограда «Фэнокор» при гипоксическом повреждении миокарда. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 34–42

Эффективность применения концентрата полифенолов винограда «Фэнокор» при гипоксическом повреждении миокарда

Заднипрный И.В., Третьякова О.С., Кубышкин А.В., Сатаева Т.П.

Медицинская академия имени С.И. Георгиевского, Крымский федеральный университет (КФУ) им. В.И. Вернадского Россия, 295006, Республика Крым, г. Симферополь, бул. Ленина, 5/7

РЕЗЮМЕ

Введение. Полифенолы винограда и их благотворное влияние на состояние здоровья человека известны давно и привлекают все больший интерес исследователей.

Цель исследования — изучение кардиопротекторных свойств концентрата полифенолов винограда «Фэнокор» при гистотоксической гипоксии в условиях эксперимента.

Материал и методы. Исследование проводилось на половозрелых самцах крыс линии Wistar ($n = 21$), разделенных на три серии. Контрольную (первую) серию составили пять интактных животных. Крысам II серии ($n = 8$) на протяжении 7 сут внутривенно через зонд вводился водный раствор хлорида кобальта (CoCl_2) в дозе 60 мг/кг. Животным III серии ($n = 8$) после введения CoCl_2 внутривенно через зонд вводился водный раствор «Фэнокора» в дозе 2,5 мл/кг вместе с 0,05 мл воды. Исследование миокарда проводилось с использованием световой и электронной микроскопии. В ходе проведения экспериментов исследовали следующие биохимические показатели: содержание малонового диальдегида (МДА), окислительную модификацию белков (ОМБ).

Результаты. Результатом влияния хлорида кобальта на сердце животных в эксперименте является развитие кардиомиопатии, что обуславливает необходимость проведения своевременной кардиопротекции. Структура миокарда, наблюдаемая у самцов крыс в III серии после кобальтовой интоксикации на фоне введения концентрата полифенолов винограда, в целом отражала тенденцию к минимализации объемов повреждения, проявляющуюся в виде нормализации структур клеток и волокон мышечной ткани. Применение «Фэнокора», продемонстрировавшего антиоксидантные и цитопротекторные свойства, способствовало сохранности структуры миокарда крыс в условиях гистотоксической гипоксии.

Ключевые слова: полифенолы винограда, миокард, гипоксия, кобальт, крысы, эксперимент.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы интенсивно изучаются вопросы повышения резистентности организма к состояниям гипоксии и ишемии, которые развиваются в результате воздействия на организм различных экстремальных факторов, в той или иной мере инициирующих развитие многих заболеваний, в том числе кардиологических [1, 2].

Одной из наименее изученных форм гипоксии, по нашему мнению, является тканевая или гистотоксическая гипоксия, которая развивается в связи с неспособностью клеток утилизировать кислород в результате инактивации ферментов тканевого дыхания. Промышленный экзотоксикант хлорид кобальта (CoCl_2) в токсических дозах способен более прочно связываться с гемом, чем железо, и оказывает действие, аналогичное гистотоксической гипоксии, что позволяет применять его для

✉ Сатаева Татьяна Павловна, e-mail: tanzcool@online.ua.

моделирования гипоксических состояний в эксперименте [3]. Кроме того, кобальт, проникая в клеточные структуры, непосредственно приводит к активации процессов перекисного окисления липидов, что усугубляет возникшую гипоксию [4].

Важное значение в лечении и профилактике негативных последствий активации свободно-радикальных процессов при гистотоксической гипоксии отводится антистрессорной терапии, перспективным направлением которой представляется использование различных природных и синтетических антиоксидантов [5]. Несмотря на широкое применение антиоксидантов для защиты организма от повреждающего действия стресса, их влияние на антиоксидантно-прооксидантный статус организма в условиях гистотоксического стресса изучено недостаточно. Поэтому целесообразным является изучение влияния различных субстанций, которые могут обладать антиоксидантными свойствами, на развитие гипоксической стресс-реакции.

К сожалению, большинство синтезированных веществ являются ксенобиотиками и сами могут активировать процессы образования свободных радикалов. Следовательно, внимание исследователей привлекают, прежде всего, препараты природного, в частности растительного происхождения [6]. Фенольные соединения представляют собой одни из наиболее распространенных вторичных метаболитов высших растений. Функции их чрезвычайно разнообразны и связаны с процессами фотосинтеза, дыхания, защиты и устойчивости ко многим стрессовым воздействиям. Им отводится важная роль в системе антиоксидантной защиты клеток, и именно этот аспект в последние годы привлекает большое внимание исследователей [6, 7].

Одними из новых природных лечебных препаратов, которые в последнее время начали применяться в здравницах Южного берега Крыма, являются полифенолы крымского винограда. Они не синтезируются в организме человека и поступают в него исключительно с растительной пищей. Группа высокомолекулярных полифенолов выступает в роли активных антиоксидантов, которые способны гасить цепные свободнорадикальные реакции, снижать активность окислительных ферментов и уменьшать концентрацию пероксидных липидов в плазме крови [8].

В настоящее время на фоне широкой гаммы современных фармакотерапевтических средств и разнообразных методов немедикаментозного лечения виноград и продукты его переработки не только сохраняют свою ценность, но и позво-

ляют получить важные и уникальные эффекты. Одним из таких наиболее ярких и убедительных проявлений может служить всемирно известный «французский парадокс» – значительно меньшая заболеваемость стенокардией среди жителей некоторых областей Франции, регулярно и умеренно употребляющих красные вина, по сравнению с населением других развитых стран. Установлена также достоверная обратная корреляционная зависимость между смертностью от инфаркта миокарда и умеренным потреблением красного сухого вина. Эти факты неопровержимо свидетельствуют о мощных лечебно-профилактических эффектах антоцианов винограда, входящих в состав традиционных для Франции сухих красных вин [7, 9].

Хотя ягоды крымского винограда содержат большое количество полифенолов, биологическая доступность нативных полифенолов крайне низка. Лишь в незначительных количествах нативные полифенолы ягод усваиваются организмом человека при употреблении винограда в пищу. В качестве компонентов технологий санаторно-курортного лечения полифенолы могут применяться в составе виноградных вин и пищевых концентратов, где они содержатся в биодоступной форме [8, 10]. Виноградные вина еще полностью не изучены с точки зрения их эффективности при санаторно-курортном лечении кардиопатологии, что в значительной степени обусловлено негативными эффектами сравнительно больших доз алкоголя, входящего в их состав.

Виноград «Каберне-Совиньон» используется в качестве компонента санаторно-курортного лечения в здравницах южного берега Крыма в форме безалкогольного пищевого концентрата «Эноант», где концентрация общих полифенолов достигает 18–20 г/л. Он разработан во Всероссийском научно-исследовательском институте винограда и вина «Магарач». С 2000 г. начато изучение эффектов применения «Эноанта» при санаторно-курортном лечении больных с патологией сердца и дыхательной системы [10]. По результатам предварительных исследований известно, что антиоксидантная активность суммарных полифенолов винограда в концентрате «Эноант» более чем в 3 000 раз превосходит антиоксидантную активность плазмы крови [7, 11].

Представляет интерес эффективность применения и других представителей группы пищевых концентратов, в частности новой разработки «Фэнокор», в составе которого присутствует весь спектр полифенолов винограда, существующих в красном вине, в то же время не содержащего алкоголя. Полифенолы винограда представлены в

нем преимущественно антоцианами, лейкоантоцианами, катехинами. Общее содержание суммарных полифенолов винограда в концентрате составляет 20–28 г/дм³, тогда как в красном вине лишь 0,2 г/дм³. Флавоноидные полифенолы в составе «Фэнокора» представлены преимущественно антоцианами в форме гликозидов дельфинидина, мальвидина, цианидина, петунидина, пеонидина, а также кверцетином и его гликозидом, (+)-Б-катехином, (-)-эпикатехином [11].

Целью данного исследования явилось изучение кардиопротекторных свойств пищевого концентрата полифенолов винограда «Фэнокор» при гистотоксической гипоксии в условиях эксперимента.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на половозрелых самцах крыс линии Wistar ($n = 21$) в возрасте 10–12 мес массой 250–280 г, разделенных на три опытные серии. В I (контрольной) серии интактным животным ($n = 5$) внутрижелудочно через зонд вводился изотонический раствора натрия хлорида объемом 1,5 мл. Крысам II ($n = 8$) и III ($n = 8$) серий один раз в сутки на протяжении 7 сут внутрижелудочно через зонд вводился водный раствор CoCl_2 в среднетоксической дозе 60 мг/кг, растворенный в 1,5 мл дистиллированной воды [12]. Животным III серии после введения хлорида кобальта внутрижелудочно через зонд вводился водный раствор «Фэнокора» (ООО «РЕССФУД», г. Ялта) в дозе 2,5 мл/кг, эквивалентной содержанию 87,5 мг полифенольных соединений, вместе с 0,5 мл воды [11].

Животные содержались в виварии, уход за ними осуществлялся в соответствии с нормами и правилами обращения с лабораторными животными (Западнюк И.П., 1983). Крысы выводились из эксперимента путем декапитации под наркозом (эфир с хлороформом) в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ от 19.06.2003 №267).

После извлечения сердце останавливалось в диастолу путем погружения органа в 0,9%-й раствор KCl. Парафиновые срезы толщиной 5–7 мкм, сделанные с помощью ротормного микротомы, окрашивались гематоксилином и эозином по стандартной методике [13]. Для выявления соединительнотканых элементов проводилось окрашивание патогистологических препаратов по Маллори [13]. Полученные микропрепараты исследовались с помощью микроскопа Olympus

SX-31 (Япония). Морфометрические измерения производили при увеличении 400 с помощью лицензионной программы J. Image.

Для электронно-микроскопического исследования был использован миокард левого желудочка пяти экспериментальных животных из II и III серий. Миокард подвергали префиксации в течение 2 ч в 2,5%-м растворе глутаральдегида на 0,1 М фосфатном буфере с pH 7,2–7,4, а затем фиксировали в 1%-м растворе тетраоксида осмия на том же фосфатном буфере при температуре 0–4 °C в течение 1 ч. Для обеспечения прицельного электронно-микроскопического анализа серийные полутонкие срезы толщиной 1–2 мкм изготавливались из всех блоков с последующим окрашиванием 1%-м раствором метиленового синего. После идентификации необходимых объектов блоки заготавливали и с помощью ультрамикротомы УМТП-7 изготавливали ультратонкие срезы. После контрастирования срезов в 2,5%-м растворе уранилацетата и 0,3%-м растворе цитрата свинца по E.S. Reynolds просмотр срезов осуществлялся в электронном микроскопе Selmi-125 (Украина) при ускоряющем напряжении 125 kV [14].

В ходе проведения экспериментов исследовали следующие биохимические показатели:

1. Содержание малонового диальдегида (МДА) как вторичного продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) определяли при помощи диагностических наборов ТБК-Агат (Россия). Метод определения вторичных продуктов перекисного окисления липидов основан на реакции МДА с тиобарбитуровой кислотой. Оптическую плотность измеряли при 535 и 570 нм.

Расчет ТБК-активных продуктов производили по формуле:

$$C = \frac{D_{535} - D_{570}}{0,156} \cdot 16,$$

где C – оптическая плотность; D_{535} – длина волны (535 нм); D_{570} – длина волны (570 нм). Содержание ТБК-активных продуктов выражали в мкмоль/л.

2. С целью изучения процессов окислительной модификации мембранных белков (ОМБ) были проведены исследования по определению карбонильных соединений, образующихся при модификации белков в состоянии окислительного стресса, вызванного воздействием нитрита натрия. Изучение спонтанной окислительной модификации белков проводилось по методу Mihara и R.L. Levine в модификации Е.Е. Дубининой [15]. Спектрофотометрию проводили при длине волны 270, 274 и 363 нм. Результаты измерения пред-

ставлены в единицах оптической плотности, усл. ед. Изучение биохимических показателей проводили на спектрофотометре СФ-2000 (Россия). Все измерения и исследования производили с использованием средств измерительной техники, прошедших метрологическую поверку, и вспомогательного оборудования, прошедшего аттестацию на базе отдела морфологии с электронной микроскопией Центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинской академии имени С.И. Георгиевского.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью лицензионного программного обеспечения Microsoft Office Excel-2007 и Statistica 10.0. При анализе результатов гистоморфометрических методов исследования рассчитывали среднюю арифметическую для всей группы, среднее квадратическое отклонение, ошибку средней, коэффициент вариации, отклонение величины в эксперименте от величины в контроле в процентах. Полученные количественные данные морфометрии (для каждого животного изучено не менее 100 кардиомиоцитов в 10–15 полях зрения) подвергали предварительному анализу на соответствие распределения признаков нормальному закону распределения с использованием критерия Пирсона χ^2 и Колмогорова – Смирнова. Проверка однородности дисперсий в сравниваемых группах проводилась с использованием F-критерия, согласно полученным значениям которого всю группу дисперсий считали принадлежащей к единой совокупности. Статистически значимые различия в сравниваемых группах определяли на основании t – критерия Стьюдента. Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M – выборочное среднее, m – ошибка среднего, n – выборка.

Количественные данные биохимического исследования, не соответствующие нормальному закону, были представлены в виде медианы (Me) и межквартильного размаха (LQ ; UQ). Для межгруппового сравнения показателей использовались непараметрические методы статистического анализа с расчетом U-критерия Манна – Уитни. Различия считали статистически значимыми при достижении уровня значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные в ходе исследования данные свидетельствуют о том, что введение хлорида кобальта оказывает выраженное патологическое воздействие на миокард половозрелых самцов крыс II серии. Так, при обзорном окрашивании гематоксилином и эозином выявляются признаки

гидропической дистрофии, явления геморрагий (рис. 1, а). Число и распространенность повреждений в разных отделах миокарда чрезвычайно варьировало. Чаще всего они встречались в левом желудочке и межжелудочковой перегородке, реже в стенке правого желудочка, еще реже в предсердиях. Повреждения преимущественно носили характер мелкоочаговых, нередко рассеянных и множественных. Окрашивание по Маллори выявило избыточное количество коллагеновых волокон в интерстиции, что, по-видимому, дополнительно затрудняло транспорт субстратов и кислорода из кровеносного русла к рабочим клеткам в условиях гипоксии (рис. 1, б). Помимо этого повсеместно выявлялись признаки нарушения гемодинамики, неравномерного капиллярного и венозного полнокровия, зауставания и спазма ряда сосудов гомоциркуляторного русла в виде периваскулярного отека.

При проведении электронной микроскопии сократительного миокарда во II серии основные морфологические признаки кобальтового повреждения миокарда у крыс были представлены в виде отека, а в ряде случаев – деструкции сократительных кардиомиоцитов, лизиса миофибрилл, формирования ригорных комплексов. Отмечены митохондрии с повреждением крист разной степени, а также частично или полностью разрушенные клеточные органеллы. Наблюдавшиеся участки повреждения сарколеммы явились причиной развития внутриклеточного отека с последующей деструкцией и других органелл. Подобные патологические изменения также наблюдались в эндотелиоцитах. Значительные повреждения оболочки клетки, вероятно, были вызваны развитием интерстициального отека (рис. 2, а).

При окраске гематоксилином и эозином с последующей морфометрией во II серии без применения протектора по сравнению с I серией отмечалось достоверное уменьшение длины и площади кардиомиоцитов соответственно на 20,74 и 55,63% ($p \leq 0,05$), что свидетельствовало, по-видимому, об их гипоксическом, а в некоторых случаях и ишемическом повреждении (табл. 1).

Исследование продуктов ПОЛ выявило увеличение уровня МДА в сыворотке крови при гистотоксической гипоксии в 4,18 раза, карбонильных соединений в 3,87 раза, что свидетельствует о резком усилении активности процессов ПОЛ и ОМБ, вызванного повышенным образованием гидроксильных радикалов и ведущего к необратимым структурным изменениям клеточных и внутриклеточных мембран (табл. 2).

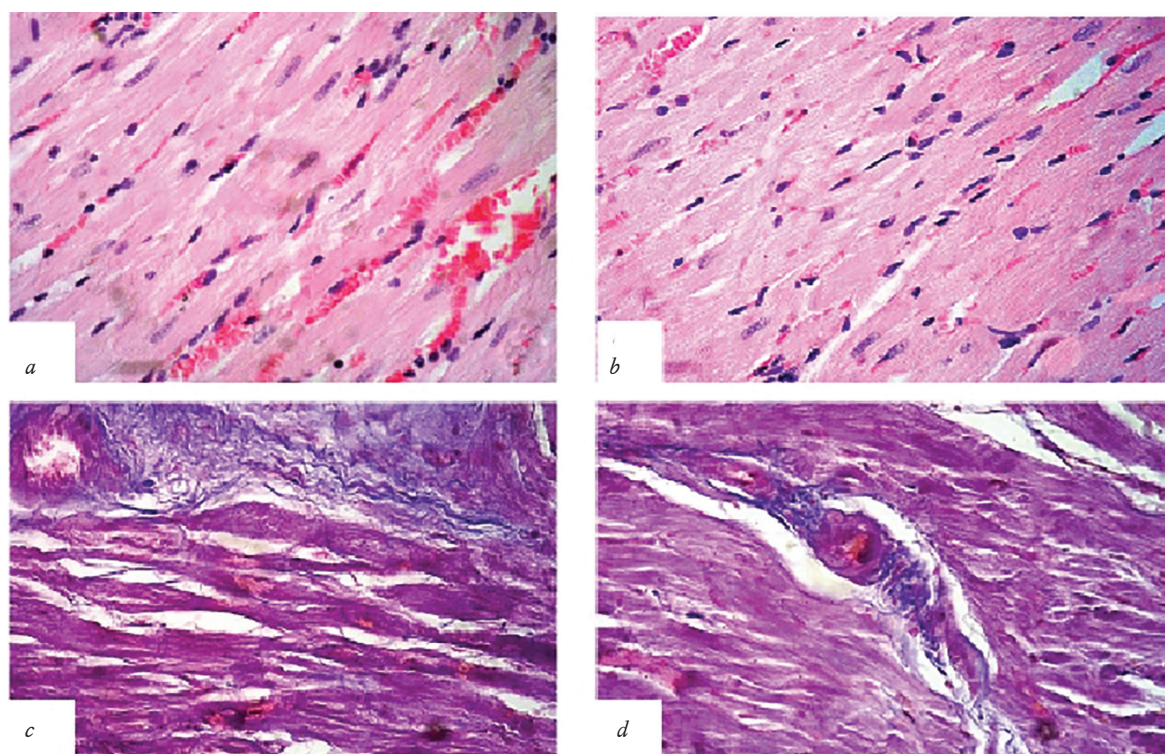


Рис. 1. Морфологические изменения миокарда самцов крыс в условиях гистотоксической гипоксии (световая микроскопия): *a* – признаки отека миокарда, гидропической дистрофии, наличие диапедезных кровоизлияний и явлений сладжа. Окрашивание гематоксилином-эозином. Ув. $\times 400$; *b* – признаки отека миокарда с достаточно четким окрашиванием ядер кардиомиоцитов. Окрашивание гематоксилином-эозином. Ув. $\times 400$; *c* – увеличение количества коллагеновых волокон в периваскулярном пространстве. Окрашивание по Маллори. Ув. $\times 400$; *d* – умеренное количество коллагеновых волокон в периваскулярном пространстве. Окрашивание по Маллори. Ув. $\times 400$

Fig. 1. Morphological changes in the myocardium of male rats under conditions of histotoxic hypoxia (light microscopy): *a* – signs of myocardial edema, hydropic dystrophy, the presence of diapedesis hemorrhages and the phenomena of sludge. Staining with hematoxylin-eosin. In. $\times 400$; *b* – signs of myocardial edema with a fairly clear staining of cardiomyocyte nuclei. Staining with hematoxylin-eosin. In. $\times 400$; *c* – increase in the number of collagen fibers in the perivascular space. Staining by Mallory. In. $\times 400$; *d* – a moderate amount of collagen fibers in the perivascular space. Staining by Mallory. In. $\times 400$

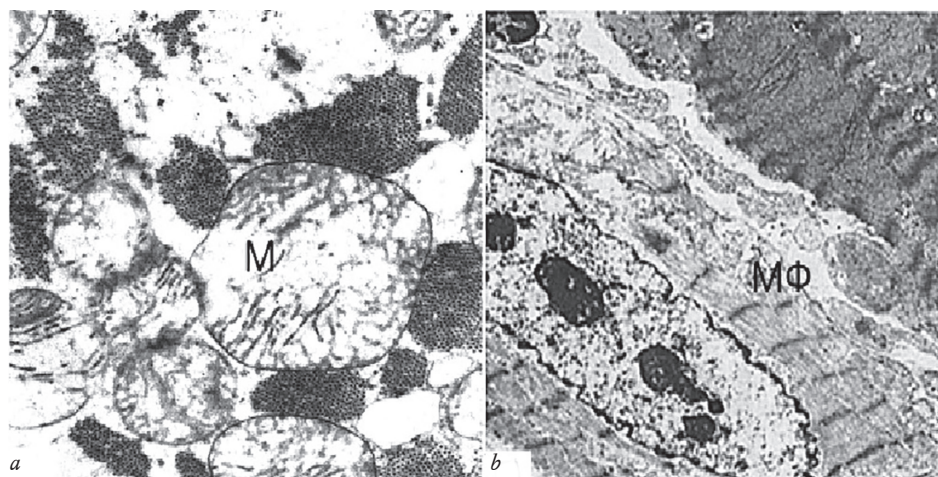


Рис. 2. Морфологические изменения миокарда самцов крыс в условиях гистотоксической гипоксии (электронная микроскопия): *a* – отек саркоплазмы, расширение цистерн саркоплазматической сети, деструкция крист митохондрий (М). Ув. $\times 19\,000$; *b* – просветление нуклеоплазмы ядра, сохранение структуры миофибрилл (МФ), ригорные комплексы в соседнем кардиомиоците. Ув. $\times 15\,000$

Fig. 2. Morphological changes in the myocardium of male rats under conditions of histotoxic hypoxia (electron microscopy): *a* – sarcoplasm edema, expansion of the sarcoplasmic network, destruction of the mitochondrial cristae (M). In. $\times 19\,000$; *b* – clarification of the nucleoplasm of the nucleus, preservation of the structure of myofibrils (МФ), rigor complexes in the neighboring cardiomyocyte. In. $\times 15\,000$

Т а б л и ц а 1

Морфометрические показатели миокарда самцов крыс, $M \pm m$			
Показатель	I серия Контроль (норма) $n = 5$	II серия Введение CoCl_2 $n = 8$	III серия Введение $\text{CoCl}_2 + \text{«Фэнокор»}$ $n = 8$
Длина кардиомиоцитов, мкм	$73,10 \pm 3,87$	$60,54 \pm 2,82^*$	$65,12 \pm 3,14^*$
Площадь кардиомиоцитов, мкм^2	$618,31 \pm 40,33$	$397,29 \pm 20,88^*$	$506,55 \pm 7,12^{**}$
Площадь цитоплазмы кардиомиоцитов, мкм^2	$591,41 \pm 42,42$	$356,47 \pm 27,69^*$	$475,12 \pm 16,23^{**}$
Диаметр ядер кардиомиоцитов, мкм	$5,32 \pm 0,41$	$5,01 \pm 0,26$	$5,12 \pm 0,19$
Площадь ядер кардиомиоцитов, мкм^2	$24,71 \pm 2,19$	$26,45 \pm 3,05$	$25,58 \pm 0,08$

* $p \leq 0,05$ по сравнению с животными I серии; ** $p \leq 0,05$ по сравнению с животными II серии.

Т а б л и ц а 2

Содержание продуктов ПОЛ и окислительной модификации белков (ОМБ) сыворотки крови в контроле и опыте, $Me [LQ; UQ]$			
Показатель	I серия Контроль (норма) $n = 5$	II серия Введение CoCl_2 $n = 8$	III серия Введение $\text{CoCl}_2 + \text{«Фэнокор»}$ $n = 8$
ПОЛ, мкмоль/л	2,38 [2,05; 2,67]	9,96 [9,91; 9,98] *	7,17 [6,94; 7,39] */**
ОМБ, усл. ед.	0,16 [0,155; 0,17]	0,62 [0,6; 0,65]*	0,51 [0,48; 0,54]*

* $p \leq 0,05$ по сравнению с животными I серии; ** $p \leq 0,05$ по сравнению с животными II серии.

Таким образом, результатом влияния хлорида кобальта на сердце животных в эксперименте является развитие кардиомиопатии, что обуславливает необходимость проведения своевременной кардиопротекции.

Структура миокарда, наблюдаемая в III серии с введением «Фэнокора» при кобальтовой интоксикации, в целом отражала тенденцию к минимализации объемов повреждения, проявляющуюся в виде интактности структур большей части клеток и волокон мышечной ткани (см. рис. 1, б). Основная масса структурных компонентов миокарда при гистологическом исследовании выглядела достаточно сохранно: отмечалось снижение патологической проницаемости сарколеммы, что проявлялось уменьшением интерстициального отека и явлений дистрофии в большинстве кардиомиоцитов. При этом встречались участки ткани, которые находились в состоянии дистрофии и некроза, проявляющемся гомогенизацией цитоплазмы или появлением в ней значительных размеров просветлений, что, как известно, является свидетельством развития дистрофических и преднекротических процессов [2, 7]. При проведении морфометрии длина и площадь кардиомиоцитов уменьшались по сравнению с контролем на 13,28 и 18,07% соответственно ($p \leq 0,05$), что превышало аналогичные показатели во II серии без применения протектора на 7,46 и 33,56%, что свидетельствовало о цитопротекторном эффекте «Фэнокора» (см. табл. 1). При окраске по Маллори выявлялись тонкие прослойки соединительной ткани в интерстиции, а также пеперискулярном пространстве (см. рис. 1, д).

Согласно результатам электронной микроскопии, кардиомиоциты крыс после 7-суточного введения «Фэнокора» имели повреждения как необратимого, так преимущественно и обратимого характера. Обратимые изменения заключались в неравномерном распределении нуклеарного хроматина, очаговом лизисе митохондриальных крист, при этом большинство митохондрий сохраняли свою нормальную структуру (рис. 2, с). Однако цитопротекторное влияние вышеуказанного антиоксиданта все же не смогло полностью компенсировать деструктивное влияние мощного гипоксического стресса. Об этом свидетельствует обнаружение кардиомиоцитов, в цитоплазме которых развивался отек и отмечались участки лизиса компонентов миофибрилл. Следует отметить тот факт, что даже в таких клетках встречались довольно крупные митохондрии, которые не имели повреждений структуры. Это, по-видимому, также объясняется положительным влиянием антиоксидантной коррекции. О неполном компенсировании действия гипоксического стресса свидетельствует диффузный фиброгенез в интерстиции кардиомиоцитов.

Антиоксидантный эффект концентрата «Фэнокор» проявлялся в существенном снижении концентрации МДА по сравнению со II серией на 28,01% ($p < 0,05$) (см. табл. 2). Концентрация продуктов ОМБ уменьшалась статистически незначимо по сравнению со II серией, превышая нормальные значения на 67,30% ($p < 0,01$).

Исследование кардиомиоцитов крыс II серии показало, что более выраженную сохранность

структуры миокарда имеет при назначении концентрата полифенолов винограда «Фэнокор». Полифенолы винограда связывают свободные радикалы [7, 9, 10], таким образом удаётся уменьшить их количество, получить большее количество аденозин-трифосфорной кислоты даже в условиях недостаточности субстратов и предотвратить прогрессирование окислительного стресса на ранних стадиях ишемического и гипоксического повреждения миокарда, что нашло подтверждение в данном исследовании.

ВЫВОДЫ

Экспериментальное введение хлорида кобальта половозрелым самцам крыс за счет развития гистотоксической гипоксии, ускоряющей процессы перекисного окисления липидов, вызывает комплекс реактивно-дистрофических изменений в миокарде, проявляющихся в нарушении ультраструктуры ядер, сарколеммы и мембран органелл, в частности митохондрий, повреждении миофибриллярного аппарата, что требует введения протекторных веществ.

При проведении морфометрии животных III серии длина и площадь кардиомиоцитов уменьшались по сравнению с контролем на 13,28 и 18,07% соответственно ($p \leq 0,05$), что превышало аналогичные показатели во II серии на 7,46 и 33,56%, что свидетельствовало о цитопротекторном эффекте «Фэнокора». Антиоксидантный эффект концентрата «Фэнокор» проявлялся в статистически значимом снижении концентрации МДА по сравнению со II серией на 28,01%.

Использование концентрата полифенолов винограда «Фэнокор» приводит к блокированию патогенетических звеньев окислительного стресса – важного патогенетического звена развития гистотоксической гипоксии за счет подавления перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков, что обуславливает антиоксидантный эффект концентрата «Фэнокор».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено на средства гранта молодым ученым Государственного Совета Республики Крым № п170-1/16.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Проведение исследования одобрено локаль-

ным этическим комитетом Медицинской академии имени С.И. Георгиевского (протокол № 8 от 15.03.2016 г.)

ЛИТЕРАТУРА

1. Nichols M., Townsend N., Scarborough P., Rayner M. Cardiovascular disease in Europe 2014: epidemiological update // *European Heart Journal*. 2014; 1: 1–10.
2. Buja L.M. The pathobiology of acute coronary syndromes: clinical implications and central role of the mitochondria // *Tex. Heart Inst. J.* 2013; 40 (3): 221–228.
3. Hatori N., Pehrsson S.K., N. Clyne N. et al. Acute cobalt exposure and oxygen radical scavengers in the rat myocardium // *Bioclimica et Biophysica Acta*. 1993; 1181: 257–260.
4. Bruick R.K. Oxygen sensing in the hypoxic response pathway: regulation of the hypoxia-inducible transcription factor // *Genes Dev*. 2003; 17: 2614–2623.
5. Zadnipyrynyi I.V., Tretyakova O.S., Sataeva T.P. Investigation of the antioxidant activity and cardioprotective effect of reamberin and cytoflavin in newborn rats exposed to chronic hemic hypoxia // *Arkhiv patologii*. 2015; 77 (6): 39–44.
6. Santangelo C., Vari R., Scazzocchio D. et al. Polyphenols, intracellular signalling and inflammation // *Ann. Ist. Super. Snita*. 2007; 43 (4): 394–405.
7. Tamura H., Yamagami A., Agric J. Antioxidative Activity of Monoxylated Antocyanins isolated from Muscat Bailey A Grape // *Food Chem*. 1994; 42: 1612–1615.
8. Левченкова О.С., Новиков В.Е. Новые направления поиска лекарственных средств с антигипоксической активностью и мишени для их действия // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2013; 5 (76): 37–47.
9. Зайцев Г.П., Катрич А.И., Огай Ю.А. Полифенольные биологически активные компоненты красного сухого винограда из винограда сорта Каберне-Совиньон и пищевого концентрата «Эноант» // *Магазач. Виноградарство и виноделие*. 2010; 3: 25–27.
10. Mizin V.I., Yezhov V.V., Severin N.A., Kruglova A.Y. Syndrome pathogenic approach to application of therapeutic and prophylactic effects of grape polyphenol complex under pathology of cardiovascular system // *Journal of Health Sciences*. 201; 3 (16): 95–108.
11. Mohiuddin, Syed M., Taskar P.K., Rheault M. et al. Experimental cobalt cardiomyopathy // *American Heart Journal*. 1970; 80 (4): 532–543.
12. Мешков В.В., Богданов Н.Н., Богданов А.Н. Экспериментальные предпосылки к оптимизации методик применения «Эноанта» // *Вестн. физиотерапии и курортологии*. 2002; 2: 30–33.
13. Меркулов Г.А. Курс патолого-гистологической техники. Л.: Медицина, 1969.
14. Kuo J. Electron microscopy: methods and protocols. New Jersey: Humana Press. Inc., 2007: 608.
15. Mihara M., Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test // *Anal Biochem*. 1978; 86 (1): 271–278.

Поступила в редакцию 21.11.2016

Утверждена к печати 30.06.2017

Заднипрыйный Игорь Владимирович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой топографической анатомии человека, Медицинская академия имени С.И. Георгиевского, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь, Республика Крым.

Третьякова Ольга Степановна, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой общественного здоровья и здравоохранения, Медицинская академия имени С.И. Георгиевского, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь, Республика Крым.

Кубышкин Анатолий Владимирович, д-р мед. наук, профессор, зам. директора по научной работе, зав. кафедрой общей и клинической патофизиологии, Медицинская академия имени С.И. Георгиевского, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь, Республика Крым.

Сатаева Татьяна Павловна, канд. мед. наук, доцент кафедры медицинской биологии, Медицинская академия имени С.И. Георгиевского, КФУ им. В.И. Вернадского, г. Симферополь, Республика Крым.

(✉) Сатаева Татьяна Павловна, e-mail: tanzcool@online.ua.

УДК 616.127-001.83--08:615.322:582.782:547.972

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-34-42

For citation: Zadnipyany I.V., Tretiakova O.S., Kubyshkin A.V., Sataieva T.P. Protective effect of grapes polyphenol concentrate "Fenokor" in terms of hypoxic myocardial injury. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 34–42

Protective effect of grapes polyphenol concentrate "Fenokor" in terms of hypoxic myocardial injury

Zadnipyany I.V., Tretiakova O.S., Kubyshkin A.V., Sataieva T.P.

Medical Academy named after S.I. Georgievskiy, Crimean Federal University (CFU) named after V.I. Vernadsky 5/7, Bulv. Lenina, Simferopol, 295006, Republic of Crimea, Russian Federation

ABSTRACT

Polyphenols of grapes and their beneficial effects on human health have been known for a long time and still attract more and more research interest.

The aim of the research was to reveal cardioprotective properties of polyphenols contained in grape concentrate "Fenokor" in terms of experimental histotoxic hypoxia.

Materials and methods. The study was conducted on 21 adult male Wistar rats divided into 3 groups, 2 of which were administered CoCl_2 aqueous solution in a dose of 60 mg/kg for 7 days intragastrically. The control group consisted of 5 intact animals. The rats of the second group ($n = 8$) after the introduction of the cobalt did not receive any treatment, the animals of the third group ($n = 8$) after the administration of cobalt chloride intragastrically, were given Fenokor aqueous solution at a dose of 2,5 ml/kg along with 0,05 ml of water orally. Morphological study was performed using light and electron microscopy. During the experiment the following biochemical parameters such as contents of malondialdehyde, oxidative modification of proteins were estimated.

The results. The result of the influence of cobalt on the heart of animals in experiments is the development of severe cardiomyopathy that requires cardio-protection. Histological structure of myocardium observed in the second group of male rats after cobalt intoxication on the background of grape polyphenol concentrate generally reflected a tendency to minimize the damage extent which was manifested in the form of normalization of cell structures and muscle fibers.

Application of Fenokor has demonstrated its antioxidant and cytoprotective properties, which contributed to myocardial structure preservation in rats exposed to histotoxic hypoxia.

Key words: grape polyphenols, myocardium, hypoxia, cobalt, rats, experiment.

REFERENCES

- Nichols M., Townsend N., Scarborough P., Rayner M. Cardiovascular disease in Europe 2014: epidemiological update // *European Heart Journal*. 2014; 1:1–10.
- Buja L.M. The pathobiology of acute coronary syndromes: clinical implications and central role of the mitochondria // *Tex. Heart Inst. J.* 2013; 40 (3): 221–228.
- Hatori N., Pehrsson S.K., N. Clyne N. et al. Acute cobalt exposure and oxygen radical scavengers in the rat myocardium // *Biochimica et Biophysica Acta*. 1993; 1181: 257–260.
- Bruick R.K. Oxygen sensing in the hypoxic response pathway: regulation of the hypoxia-inducible transcription factor // *Genes Dev*. 2003; 17: 2614–2623.
- Zadniptyany I.V., Tretyakova O.S., Sataeva T.P. Investigation of the antioxidant activity and cardioprotective effect of reamberin and cytoflavin in newborn rats exposed to chronic hemic hypoxia // *Arkhiv patologii*. 2015; 77 (6): 39–44.
- Santangelo C., Vari R., Scaccocchio D. et al. Polyphenols, intracellular signalling and inflammation // *Ann. Ist. Super. Snita*. 2007; 43 (4): 394–405.
- Tamura H., Yamagami A., Agric J. Antioxidative Activity of Monoxylated Antocyanins isolated from Muscat Bailey A Grape // *Food Chem*. 1994; 42: 1612–1615.
- Levchenkova O.S., Novikov V.E. Novyye napravleniya poiska lekarstvennykh sredstv s antigipoksicheskoy aktivnostyu i misheni dlya ih deystviya [New drugs search direction with antigipoksicheskoy activity and targets for their actions] // *Eksperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya – Experimental and Clinical Pharmacology*. 2013; 5 (76): 37–47 (in Russian).
- Zajcev G.P., Katrich L.I., Ogaj Ju.A. Polifenol'nye biologicheski aktivnye komponenty krasnogo suhogo vinomateriala iz vinograda sorta Kaberne-Sovin'on i pishhevogo koncentrata «Enoant» [Polyphenolic biologically active components of red dry wine from grapes of Cabernet Sauvignon and food “Enoant” concentrate] // *Magarach. Vinogradarstvo i vinodelie*. 2010; 3: 25–27 (in Russian).
- Mizin V.I., Yezhov V.V., Severin N.A., Kruglova A.Y. Syndrome pathogenic approach to application of therapeutic and prophylactic effects of grape polyphenol complex under pathology of cardiovascular system // *Journal of Health Sciences*. 201; 3 (16): 95–108.
- Mohiuddin, Syed M., Taskar P.K., Rheault M. et al. Experimental cobalt cardiomyopathy // *American Heart Journal*. 1970; 80 (4): 532–543.
- Meshkov V.V., Bogdanov N.N., Bogdanov A.N. Eksperimentalnyye predposylki k optimizatsii metodik primeneniya «Enoanta» [The experimental conditions to optimize the use of techniques “Enoant”] // *Vestn. fizioterapii i kurortologii. – Herald Physiotherapy and Health Resort*. 2002; 2: 30–33 (in Russian).
- Merkulov G.A. Kurs patologo-gistologicheskoy tehniki [The course of pathological and histological tehniki]. L.: Meditsina Publ., 1969 (in Russian).
- Kuo J. Electron microscopy: methods and protocols. New Jersey: Humana Press. Inc., 2007: 608.
- Mihara M., Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test // *Anal Biochem*. 1978; 86 (1): 271–278.

Received November 21.2016

Accepted June 30.2017

Zadniptyany Igor V., DM, Professor, Head of the Topographical Anatomy Department, Medical Academy named after S.I. Georgievskiy, CFU named after V.I. Vernadsky, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation.

Tretyakova Olga S., DM, Professor, Head of the Public Health and Healthcare Department, Medical Academy named after S.I. Georgievskiy, CFU named after V.I. Vernadsky, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation.

Kubyshkin Anatoliy V., DM, Professor, Head of the General and Clinical Pathophysiology Department, Medical Academy named after S.I. Georgievskiy, CFU named after V.I. Vernadsky, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation.

Sataeva Tatiana P., DM, Associate Professor, Medical Biology Department, Medical Academy named after S.I. Georgievskiy, CFU named after V.I. Vernadsky, Simferopol, Republic of Crimea, Russian Federation.

(✉) **Sataeva Tatiana P.**, e-mail: tanzcool@online.ua

УДК 616-001.47-021.6-085:615.33

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-43-51

Для цитирования: Горохова А.С., Григорьян А.Ю., Бежин А.И., Панкрушева Т.А., Суковатых Б.С., Жияева Л.В., Мишина Е.С., Кобзарева Е.В. Применение иммобилизованной формы бензалкония хлорида и метронидазола в лечении гнойных ран. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 43–51

Применение иммобилизованной формы бензалкония хлорида и метронидазола в лечении гнойных ран

Горохова А.С.¹, Григорьян А.Ю.², Бежин А.И.², Панкрушева Т.А.²,
Суковатых Б.С.², Жияева Л.В.², Мишина Е.С.², Кобзарева Е.В.²

¹ Тимская центральная районная больница

Россия, 307060, Курская область, Тимский район, пос. Тим, ул. Ленина, 6

² Курский государственный медицинский университет (КГМУ)

Россия, 305041, г. Курск, ул. Карла Маркса, 3

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить ранозаживляющее действие иммобилизованной формы бензалкония хлорида и метронидазола на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ) или полиэтиленоксида (ПЭО) в лечении экспериментальной гнойной раны.

Материал и методы. Исследовались следующие составы, %. *Комбинация 1:* бензалкония хлорид – 0,02; метронидазол – 1,0; натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы (NaКМЦ) – 4,0; вода очищенная – до 100,0. *Комбинация 2:* бензалкония хлорид – 0,02; метронидазол – 1,0; полиэтиленоксид (молекулярная масса (м. м.) 400) – 80,0; полиэтиленоксид (м. м. 1500) – 20,0. Эксперимент выполнен на 180 самцах крыс породы Вистар, которые были разделены на три статистически однородные группы по 60 животных в каждой, всем подопытным моделировалась гнойная рана по методике П.И. Толстых. В контрольной группе местное лечение раны проводилось с помощью мази «Левомеколь», в двух опытных группах проводили лечение комбинацией 1 и 2 соответственно. Оценку течения раневого процесса производили с помощью планиметрического, микробиологического и гистологического методов исследования. Протоколирование данных и выведение животных из опыта осуществляли на 1-е, 3-и, 5-е, 8-, 10- и 15-е сут.

Результаты. Данные микробиологического исследования подтвердили высокую эффективность разработанных авторами комбинаций в отношении стандартных тест-штаммов микроорганизмов-возбудителей раневой инфекции. В результате планиметрического исследования выявлено достоверное уменьшение площади ран в опытной группе 1 по сравнению с контрольной, что указывает на более эффективное течение процесса заживления в опытной группе 1, то же самое отмечалось в опытной группе 2, начиная с 5-х сут наблюдения по отношению к контрольной. Применение в лечении гнойно-воспалительного процесса кожно-подкожного слоя разработанных авторами комбинаций способствует скорейшему снижению микробной обсемененности ран по сравнению с мазью «Левомеколь». После проведенного гистологического исследования отмечено, что процессы регенерации и эпителизации протекали лучше в опытных группах по отношению к контролю.

Заключение. Иммобилизованная форма бензалкония хлорида и метронидазола в геле полиэтиленоксида (комбинация 2) по результатам микробиологического исследования обладает наиболее высоким антимикробным действием по сравнению с остальными препаратами и статистически достоверно по сравнению с контрольной группой сокращает площадь ран и ускоряет сроки эпителизации. В то же время между комбинацией 1 и мазью «Левомеколь» нет достоверных различий по зонам задержки роста микроорганизмов. Комбинация 1 проявляет наивысшую активность в 1-е сут течения раневого процесса,

✉ Григорьян Арсен Юрьевич, e-mail: arsgrigorian@mail.ru.

таким образом ее следует рекомендовать для лечения гнойных ран в первые 3 сут первой фазы течения раневого процесса. Комбинацию 2 следует рекомендовать, начиная с 3-х сут лечения, в период, когда была отмечена наибольшая скорость заживления при ее применении в опытной группе 2.

Ключевые слова: гнойная рана, лечение ран, бензалкония хлорид, метронидазол, натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы, полиэтиленоксид, мазь «Левомеколь».

ВВЕДЕНИЕ

За последние 90 лет (с момента открытия пенициллина) появилось огромное количество антибиотиков, направленных на лечение гнойно-воспалительных процессов [1–3]. В то же время ежедневно появляются новые штаммы микроорганизмов, которые в процессе эволюции научились противостоять даже современным антибактериальным препаратам, что подтверждается высоким уровнем раневой (35–45%) и внутрибольничной инфекции (12–22%) [4–6]. Вследствие этого проблема лечения раневой инфекции сохраняет свою актуальность и сегодня. Современные принципы лечения гнойно-воспалительных процессов мягких тканей рекомендуют сокращать число перевязок для минимальной травматизации заживающей поверхности. Для осуществления данного принципа необходимо, чтобы лекарственное средство обладало пролонгированным антибактериальным эффектом [7–9]. Левомеколь является наиболее распространенным препаратом для местного лечения ран, однако в его составе содержится антибиотик хлорамфеникол, к которому (как и к большинству антибиотиков) развивается резистентность микроорганизмов, в связи с чем его не рекомендуют применять дольше 5 сут [10].

На наш взгляд, одним из перспективных антисептиков является бензалкония хлорид, который при иммобилизации на различных высокоактивных основах будет обладать пролонгированным противомикробным эффектом, что ускорит процесс заживления. В жидкой лекарственной форме бензалкония хлорид используется для профилактики заболеваний, передающихся половым путем, совместно с хлоргексидина биглюконатом входит в состав раствора для наружного применения «Бактодерм», как антисептик используется в составе таблеток для рассасывания «Септогал» и пастилок «Септолете». Также нашел широкое применение в офтальмологической практике, есть сведения о разработке лекарственного средства с содержанием, наряду с антибиотиком, бензалкония хлорида, однако без экспериментального подтверждения его эффективности в лечении ран [11–13]. Для усиления формулы разработанных авторами комбинаций и профилактики развития

анаэробной инфекции также ввели в состав противомикробный препарат метронидазол, чья эффективность в отношении анаэробных возбудителей не вызывает сомнений [14].

Цель исследования: изучить ранозаживляющее действие иммобилизованной формы бензалкония хлорида и метронидазола на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ) или полиэтиленоксида (ПЭО) в лечении экспериментальной гнойной раны.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили комбинации, разработанные на кафедре фармацевтической технологии Курского государственного медицинского университета, следующего состава, %. Комбинация 1: бензалкония хлорид – 0,02; метронидазол – 1,0; натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы (NaКМЦ) – 4,0; вода очищенная – до 100,0. Комбинация 2: бензалкония хлорид – 0,02; метронидазол – 1,0; полиэтиленоксид (молекулярная масса (м. м.) 400) – 80,0; полиэтиленоксид (м. м. 1500) – 20,0 (Патент РФ на изобретение № 2542373).

В экспериментах *in vitro* изучали антимикробный спектр препарата «Левомеколь» и комбинаций 1 и 2. Было выполнено по шесть исследований каждого образца путем определения спектра антимикробного эффекта методом стандартных дисков на плотных питательных средах с применением библиотечных штаммов микроорганизмов *Proteus vulgaris* и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *St. aureus* ATCC 6538-P, *E. coli* ATCC 25922, *Bac. cereus* ATCC 10702, *Candida albicans* ATCC 885-653.

Эксперименты на животных реализованы на 180 самцах крыс белой масти породы Вистар, разделенных на три группы (контрольная, опытная 1 и опытная 2) по 60 в каждой. Животные для эксперимента отбирали без видимых признаков болезни, массой ($182,5 \pm 12,23$) г, которые предварительно прошли карантин в виварии. Все животные располагались в одинаковых условиях на типовом пищевом рационе.

Животным в стерильных условиях под наркозом моделировали гнойно-воспалительный процесс кожно-подкожного слоя по методике П.И. Толстых

[15]. В контрольной группе каждый день совершалась обработка раны 3%-м раствором пероксида водорода и аппликация марлевой салфетки с официальной мазью «Левомеколь». В группе опытная 1 каждый день совершалась обработка раны 3%-м раствором пероксида водорода и аппликация марлевой салфетки с комбинацией 1. В группе опытная 2 каждый день совершалась обработка раны 3%-м раствором пероксида водорода и аппликация марлевой салфетки с комбинацией 2. Замену повязки подопытным животным во всех группах совершали однократно в день в течение 14 сут.

Оценку течения раневого процесса у опытных животных производили с помощью планиметрического, микробиологического и гистологического методов исследования [16]. Протоколирование данных и выведение животных из опыта (посредством передозировки анестетика) осуществляли на 1-е, 3-и, 5-е, 8-, 10- и 15-е сут.

При планиметрии раневой поверхности по методике Л.Н. Поповой оценивали уменьшение площади раны (ПУП), %, и скорость заживления (СЗ). Во время бактериологического исследования определяли обсемененность раны микроорганизмами, колониеобразующие единицы/грамм ткани (КОЕ/г), методом стандартных дис-

ков. Исследование раневых срезов проводилось с помощью гистологического метода (участок мягких тканей дна и прилежащего края раны) после выведения экспериментального животного из опыта. Далее подготовленные срезы окрашивали гематоксилином и эозином и фиксировали выраженность воспалительной реакции, сроки появления зрелой грануляционной ткани, время начала краевой эпителизации, а также ее структурную полноценность.

Обрабатывали результаты с помощью методов однофакторного дисперсионного анализа при использовании пакета Microsoft Excel 2010. Определяли среднюю величину количественных показателей (M) и ошибку средней (m). Распределение признаков оценивали по критерию Шапиро – Уилка. Статистическую значимость различий определяли по непараметрическим критериям Даннета и Ньюмена – Кейлса. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты изучения спектра противомикробного действия сопоставляемых комбинаций представлены в табл. 1.

Т а б л и ц а 1

Зона задержки роста, мм, $M \pm m$, $n = 6$			
Исследуемый состав	Левомеколь	Комбинация 1	Комбинация 2
<i>St. aureus</i> ATCC 6538-P	24,1 $\pm$ 1,6	26,2 $\pm$ 0,6	29,7 $\pm$ 1,2*,**
<i>Bac. cereus</i> ATCC 10702	21,7 $\pm$ 2,0	22,8 $\pm$ 1,2	27,2 $\pm$ 0,5*,**
<i>E. coli</i> ATCC 25922	22,1 $\pm$ 2,1	19,7 $\pm$ 1,5	20,5 $\pm$ 1,5
<i>Proteus vulgaris</i>	25,2 $\pm$ 2,6	20,1 $\pm$ 2,3	20,9 $\pm$ 2,7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	24,2 $\pm$ 3,4*	12,4 $\pm$ 2,0	16,9 $\pm$ 1,1
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	11,7 $\pm$ 2,1	23,5 $\pm$ 1,9*	25,4 $\pm$ 1,0*

* $p < 0,05$ при сопоставлении комбинации 1 и комбинации 2 с мазью «Левомеколь» (по критерию Даннета).

** $p < 0,05$ при сравнении комбинации 1 с комбинацией 2 (по критерию Ньюмена – Кейлса).

Представленные в табл. 1 данные указывают, что разработанная авторами комбинация 1 статистически значимо превосходила препарат «Левомеколь» по зонам задержки роста в отношении тест-штамма *Candida albicans* ATCC 885-653, однако уступала по отношению к *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 (так же, как и комбинация 2). В свою очередь комбинация 2 статистически значимо ($p < 0,05$) превосходила препарат «Левомеколь» в отношении *Candida albicans* ATCC 885-653, *Bac. cereus* ATCC 10702 и *St. aureus* ATCC 6538-P. Между комбинациями 1 и 2 достоверные различия выявлены в отношении библиотечных штаммов *St. aureus* ATCC 6538-P и *Bac. cereus* ATCC 10702 в пользу комбинации 2.

Данные результаты подтверждают высокую противомикробную эффективность разработанных авторами комбинаций. Изменение планиметрических показателей в процессе лечения представлены в табл. 2.

Результаты планиметрического исследования свидетельствуют о достоверном уменьшении площади и увеличении ПУП ран в опытной группе 1 по сравнению с контрольной, что указывает на более эффективное течение процесса заживления на протяжении всего срока наблюдения. В опытной группе 2, начиная с 5-х сут наблюдения, данные показатели статистически достоверно ($p < 0,05$) отличаются от контрольной группы.

Т а б л и ц а 2

Планиметрические изменения ран, $M \pm m$						
Показатель	Контрольная		Опытная 1		Опытная 2	
	S раны, мм ²	ПУП, %	S раны, мм ²	ПУП, %	S раны, мм ²	ПУП, %
1-е сут ($N = 60$ в каждой группе)	$251,0 \pm 0,6$	—	$248,9 \pm 0,3$	—	$249,2 \pm 0,4$	—
3-е сут ($n = 50$)	$197,7 \pm 2,3$	$21,2 \pm 1,0$	$103,6 \pm 2,6^*$	$58,4 \pm 1,0^*$	$207,5 \pm 2,8^{*,**}$	$16,8 \pm 1,2^{*,**}$
5-е сут ($n = 40$)	$138,2 \pm 1,9$	$44,9 \pm 0,8$	$69,2 \pm 3,0^*$	$72,2 \pm 1,2^*$	$114,6 \pm 4,6^{*,**}$	$54,0 \pm 1,9^{*,**}$
8-е сут ($n = 30$)	$104,0 \pm 1,3$	$58,5 \pm 0,5$	$31,8 \pm 2,1^*$	$87,3 \pm 0,9^*$	$83,8 \pm 3,5^{*,**}$	$66,4 \pm 1,4^{*,**}$
10-е сут ($n = 20$)	$54,2 \pm 2,4$	$78,4 \pm 1,0$	$19,3 \pm 1,5^*$	$92,2 \pm 0,6^*$	$53,1 \pm 3,1^{**}$	$78,7 \pm 1,2^{**}$
15-е сут ($n = 10$)	$27,8 \pm 2,3$	$88,9 \pm 1,0$	$10,5 \pm 1,5^*$	$95,8 \pm 0,6^*$	$15,2 \pm 1,8^*$	$93,5 \pm 0,8^{*,**}$

* $p < 0,05$ при сопоставлении опытной группы 1 и опытной группы 2 с контрольной группой (по критерию Даннета).

** $p < 0,05$ при сравнении опытной группы 1 с опытной группой 2 (по критерию Ньюмена – Кейлса).

Между опытными группами 1 и 2 статистически значимые различия наблюдались на протяжении всего срока в пользу опытной группы 1. В контрольной группе максимальная СЗ наблюдалась в 3–5-е сут ($12,0 \pm 0,7$) мм²/сут, в опытной группе 1 была статистически достоверно выше в 2,3 раза, чем в контрольной группе и составляла максимум в 1–3-е сут ($28,3 \pm 0,5$) мм²/сут, что указывает на высокую активность комбинации 1 в первую фазу раневого процесса. В опытной группе 2 наибольшие значения СЗ отмечены в 3–5-е сут ($19,5 \pm 1,0$) мм²/сут, однако при этом СЗ в опытной группе 2 была выше в 1,63 раза, чем в контрольной группе ($p < 0,05$).

Первоначальная микробная загрязненность ран в 1-е сут составляла в среднем ($14,4 \pm 0,5$) $\times 10^7$ КОЕ/г (табл. 3). В контрольной и опытных группах животных происходило постепенное уменьшение обсемененности раны патогенными микроорганизмами. Между опытными группами и контрольной статистически значимые различия по степени бактериальной обсемененности отмечались в 5- и 8-е сут наблюдения. Данные обстоятельства свидетельствуют о том, что применение при лечении гнойно-воспалительного процесса кожно-подкожного слоя разработанными авторами комбинациями способствует скорейшему понижению микробной обсемененности ран по сравнению с мазью «Левомеколь».

Т а б л и ц а 3

Динамика обсемененности ран, КОЕ/г, $M \pm m$					
Группа	Срок наблюдения, сут				
	1	3	5	8	10
	$n = 10$ (в каждом исследовании)				
Контрольная	$(14,7 \pm 0,4) \times 10^7$	$(19,2 \pm 3,1) \times 10^6$	$(16,6 \pm 0,5) \times 10^5$	$15,1 \pm 0,2 \times 10^4$	$7,3 \pm 0,3 \times 10^4$
Опытная 1	$(14,2 \pm 0,2) \times 10^7$	$(19,3 \pm 0,7) \times 10^6$	$(10,3 \pm 0,8) \times 10^5^*$	$8,3 \pm 1,1 \times 10^{4*}$	$6,2 \pm 1,9 \times 10^4$
Опытная 2	$(14,2 \pm 0,1) \times 10^7$	$(18,4 \pm 0,7) \times 10^6$	$(7,4 \pm 0,6) \times 10^{5*,**}$	$8,5 \pm 0,9 \times 10^{4*}$	$6,9 \pm 1,6 \times 10^4$

* $p < 0,05$ при сопоставлении опытной группы 1 и опытной группы 2 с контрольной группой (по критерию Даннета).

** $p < 0,05$ при сравнении опытной группы 1 с опытной группой 2 (по критерию Ньюмена – Кейлса).

При микроскопии гистологических препаратов ран через 3 сут после моделирования у животных всех групп поверхность ран была покрыта струпом, под которым начинала формироваться грануляционная ткань, инфильтрированная гранулоцитами. Отек дермы и клетчатки не был выражен.

В контрольной группе на 5-е сут поверхность раны была прикрыта лейкоцитарно-некротическим слоем, под которым располагалась вновь образующаяся грануляционная ткань, краевая эпителизация отсутствовала. Глубже лежащие участки дермы были несколько отечны. В опытной группе 1 и 2 отека не отмечалось, однако в

инфильтрате отмечалось скопление макрофагов на фоне полиморфноядерных лейкоцитов (ПЯЛ).

Восьмые сутки эксперимента характеризовались следующим: в контрольной группе на поверхности раны лейкоцитарно-некротический струп присутствовал фрагментарно. Дно раны было выполнено развивающейся грануляционной тканью, богатой кровеносными сосудами. Соединительнотканые фибробласты неоднобразной отростчатой формы располагались тяжами вокруг кровеносных сосудов. В опытной группе 1 на периферии раны отмечался хорошо сформированный эпителиальный вал, который распро-

странялся на созревшую грануляционную ткань. В опытной группе 2 происходило наполнение вновь сформированного эпителиального валика из периферии на фоне созревшей грануляционной ткани.

На 10-е сут в контрольной группе происходило формирование эпителиального валика на границе раневой поверхности. Зрелая грануляционная ткань четко отграничена от неповрежденной дермы и инфильтрирована лейкоцитами. В первой опытной группе отмечалось полное закрытие грануляций эпидермисом, однако по всей площади раневого дефекта отсутствовали производные эпидермиса. Во второй опытной группе отмечалось практически повсеместное закрытие созревших грануляций новым (новообразованным) эпидермисом. Производные эпидермиса также отсутствовали в области повреждения.

ОБСУЖДЕНИЕ

Современные принципы лечения указывают на целесообразность сочетания активной хирургической и тождественной локальной терапии гнойно-воспалительного процесса мягких тканей [7, 9]. В связи с развитием раневого процесса по определенному сценарию (фазы раневого процесса) является необходимым применение средств с разнообразными свойствами на различных этапах лечения. Часто наиболее тяжело для пациентов протекает первая фаза со значительным количеством раневого экссудата, гноя и с высокой степенью вероятности появления инфекционных осложнений, так как в этот период поверхность раны способна впитывать метаболиты микроорганизмов. Также одним из моментов, который ухудшает и тормозит процесс заживления, является образование биопленки, формирующейся в результате жизнедеятельности микроорганизмов [3, 5].

Таким образом, при терапии гнойной раны в фазу гидратации основные усилия необходимо направлять на уничтожение биопленки, ликвидацию патогенных микроорганизмов и адекватный дренаж раны. Одним из эффективных средств, которое способно разрушать биопленку микроорганизмов, проявлять активность в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, является бензалкония хлорид. Он влияет на метаболические процессы, которые происходят в клетках, обладает противогрибковым действием. Бензалкония хлорид приводит к ослаблению поверхностного натяжения на границе раздела двух сред, сопровождающегося нарушением целостности мембраны клеток, что завершается выходом компонентов, имеющих жизненно

важное значение, в межклеточное пространство и способствует элиминации микроорганизмов [12, 13]. Несомненно, содержание метронидазола усиливает антибактериальный эффект и препятствует развитию вторичного инфицирования, особенно анаэробными микроорганизмами.

Таким образом, результаты микробиологических, планиметрических и гистологических наблюдений свидетельствуют об очевидном положительном влиянии на заживление раны иммобилизованной формы бензалкония хлорида и метронидазола.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Иммобилизованная форма бензалкония хлорида и метронидазола в геле полиэтиленоксида (комбинация 2) обладает наиболее высоким антимикробным действием по результатам определения зон задержки роста микроорганизмов (данные различия статистически достоверны по отношению к остальным препаратам), а также статистически достоверно по сравнению с мазью «Левомеколь» сокращает площадь ран и ускоряет сроки эпителизации гнойных ран в эксперименте. В то же время комбинация 1 не уступает по зонам задержки роста микроорганизмов мази «Левомеколь», проявляет наивысшую активность в 1-е сут течения раневого процесса (статистически достоверно по отношению к двум другим группам). Таким образом, комбинацию 1 следует рекомендовать для лечения гнойных ран в первые 3 сут первой фазы течения раневого процесса (в период ее максимальной активности), а комбинацию 2 – начиная с 3-х сут лечения, в период, когда была отмечена наибольшая скорость заживления при применении данной комбинации в опытной группе 2.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ И ВКЛАД АВТОРОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи, и сообщают о вкладе авторов. Горохова А.С. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных. Григорьян А.Ю. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания. Бежин А.И. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Панкрушева Т.А. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания.

ния, окончательное утверждение для публикации рукописи. Суковатых Б.С. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Жияева Л.В. – анализ и интерпретация данных. Мишина Е.С. – анализ и интерпретация данных. Кобзарева Е.В. – анализ и интерпретация данных.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана грантом Президента РФ для молодых кандидатов наук МК-5245.2016.7.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Экспериментальные исследования *in vitro* и *in vivo* проведены в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes, 18.03.1986), «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985 г) и приказом МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики», МЗ ССР № 755 от 12.08.1977. Протокол исследования № 5 от 06.03.13 г. одобрен Региональным этическим комитетом при ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России.

ЛИТЕРАТУРА

1. Блатун Л.А. Местное медикаментозное лечение ран // *Хирургия*. 2011; (4): 51–59.
2. George K. Are Quantitative Bacterial Wound Cultures Useful? // *J. Clin. Microbiol.* 2014; (52): 2753–2756.
3. Плотников Ф.В. Комплексное лечение пациентов с гнойными ранами в зависимости от способности микроорганизмов-возбудителей формировать биопленку // *Новости хирургии*. 2014; 22 (5): 575–582. DOI: <http://dx.doi.org/10.18484/2305-0047.2014.5.575>
4. Халилов М.А. Вопросы оптимизации местного лечения гнойных ран // *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2009; (3): 31–37.
5. Carlos J.S. D-Amino Acids Enhance the Activity of Antimicrobials against Biofilms of Clinical Wound Isolates of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; (58): 4353–4361.
6. Чекмарева И.А., Блатун Л.А., Терехова Р.П., Захарова О.А., Кочергина Е.В., Агафонов В.А. Морфофункциональные аспекты регенерации ран при лечении йодсодержащими мазями // *Хирургия*. 2014; (1): 54–58.
7. Бабушкина И.В. Наночастицы металлов в лечении экспериментальных гнойных ран // *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2011; 7 (2): 530–533.
8. Tanaka K. Lipid-Colloid Dressing Shows Improved Reepithelialization, Pain Relief, and Corneal Barrier Function in Split-Thickness Skin-Graft Donor Wound Healing // *International Journal of Lower Extremity Wounds*. 2014; (13): 220–225. DOI: 10.1177/1534734614541544.
9. Кузнецов Н.А., Никитин В.Г. Щадящие хирургические вмешательства и интерактивные повязки в лечении инфицированных ран // *CONSILIUM medicum: Хирургия (прилож.)*. 2006; (2): 39–46.
10. Тезина Е.Ю., Родина О.П., Водопьянова О.А., Семенова Е.Ф., Моисеева И.Я. Опыт сравнительного применения мазей «Фузимет» и «Левомеколь» в комплексном лечении ожоговых ран // *Современные проблемы науки и образования*. 2015; (3): URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=19610>
11. Ярмчук А.А., Хишова О.М., Половко Н.П. Микробиологическое обоснование использования бензалкония хлорида в мягкой лекарственной форме для наружного применения // *Вестник фармации*. 2012; 2 (56): 39–45.
12. Epstein S., Ahdoot M., Marcus E., Asbell P. Evaluation of biomarkers of inflammation in response to benzalkonium chloride on corneal and conjunctival epithelial cells // *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 2009; 25 (5): 415–424. DOI: 10.1089/jop.2008.0140
13. De Saint Jean M., Brignole F., Bringuier A.F., Bauchet A., Feldmann G., Baudouin C. Effects of benzalkonium chloride on growth and survival of Chang conjunctival cells Invest // *Ophthalmol. Vis. Sci.* 1999; 40 (3): 619–630.
14. Юшков А.Г., Шульгина Н.А., Гущина А.А., Юшков Г.Г., Расулов М.М., Бенеманский В.В., Бун М.М. К возможности выявления побочных явлений препарата «Метронидазол» (раствор для инфузий 0,5% 100 мл) в условиях эксперимента // *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2012; 4–2 (86): 216–219.
15. Суковатых Б.С., Бежин А.И., Панкрушева Т.А., Григорьян А.Ю., Иванов А.В., Жияева Л.В., Кобзарева Е.В., Андрюхина Е.Г., Дубонос А.А. Оценка экспериментальной и клинической эффективности иммобилизованной формы хлоргексидина в лечении гнойных ран // *Вестник хирургии им. И.И. Грекова*. 2016; 175 (1): 42–47.
16. Суковатых Б.С., Бежин А.И., Панкрушева Т.А., Григорьян А.Ю., Жияева Л.В., Кобзарева Е.В., Андрюхина Е.Г., Мишина Е.С. Лечение гнойных ран иммобилизованными формами антисептиков // *Врач*. 2016; (3): 16–20.

Поступила в редакцию 08.01.2017

Утверждена к печати 30.06.2017

Горохова Анастасия Сергеевна, зав. отделением хирургии, Тимская центральная районная больница, Курская область, г. Курск.

Григорьян Арсен Юрьевич, канд. мед. наук, доцент, кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии, КГМУ, г. Курск.

Бежин Александр Иванович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой оперативной хирургии и топографической анатомии, КГМУ, г. Курск.

Панкрушева Татьяна Александровна, д-р фарм. наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтической технологии, КГМУ, г. Курск.

Суковатых Борис Семенович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой общей хирургии, КГМУ, г. Курск.

Жиляева Людмила Владимировна, канд. мед. наук, ассистент, кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии, КГМУ, г. Курск.

Мишина Екатерина Сергеевна, канд. мед. наук, ассистент, кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии, КГМУ, г. Курск.

Кобзарева Елена Викторовна, канд. фарм. наук, ассистент, кафедра социальной работы и безопасности жизнедеятельности, КГМУ, г. Курск.

(✉) Григорьян Арсен Юрьевич, e-mail: arsgrigorian@mail.ru

УДК 616-001.47-021.6-085:615.33

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-43–51

For citation: Gorohova A.S., Grigoryan A.Yu., Bezhin A.I., Pankrusheva T.A., Sukovatykh B.S., Zhilyaeva L.V., Mishina E.S., Kobzareva E.V. The applying of immobilized forms of benzalkonium chloridum and metronidazolium in the treatment of purulent wounds. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 43–51

The use of immobilized form of benzalkonium chloride and metronidazole in the treatment of purulent wounds

Gorohova A.S.¹, Grigoryan A.Yu.², Bezhin A.I.², Pankrusheva T.A.², Sukovatykh B.S.², Zhilyaeva L.V.², Mishina E.S.², Kobzareva E.V.²

¹Tim Central Regional Hospital

6, Lenin Str., Kursk Region, Tim, 307060, Russian Federation

²Kursk State Medical University (KSMU)

3, Karl Marx Str., Kursk, 305041, Russian Federation

ABSTRACT

The purpose of the study is to investigate the wound-healing effect of the immobilized form of benzalkonium chloride and metronidazole based on the sodium salt of carboxymethylcellulose (Na-CMC) or polyethylene oxide (PEO) in the treatment of an experimental purulent wound.

Materials and methods. The following compositions were studied, %. Combination 1: benzalkonium chloride – 0.02; Metronidazole – 1.0; Sodium carboxymethylcellulose (NaCMC) – 4.0; Purified water – up to 100.0. Combination 2: benzalkonium chloride – 0.02; Metronidazole – 1.0; Polyethylene oxide, m. 400 – 80.0; Polyethylene oxide, m. 1500 – 20.0. The experiment was performed on 180 male Wistar rats, which were divided into three statistically homogeneous groups of 60 animals in each, a purulent wound was modeled in all experimental rats using the method of P.I. Tolstykh. In the control group local treatment of the wound was performed with the help of “Levomekol” ointment, in two experimental groups, the combination was treated with 1 and 2. The course evaluation of the wound process was carried out using planimetric, microbiological and histological methods of investigation. The data were recorded and the animals were eliminated from the experiment on the 1st, 3rd, 5th, 8th, 10th and 15th days.

Results. The data of the microbiological study confirmed the high efficiency of the combinations developed by the authors in relation to standard test strains of pathogen microorganisms. As a result of the planimetric study, a significant decrease in the area of wounds in the experimental group 1 was found compared to the

control group, which indicates a more effective course of the healing process in experimental group 1. The same process was noted in the experimental group 2, starting from the 5th day of observation relative to the Control. The use of combinations developed by the authors in the treatment of the purulent-inflammatory process of the subcutaneous layer promotes the rapid reduction of microbial contamination of wounds compared to "Levomekol" ointment. After the histological examination, it was noted that the processes of regeneration and epithelization proceeded better in the experimental groups relative to the control.

Conclusion. The immobilized form of benzalkonium chloride and metronidazole in polyethylene oxide gel (combination 2) has the highest antimicrobial activity, in comparison with the rest of the preparations, and is statistically significant, in comparison with the control group. It also reduces the wound area and accelerates the epithelization period. At the same time, there are no significant differences between combination 1 and ointment "Levomekol" in the zones of growth retardation of microorganisms. Combination 1 shows the highest activity in the 1st day of the wound process, so it should be recommended for the treatment of purulent wounds in the first 3 days of the first phase of the wound process. Combination 2 should be recommended starting from the 3rd day of treatment, when the highest healing rate has been noted when applied in the experimental group 2.

Key words: purulent wound, wound treatment, benzalkonium chloride, metronidazole, sodium carboxymethylcellulose, polyethylene oxide, "Levomekol" ointment.

REFERENCES

1. Blatun L.A. Mestnoe medikamentoznoe lechenie ran [Local medical treatment of wounds] // *Khirurgiya – Surgery*. 2011; (4): 51–59 (in Russian).
2. George K. Are Quantitative Bacterial Wound Cultures Useful? // *J. Clin. Microbiol.* 2014; (52): 2753–2756.
3. Plotnikov F.V. Kompleksnoe lechenie pacientov s gnojnymi ranami v zavisimosti ot sposobnosti mikroorganizmov-vzbuditelej formirovat' bioplenku [Complex treatment of patients with purulent wounds, depending on the ability of microorganisms to form biofilms pathogens] // *Novosti khirurgii – Surgery news*. 2014; 22(5): 575–582 (in Russian). DOI: <http://dx.doi.org/10.18484/2305-0047.2014.5.575>.
4. Khalilov M.A. Voprosy optimizatsii mestnogo lecheniya gnojnyh ran [Questions to optimize the local treatment of purulent wounds] // *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik «Chelovek i ego zdorov'e» – Kursk scientific and practical bulletin "Man and his health"*. 2009; (3): 31–37 (in Russian).
5. Carlos J.S. D-Amino Acids Enhance the Activity of Antimicrobials against Biofilms of Clinical Wound Isolates of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; (58): 4353–4361.
6. Chekmareva I.A., Blatun L.A., Terekhova R.P., Zakharova O.A., Kochergina E.V., Agafonov V.A. Morfo-funktsional'nye aspekty regeneratsii ran pri lechenii jodsoderzhashchimi mazyami [Morphological and functional aspects of wound healing in the treatment of iodine-containing ointments] // *Khirurgiya – Surgery*. 2014; (1): 54–58 (in Russian).
7. Babushkina I.V. Nanochasticy metallov v lechenii ehksperimental'nyh gnojnyh ran [Metal nanoparticles in the treatment of experimental purulent wounds] // *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal – Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2011; 7(2): 530–533 (in Russian).
8. Tanaka K. Lipid-Colloid Dressing Shows Improved Reepithelialization, Pain Relief, and Corneal Barrier Function in Split-Thickness Skin-Graft Donor Wound Healing // *International Journal of Lower Extremity Wounds*. 2014; (13): 220–225. DOI: 10.1177/1534734614541544.
9. Kuznetsov N.A., Nikitin V.G. Shchadyashchie hiruricheskie vmeshatel'stva i interaktivnye povyazki v lechenii infitsirovannyh ran [Sparing surgery and interactive dressings in the treatment of infected wounds] // *CONSILIUM medicum: Khirurgiya (prilozh.) – CONSILIUM medicum: Surgery*. 2006; (2): 39–46 (in Russian).
10. Tezina E.Ju., Rodina O.P., Vodop'janova O.A., Semenova E.F., Moiseeva I.Ja. Opyt sravnitel'nogo primeneniya mazej «Fuzimet» i «Levomekol» v kompleksnom lechenii ozhogovyh ran [Experience of the comparative use of ointments "Fuzimet" and "Levomekol" in the complex treatment of burn wounds] // *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya – Modern problems of science and education*. 2015; (3): (in Russian). URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=19610>
11. Jaremchuk A.A., Hishova O.M., Polovko N.P. Mikrobiologicheskoe obosnovanie ispol'zovaniya benzalkonija hlorida v mjagkoj lekarstvennoj forme dlja naruzhnogo primeneniya [Microbiological study using benzalkonium chloride in soft dosage form for external application] // *Vestnik farmatsii – Journal of Pharmacy*. 2012; 2 (56): 39–45 (in Russian).
12. Epstein S., Ahdoot M., Marcus E., Asbell P. Evaluation of biomarkers of inflammation in response to benzalkonium chloride on corneal and conjunctival epithelial cells // *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* 2009; 25 (5): 415–424. DOI: 10.1089/jop.2008.0140

13. De Saint Jean M., Brignole F., Bringuier A.F., Bauchet A., Feldmann G., Baudouin C. Effects of benzalkonium chloride on growth and survival of Chang conjunctival cells Invest // *Ophthalmol. Vis. Sci.* 1999; 40 (3): 619–630.
14. Jushkov A.G., Shul'gina N.A., Gushhina A.A., Jushkov G.G., Rasulov M.M., Benemanskij V.V., Bun M.M. K vozmozhnosti vyjavleniya pobochnyh javlenij preparata «Metronidazol» (rastvor dlja infuzij 0,5% 100 ml) v uslovijah jeksperimenta [To identify possible side effects “Metronidazole” drug (a solution for infusion 0.5% 100 ml) under the experimental conditions] // *Bjulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo centra Sibirskogo otdelenija Rossijskoj akademii medicinskih nauk – Bulletin of the East-Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2012; 4–2 (86): 216–219 (in Russian).
15. Sukovatykh B.S., Bezhin A.I., Pankrusheva T.A., Grigoryan A.Yu., Ivanov A.V., Zhilyaeva L.V., Kobzareva E.V., Andryukhina E.G., Dubonos A.A. Ocenka ehksperimental'noj i klinicheskoy ehffektivnosti immobilizirovannoj formy hlorgeksidina v lechenii gnojnyh ran [Assessment of experimental and clinical efficacy of immobilized form of chlorhexidine in treatment of purulent wounds] // *Vestnik hirurgii im. I.I. Grekova – Bulletin of surgery named after I.I. Grekov.* 2016; 175 (1): 42–47 (in Russian).
16. Sukovatykh B.S., Bezhin A.I., Pankrusheva T.A., Grigoryan A.Yu., Zhilyaeva L.V., Kobzareva E.V., Andryukhina E.G., Mishina E.S. Lechenie gnojnyh ran immobilizirovannymi formami antiseptikov [Purulent wound treatment with immobilized antiseptic formulations] // *Vrach – The Doctor.* 2016; (3): 16–20 (in Russian).

Received January 08.2017

Accepted June 30.2017

Gorohova Anastasia S., Head of the Surgery Department, Tim Central Bistrict Hospital, Kursk Region, Kursk, Russian Federation.

Grigoryan Arsen Yu., PhD, Associate Professor, Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, KSMU, Kursk, Russian Federation.

Bezhin Alexander I., DM, Professor, Head of the Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, KSMU, Kursk, Russian Federation

Pankrusheva Tatyana A., DPhSc, Professor, Head of the Department of Pharmaceutical Technology, KSMU, Kursk, Russian Federation.

Sukovatykh Boris S., DM, Professor, Head of the Department of General Surgery, KSMU, Kursk, Russian Federation.

Zhilyaeva Ludmila V., PhD, Assistant, Department of Microbiology, Virology, Immunology, KSMU, Kursk, Russian Federation.

Mishina Ekaterina S., PhD, Assistant, Department of Histology, Embryology, Cytology, KSMU, Kursk, Russian Federation.

Kobzareva Elena V., PhD, Assistant, Department of Social Work and Life Safety, KSMU, Kursk, Russian Federation.

(✉) **Grigoryan Arsen Yu.**, e-mail: arsgrigorian@mail.ru

УДК 616.98:578.828H1V-08-035

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-52-60

Для цитирования: Гудилина Н.А., Иванова Э.С., Сибиряков А.В., Мехоношина Н.В., Ростова Н.Б., Файзрахманов Р.А. Использование кластерного анализа при разработке подходов по выбору и назначению схем лечения ВИЧ-инфицированных пациентов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 52–60

Использование кластерного анализа при разработке подходов по выбору и назначению схем лечения ВИЧ-инфицированных пациентам

Гудилина Н.А.¹, Иванова Э.С.², Сибиряков А.В.³, Мехоношина Н.В.³,
Ростова Н.Б.¹, Файзрахманов Р.А.³

¹ Пермская государственная фармацевтическая академия
Россия, 614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2

² Пермский краевой центр по борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями (ПКЦ СПИД и ИЗ)
Россия, 614088, г. Пермь, ул. Архитектора Связева, 21

³ Пермский национальный исследовательский политехнический университет
Россия, 614990, г. Пермь, пр. Комсомольский, 29

РЕЗЮМЕ

Цель исследования – формирование продукционных правил выбора комбинаций антиретровирусных препаратов пациентам с ВИЧ-инфекцией для проведения оптимальной терапии.

Материал и методы. База проведения кластерного анализа – выборка пациентов, лечение которых возможно оценить как успешное. В результате отбора случаев эффективного лечения из 123 исследованных карт пациентов, находящихся на лечении в Пермском краевом центре по борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями, в исследовании осталось 79 больных. В качестве входных параметров для проведения кластерного анализа были выбраны пол пациента, стадия основного заболевания на момент назначения антиретровирусной терапии, путь заражения ВИЧ, оппортунистические заболевания. В качестве выходной переменной принята назначенная схема лечения. Анализ лечения пациентов (79 случаев) показал, что оптимальным является решение с использованием девяти кластеров.

Результаты. Результаты проведенного анализа позволяют сформировать продукционные правила выбора антиретровирусных препаратов для создания экспертной системы, позволяющей оптимизировать рациональный выбор, назначение и использование лекарственных препаратов для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, антиретровирусная терапия, оппортунистические инфекции, вирусная нагрузка, CD4+-лимфоциты, экспертная система, кластерный анализ, метод k-средних.

ВВЕДЕНИЕ

ВИЧ-инфекция в настоящее время имеет характер пандемии, являясь одной из глобальных и наиболее значимых социальных проблем современного здравоохранения, что подтверждается

рядом международных и национальных документов [1–4].

В настоящее время для лечения ВИЧ-инфекции существуют антиретровирусные препараты (АРВП), которые позволяют подавить репродукцию вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) и снизить вирусную нагрузку (ВН), что приводит к увеличению продолжительности и улуч-

✉ Гудилина Надежда Александровна, e-mail: dina0611@gmail.com.

шению качества жизни ВИЧ-инфицированных больных, хотя и не излечивает инфекцию полностью. С целью максимальной эффективности и безопасности при минимизации риска развития резистентности ВИЧ к данным препаратам антиретровирусная терапия (АРТ) проводится с использованием как минимум трех АРВП из разных классов в соответствии с международными и Российскими рекомендациями [5, 6].

Преимущества проведения АРТ являются очевидными: частота госпитализаций, смертность и заболеваемость вторичными (далее – оппортунистическими) инфекциями снижаются на 60–80%. В связи с успехами в части лекарственной терапии ВИЧ-инфекция является на современном этапе хроническим заболеванием, которое поддается лечению и не рассматривается как неотвратимо прогрессирующий недуг [7].

Однако с увеличением количества АРВП значительно возросло количество факторов, которые необходимо учитывать при назначении оптимальной схемы АРТ для конкретного пациента, включающие в себя как различные показатели состояния и особенностей самого пациента, так и свойства, характеристики отдельных АРВП, входящих в схемы АРТ. В данных условиях выбор наиболее эффективной и безопасной АРТ для конкретного пациента является ключевой задачей врача, достижение которой зависит от анализа и правильного сопоставления разнородной информации.

Проведенный сравнительный анализ существующей практики назначений АРВП пациентам с ВИЧ-инфекцией с данными документов, регламентирующих выбор и назначение АРВП, выявил значительные расхождения между фактически назначаемыми схемами АРТ и схемами, рекомендованными как национальными, так наднациональными документами в части лекарственной терапии [8].

В качестве организационной технологии, направленной на решение вопроса эффективного выбора и назначения лекарственной терапии, может быть рассмотрена возможность оптимизации выбора конкретных АРВП, входящих в схему лечения с помощью экспертной системы, основой которой является база знаний, включающая набор продукционных правил [9].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В основу настоящего исследования положены данные о назначенном лечении 123 больным ВИЧ-инфекцией в сочетании с различными оппортунистическими заболеваниями, получающим

медицинскую помощь в ГКУЗ «Пермский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями». В качестве технологии получения правил выбора и назначения использован кластерный анализ статистических данных о назначении АРВП больным ВИЧ-инфекцией.

Для проведения кластерного анализа были выделены следующие входные параметры: пол пациента, стадия основного заболевания на момент назначения АРТ, путь заражения ВИЧ, оппортунистические заболевания (туберкулез легочный, туберкулез внелегочный, ВИЧ-энцефалопатия, инфекция, вызванная вирусом простого герпеса (ВПГ), цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ), синдром истощения, волосистая лейкоплакия, токсоплазмоз, криптококкоз внелегочный, криптококковый менингит, кандидоз слизистой оболочки полости рта (СОПР), опихомикоз стоп, микоз, фарингомикоз, герпес). В качестве выходной переменной была принята назначенная схема лечения. Все переменные были выбраны на основании заключения экспертов предметной области, которые предположили, что ряд факторов оказывают наибольшее влияние на назначение и выбор схемы лекарственной терапии.

База проведения кластерного анализа – выборка пациентов, лечение которых возможно оценить как успешное. Критерием оценки эффективности АРТ являлось достижение целевых показателей вирусной нагрузки и количества лимфоцитов CD4+. Если лечение эффективно, то вирусная нагрузка (ВН) через 48 нед должна стать ниже 40 копий/мл, а количество лимфоцитов CD4+ должно повыситься на 50–100 клеток/мкл. Если между этими критериями нет указанного соответствия, то следует ориентироваться на результаты исследования ВН, а при отсутствии возможности такого исследования – на изменение количества лимфоцитов CD4+ [10]. В результате отбора случаев эффективного лечения из 123 исследованных карт в изучении осталось 79.

Кластерный анализ наблюдений проводили с помощью метода k -средних, который относится к неиерархическим методам кластеризации, а конкретно – к итеративным. Этот алгоритм также известен как быстрый кластерный анализ. В отличие от иерархических методов, которые не требуют предварительных предположений относительно числа кластеров, для использования этого метода необходимо иметь гипотезу о наиболее вероятном количестве кластеров.

Алгоритм k -средних строит k кластеров, расположенных на возможно больших расстояниях

друг от друга. Основной тип задач, которые решает алгоритм k -средних, – наличие предположений (гипотез) относительно числа кластеров, при этом они должны быть различны настолько, насколько это возможно. Выбор числа k может базироваться на результатах предшествующих исследований, теоретических соображениях или интуиции. Общая идея алгоритма состоит в следующем: заданное фиксированное число k кластеров наблюдения сопоставляются в кластерах так, что средние в кластере (для всех переменных) максимально возможно отличаются друг от друга [11–14].

Кластеризация выполнялась в программе Statistica, универсальной интегрированной системе, предназначенной для статистического анализа, визуализации данных и разработки пользовательских приложений. В программе реализованы все новейшие компьютерные и математические методы статистического анализа данных. С од-

ной стороны, она является мощным инструментом, а с другой, – анализ осуществляется с использованием графических форм, что позволяет сократить время на обучение и проведение анализа. Кроме того, кластеризация ведется в этой системе на основе метода k -средних, что соответствует выбранному подходу к исследованию [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Процесс формирования иерархии кластеров 79 наблюдений представлен на дендрограмме, анализ которой показал, что оптимальным является решение с девятью кластерами (рис. 1). Критерием качественной разбивки на кластеры служит оценка межгрупповых и внутригрупповых дисперсий признаков. Чем больше значение межгрупповой дисперсии и меньше значение внутригрупповой, тем лучше признак описывает принадлежность пациентов к кластеру. Результаты проведенной кластеризации представлены в табл.

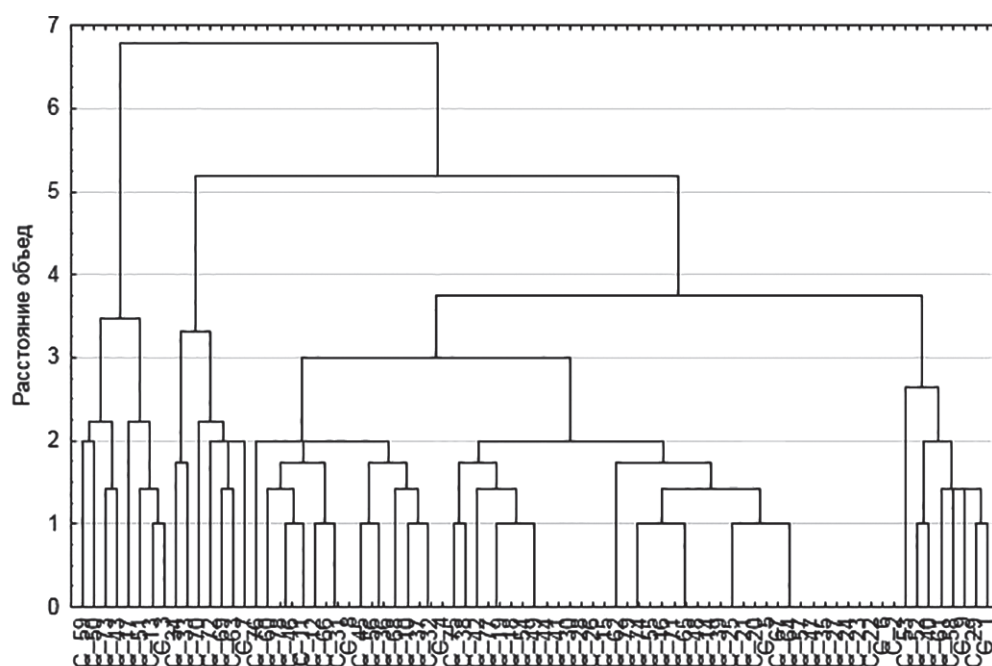


Рис. 1. Иерархическая кластеризация ВИЧ-инфицированных пациентов

Fig. 1. Hierarchical clustering of HIV-infected patients

Кластер № 1. Представлен 8 женщинами, 7 из которых имеют стадию ВИЧ 4А прогрессирующая. Пациенты имеют оппортунистические заболевания: опнохмикоз стоп (один случай), микоз (один случай). Единственным путем заражения является путь через инъекции наркотиков. Для пациентов из этого кластера назначалась схема лечения НИОТ + ИП.

Кластер № 2. Представлен 12 мужчинами, которые больны ВИЧ-инфекцией на стадии 4А

прогрессирующая. Оппортунистические заболевания: герпес (один случай). Единственным путем заражения является путь через инъекции НС. Для пациентов из этого кластера были эффективны схемы лечения НИОТ + ИП (11 случаев) либо НИОТ (один случай).

Кластер № 3. Представлен 18 женщинами, которые в двух случаях имеют третью стадию ВИЧ-инфекции, в одном случае – стадию 4А ремиссия и в 15 случаях – стадию 4А прогрес-

Т а б л и ц а

Результаты кластерного анализа Данных									
Признаки	Кластер № 1	Кластер № 2	Кластер № 3	Кластер № 4	Кластер № 5	Кластер № 6	Кластер № 7	Кластер № 8	Кластер № 9
Количество наблюдений	8	12	18	9	7	10	6	1	8
Пол	Муж.	12	–	5	6	5	3	1	5
	Жен.	–	18	4	1	5	3	–	3
Стадия заболевания	4А прогрессирующая (7 случаев)	4А прогрессирующая (12 случаев)	4А прогрессирующая (15 случаев), 4А ремиссия (1 случай), стадия 3 (2 случая)	4А прогрессирующая (9 случаев)	4Б прогрессирующая (5 случаев), 4В прогрессирующая (2 случая)	4А прогрессирующая (10 случаев)	4А прогрессирующая (6 случаев)	4А прогрессирующая (1 случай)	4Б прогрессирующая (8 случаев)
Путь заражения	Инъекции НС (8 случаев)	Инъекции НС (12 случаев)	Половой (18 случаев)	Инъекции НС (9 случаев)	Инъекции НС (5 случаев), половой (2 случая)	Инъекции НС (7 случаев), половой (3 случая)	Инъекции НС (5 случаев), половой (1 случай)	Инъекции НС (1 случай)	Инъекции НС (4 случая), половой (4 случая)
Сопутствующие заболевания	Онихомикоз стоп (1 случай), микоз (2 случая)	Герпес (1 случай)	Кандидоз СОПР (5 случаев), онихомикоз стоп (2 случая)	Кандидоз СОПР (9 случаев)	Туберкулез легочный (2 случая), туберкулез внелегочный (3 случая), ВИЧ-энцефалопатия (3 случая), волосистая лейкоплакия (1 случай), токсоплазмоз (1 случай), криптококковый менингит (1 случай), кандидоз СОПР (3 случая), лейкоэнцефалопатия (1 случай)	Туберкулез легочный (3 случая)	Волосистая лейкоплакия (1 случай), кандидоз СОПР (6 случаев)	Фарингомикоз (1 случай)	Туберкулез легочный (6 случаев), туберкулез внелегочный (1 случай), ВПГИ (1 случай), ЦМВИ (1 случай), кандидоз СОПР (4 случая)
Эффективная комбинация	НИОТ + ИП (8 случаев)	НИОТ + ИП (11 случаев), НИОТ (1 случай)	НИОТ + ИП (15 случаев), ИИ + НИОТ (2 случая), НИОТ (1 случай)	НИОТ + ИП (8 случаев), НИОТ + ИИ (1 случай)	НИОТ + ИП (7 случаев)	НИОТ + НИИОТ (10 случаев)	НИОТ + НИИОТ (5 случаев), НИОТ + ИП + ИС (1 случай)	НИОТ + НИИОТ (1 случай)	НИОТ + НИИОТ (8 случаев)

Примечание. НИОТ – нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы, ИП – ингибиторы протеазы, НИИОТ – нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы, ИС – ингибиторы слияния, ИИ – ингибиторы интегразы.

сирующая. Оппортунистические заболевания: кандидоз СОПР (пять случаев), опихомикоз стоп (два случая). Единственным путем заражения является гетеросексуальный путь. Для пациентов из этого кластера были эффективны схемы лечения ИИ + НИОТ (два случая), НИОТ+ИП (15 случаев) и НИОТ (один случай).

Кластер № 4. Смешанный кластер по половому признаку (пять мужчин и четыре женщины), при этом все больные имеют стадию заболевания 4А прогрессирующая. Оппортунистические заболевания: туберкулез легочный (один случай). Все пациенты больны кандидозом СОПР. Единственным путем заражения является путь через инъекции НС. Для пациентов из этого кластера были эффективны схемы лечения НИОТ + ИИ (один случай) либо НИОТ + ИП (восемь случаев).

Кластер № 5. Смешанный кластер по половому признаку (шесть мужчин и одна женщина). В пяти случаях пациенты страдают ВИЧ-инфекцией со стадией 4Б прогрессирующая, а в двух случаях – 4В прогрессирующая. Оппортунистические заболевания: туберкулез легочный (два случая), туберкулез внелегочный (три случая), ВИЧ-энцефалопатия (три случая), волосистая лейкоплакия (один случай), токсоплазмоз (один случай), криптококковый менингит (один случай), кандидоз СОПР (три случая), лейкоэнцефалопатия (один случай). Основным путем заражения является путь через инъекции наркотиков (пять случаев), но в двух случаях пациенты заразились через гетеросексуальный контакт. Для пациентов из этого кластера была эффективна схема лечения НИОТ + ИП.

Кластер № 6. Представлен в равной степени как мужчинами, так и женщинами (пять мужчин и пять женщин). Все больные имеют стадию заболевания 4А прогрессирующая. Оппортунистические заболевания: туберкулез легочный (три случая). Основным путем заражения является путь через инъекции НС (семь случаев), но в трех случаях пациенты заразились через гетеросексуальный контакт. Для пациентов из этого кластера была эффективна схема лечения НИОТ + ННИОТ.

Кластер № 7. Представлен в равной степени как мужчинами, так и женщинами (три мужчины и три женщины). Все больные имеют стадию заболевания 4А прогрессирующая. Оппортунистические заболевания: волосистая лейкоплакия (один случай). Все пациенты больны кандидозом СОПР. Основным путем заражения является путь через инъекции НС (пять случаев), но в одном случае пациент заразился через гетеросексуальный контакт. Для пациентов из этого кла-

стера были эффективны схемы лечения НИОТ + ННИОТ (5 случаев) и НИОТ + ИП + ИС (1 случай).

Кластер № 8. Представлен одним пациентом – мужчиной со стадией 4А прогрессирующая. Оппортунистические заболевания: фарингомикоз. Путь заражения – через инъекции НС. Для пациента из этого кластера была эффективна схема лечения НИОТ + ННИОТ.

Кластер № 9. Смешанный кластер по половому признаку (пять мужчин и три женщины), включает пациентов со стадией ВИЧ-инфекции 4Б прогрессирующая. Оппортунистические заболевания: туберкулез легочный (шесть случаев), туберкулез внелегочный (один случай), ВПГИ (один случай), ЦМВИ (один случай), кандидоз СОПР (четыре случая). Равновероятными путями заражения являются инъекции НС и гетеросексуальный контакт. Для пациентов из этого кластера была эффективна схема лечения НИОТ+ННИОТ.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенный анализ позволил выявить кластеры по назначаемым классам АРВП (рис. 2). Как видно из рис. 2, терапия схемой НИОТ + ИП оказалась наиболее эффективной для пациентов, отвечающих параметрам пяти кластеров (№ 1–5), что соответствует 49 (52%) наблюдениям из 79. В данные кластеры входят и мужчины, и женщины, у большинства из которых установлена стадия заболевания 4А. Равновероятными путями заражения являются инъекции НС и гетеросексуальные контакты. Случаи, входящие в данные пять кластеров, охватывают большинство оппортунистических заболеваний, встречающихся у исследуемой выборки (11 оппортунистических заболеваний из 15). Терапия схемой НИОТ + ННИОТ оказалась наиболее эффективной для пациентов, отвечающих параметрам четырех кластеров (№ 6–9), которые содержат в общей сложности 24 (30%) наблюдения из 79. Преимущественно в данные кластеры входят мужчины. Большинство пациентов заразились посредством инъекций НС. Случаи, входящие в данные четырех кластеров, охватывают семь из 15 оппортунистических заболеваний, встречающихся в исследуемой выборке.

Результаты кластерного анализа показали, что одним из критериев выбора оптимальной эффективной схемы АРТ является оценка входных параметров, включающих в себя пол пациента, стадию основного заболевания на момент назначения антиретровирусной терапии, путь заражения ВИЧ и оппортунистические заболевания.

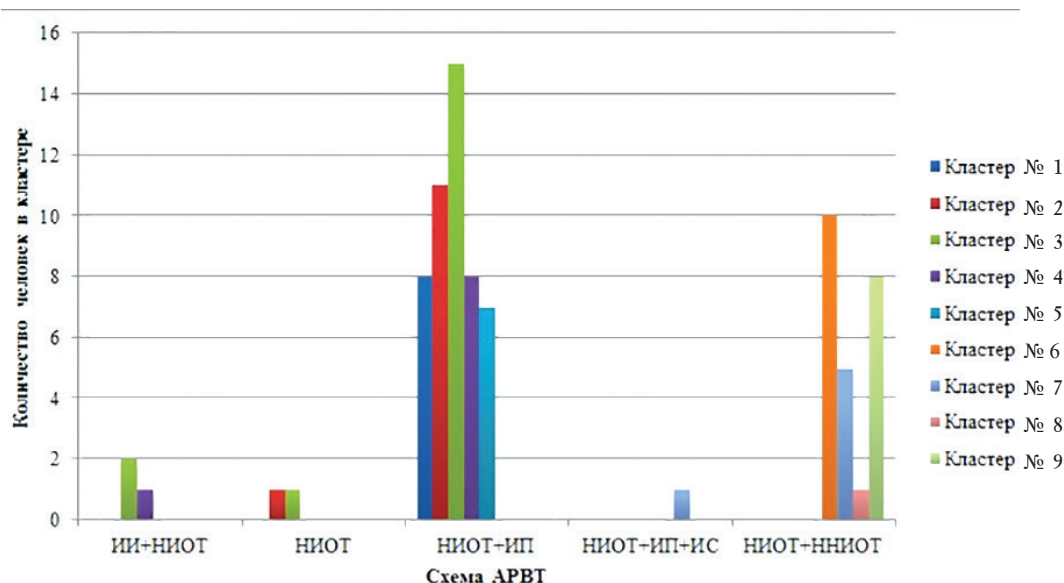


Рис. 2. Распределение пациентов по схемам антиретровирусной терапии в рамках кластеров

Fig. 2. Patient distribution according to antiretroviral therapy regimens within the clusters

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Набор продукционных правил назначения схемы АРВТ для лечения больных ВИЧ-инфекцией, сформированный из характеристик полученных кластеров, будет использован в качестве основы базы знаний при создании экспертной системы, которая позволит оптимизировать выбор конкретных АРВП в схемах АРТ пациентам с ВИЧ-инфекцией. Использование экспертных систем в области назначения терапии ВИЧ-инфицированным пациентам открывает следующие возможности:

Повышение эффективности терапии вследствие обоснованности сделанных назначений и сокращения времени принятия решения по выбору АРВП.

Снижение нагрузки на персонал медицинских организаций.

Повышение качества образования как при обучении студентов, так и при повышении квалификации медицинского персонала.

Повышение экономической эффективности расходования финансовых средств, выделяемых на лекарственное обеспечение вследствие рационального расходования имеющихся лекарственных ресурсов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи, и сообщают о вкладе авторов. Гудилина Н.А., Ростова Н.Б.,

Мехоношина Н.В., Сибиряков А.В. – разработка концепции, дизайна, анализ и интерпретация данных. Ростова Н.Б., Гудилина Н.А. – обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания. Ростова Н.Б., Иванова Э.С., Файзрахманов Р.А. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Всемирная организация здравоохранения [Электронный ресурс]: Режим доступа: <http://www.who.int/ru> (Дата обращения: 21.12.2016).
2. Постановление Правительства РФ от 01.12.2004 № 715 (ред. от 13.07.2012) «Об утверждении перечня социально значимых заболеваний и перечня заболеваний, представляющих опасность для окружающих» Электронный доступ: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_50559/ (Дата обращения 10.10.2016).
3. Чернявская О.А., Иоанниди Е.А., Макарова И.В., Тимонова М.С. Лечение ВИЧ-инфекции // *Лекарственный вестник*. 2010; 6 (38): 3–9.
4. Смольская Т.Т. Профилактика ВИЧ-инфекции и её роль в контексте будущего эпидемии в Российской Федерации // *Экология человека*. 2012; 2: 47–54.
5. Покровский В.В., Юрин О.Г., Кравченко А.В., Беляева В.В., Канестри В.Г., Афонина А.Ю., Ермак Т.Н., Буравцова Е.В., Шахгильдян В.И., Козырина Н.В., Нарсия Р.С., Зимина В.Н., Покровская А.В., Ефремова О.С. Национальные рекомендации по диспансерному на-

- блюдению и лечению больных ВИЧ-инфекцией (клинический протокол) // *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2015; 6: 120.
6. Сводное руководство по использованию антиретровирусных препаратов для лечения и профилактики ВИЧ-инфекции. Краткий обзор основных особенностей и рекомендаций // *ВОЗ*. 2013: 16.
7. Hogg R.S., O'Shaughnessy M.V., Gataric N., Yip B., Craib K., Schechter M.T., Montaner J.S. Decline in deaths from AIDS due to new antiretrovirals (letter) // *The Lancet*. 1997; 349: 1294.
8. Ростова Н.Б., Иванова Э.С., Гудилина Н.А., Киселева О.В. Антиретровирусная терапия: подходы к лечению и реальная практика назначений при лечении ВИЧ-инфицированных пациентов // *Медицинский альманах*. 2016; 1: 112–116.
9. Гаврилова Т.А., Хорошевский В.Ф. Базы знаний интеллектуальных систем. СПб.: Питер, 2000: 384.
10. Клинические протоколы по лечению и помощи при ВИЧ/СПИДе для европейского региона ВОЗ // *ВОЗ*. 2007; 18–20.
11. Data Mining [Электронный ресурс]: Режим доступа: <http://www.intuit.ru/studies/courses/6/6/info> (Дата обращения: 11.01.2017).
12. Волкова Е.П., Зияутдинов В.С. Анализ корректности кластеризации данных методами нечеткого кластерного анализа // *Труды международного симпозиума надежность и качество*. 2010; 1: 383–385.
13. Карабинцева Н.О., Потеряева Е.А., Мошкова Л.В. Кластерные подходы к анализу профессиональной заболеваемости на примере сибирского федерального округа // *Медицина труда и промышленная экология*. 2010; 5: 37–40.
14. Григорьев А.А. Кластерный анализ как инструмент обработки данных при анализе информационных систем // *Известия российского экономического университета им. Г.В. Плеханова*. 2013; 1 (11): 36–48.
15. Стукач О.В. Программный комплекс STATISTICA в решении задач управления качеством: учебное пособие. Томск: Издательство Томского политехнического университета, 2011: 163.

Поступила в редакцию 06.02.2017

Утверждена к печати 30.06.2017

Гудилина Надежда Александровна, аспирант кафедры управления и экономики фармации, Пермская государственная фармацевтическая академия, г. Пермь.

Иванова Эльвира Сергеевна, канд. мед. наук, зав. отделом лечебной помощи, ПКЦ СПИД и ИЗ, г. Пермь.

Сибиряков Андрей Валерьевич, магистр кафедры информационных технологий и автоматизированных систем, Пермский национальный исследовательский политехнический университет, г. Пермь.

Мехоношина Наталья Викторовна, магистр кафедры информационных технологий и автоматизированных систем, Пермский национальный исследовательский политехнический университет, г. Пермь.

Ростова Наталья Борисовна, д-р фарм. наук, профессор, кафедра управления и экономики фармации, Пермская государственная фармацевтическая академия, г. Пермь.

Файзрахманов Рустам Абубакирович, д-р эконом. наук, профессор, зав. кафедрой информационных технологий и автоматизированных систем, Пермский национальный исследовательский политехнический университет, г. Пермь.

(✉) Гудилина Надежда Александровна, e-mail: dina0611@gmail.com.

УДК 616.98:578.828H1V-08-035

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-52–60

For citation: Gudilina N.A., Ivanova E.S., Sibiryaikov A.V., Mekhonoshina N.V., Rostova N.B., Fayzrakhmanov R.A. The use of cluster analysis at the development of approaches on selection and administration of treatment to HIV-infected patients. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 52–60

The use of cluster analysis at the development of approaches on selection and administration of treatment to HIV-infected patients

Gudilina N.A.¹, Ivanova E.S.², Sibiryaikov A.V.³, Mekhonoshina N.V.³,
Rostova N.B.¹, Fayzrakhmanov R.A.³

¹ Perm State Pharmaceutical Academy
2, Polevaya Str., Perm, 614990, Russian Federation

² Perm Regional Center for Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases
21, Arbitectora Sviyazeva Str., Perm, 614088, Russian Federation

³ Perm National Research Polytechnical University
29, Komsomolskiy Av., 614990, Perm, Russian Federation

ABSTRACT

The purpose of the study is the formation production rules for selecting combinations of antiretroviral drugs for patients with HIV infection for optimal therapy.

Materials and methods. The cluster analysis base is the choice of patients whose treatment can be assessed as successful. As a result of the selection of effective treatment cases, 79 patients were left in the study out of 123 examined cards of patients treated at the Perm Regional AIDS and Infectious Diseases Center. As input parameters for the cluster analysis, the patient's sex, the stage of the main disease at the time of antiretroviral therapy, the way of HIV infection, and presence of opportunistic diseases were selected. As an output variable, the prescribed treatment regimen was adopted. Analysis of treatment of patients (79 cases) showed that the optimal solution is using nine clusters.

Results. The results of this analysis allow us to formulate production rules for the selection of antiretroviral drugs to create an expert system that allows us to optimize the rational choice, designation and use of drugs for the treatment of HIV-infected patients.

Key words: HIV infection, antiretroviral therapy, opportunistic infections, viral load, CD4⁺-lymphocytes, expert system, cluster analysis, k-means method.

REFERENCES

1. Vsemirnaya organizatsiya zdavookhraneniya [World Health Organization] [Elektronnyy resurs]: Rezhim dostupa: <http://www.who.int/ru> (Data obrashcheniya: 21.12.2016) (in Russian).
2. Postanovlenie Pravitel'stva RF ot 01.12.2004 № 715 (red. ot 13.07.2012) "Ob utverzhdenii perechnya sotsial'no znachimykh zabolevaniy i perechnya zabolevaniy, predstavlyayushchikh opasnost' dlya okruzhayushchikh" [On approving the list of socially significant diseases and the list of hazardous conditions to others] Elektronnyy dostup: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_50559/ (Data obrashcheniya 10.10.2016) (in Russian).
3. Chernyavskaya O.A., Ioannidi E.A., Makarova I.V., Timonova M.S. Lechenie VICH-infektsii [Treatment of HIV Infection] // *Lekarstvennyy vestnik – Medicinal Herald*. 2010; 6 (38): 3–9 (in Russian).
4. Smol'skaya T.T. Profilaktika VICH-infektsii i ee rol' v kontekste budushchego epidemii v Rossiyskoy Federatsii [Prevention of HIV and its role in the context of the future of the epidemic in the Russian Federation] // *Ekologiya cheloveka – Human Ecology*. 2012; 2: 47–54 (in Russian).
5. Pokrovskiy V.V., Yurin O.G., Kravchenko A.V., Belyaeva V.V., Kanestri V.G., Afonina L.Yu., Ermak T.N., Buravtsova E.V., Shakhgil'dyan V.I., Kozyrina N.V., Narsiya R.S., Zimina V.N., Pokrovskaya A.V., Efremova O.S. Natsional'nye rekomendatsii po dispansernomu nablyudeniyu i lecheniyu bol'nykh VICH-infektsiei (klinicheskiy protokol) [National recommendations for dispensary observation and treatment of patients with HIV infection (Clinical protocol)] // *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni. Aktual'nye voprosy – Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items*. 2015; 6: 120 (in Russian).
6. Svodnoe rukovodstvo po ispol'zovaniyu antiretrovirusnykh preparatov dlya lecheniya i profilaktiki VICH-infektsii. Kratkiy obzor osnovnykh osobennostey i rekomendatsiy [Consolidated guidance on the use of antiretroviral drugs for the treatment and prevention of HIV infection. A brief overview of the main features and recommendations] // *VOZ – WHO*. 2013: 16 (in Russian).
7. Hogg R.S., O'Shaughnessy M.V., Gataric N., Yip B., Craib K., Schechter M.T., Montaner J.S. Decline in deaths from AIDS due to new antiretrovirals (letter) // *The Lancet*. 1997; 349: 1294.
8. Rostova N.B., Ivanova E.S., Gudilina N.A., Kiseleva O.V. Antiretrovirusnaya terapiya: podkhody k lecheniyu i real'naya praktika naznacheniy pri lechenii VICH-infitsirovannykh patsientov [Antiretroviral therapy: approaches to treatment and the actual practice of appointments in the treatment of HIV-infected patients] // *Meditinskiy al'manakh – Medical Almanac*. 2016; 1: 112–116 (in Russian).
9. Bazy znaniy intellektual'nykh sistem [Knowledge Base of Intelligent Systems] / T.A. Gavrilova, V.F. Khoroshevskiy. SPb.: Piter Publ., 2000: 384 (in Russian).
10. Klinicheskie protokoly po lecheniyu i pomoshchi pri VICH/SPIDE dlya evropeyskogo regiona VOZ [Clinical protocols for the treatment and care of HIV / AIDS for the European Region of WHO] // *VOZ – WHO*. 2007; 18–20 (in Russian).
11. Data Mining [Elektronnyy resurs]: Rezhim dostupa: <http://www.intuit.ru/studies/courses/6/6/info> (Data obrashcheniya: 11.01.2017) (in Russian).

12. Volkova E.P., Ziyautdinov V.S. Analiz korrektnosti klasterizatsii dannykh metodami nechetkogo klasterного analiza [An analysis of the correctness of data clustering methods of fuzzy cluster analysis] // *Trudy mezhdunarodnogo simpoziuma nadezhnost' i kachestvo – The International Symposium «RELIABILITY and QUALITY»*. 2010; 1: 383–385 (in Russian).
13. Karabintseva N.O., Poteryaeva E.L., Moshkova L.V. Klasterные podkhody k analizu professional'noy zabolevaemosti na primere sibirskogo federal'nogo okruga [The cluster approach to the analysis of occupational diseases by the example of the Siberian Federal District] // *Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya – Occupational Medicine and Industrial Ecology*. 2010; 5: 37–40 (in Russian).
14. Gpigop'ev A.A. Klasterный analiz kak instrument obrabotki dannykh pri analize informatsionnykh system [Cluster analysis as a data processing tool in the analysis of information systems] // *Izvestiya rossiyskogo ekonomicheskogo universiteta im. G.V. Plekhanova – Publishing center of Plekhanov Russian University of Economics*. 2013; 1 (11): 36–48 (in Russian).
15. Stukach O.V. Programnyy kompleks STATISTICA v reshenii zadach upravleniya kachestvom: uchebnoe posobie [STATISTICA software package in solving quality control problems] Tomsk: Izdatel'stvo Tomskogo politekhnicheskogo universiteta, 2011: 163 (in Russian).

Received February 06.2017

Accepted June 30.2017

Gudilina Nadezhda A., Postgraduate Student of the Department of Management and Economics of Pharmacy, Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russian Federation.

Ivanova El'vira S., PhD, Department Manager of Medical Care, Perm Regional Center for Prevention and Control of AIDS and Infectious Diseases, Perm, Russian Federation.

Sibiriyakov Andrey V., Master of the Department of Information Technologies and Automated Systems, Perm National Research Polytechnical University, Perm, Russian Federation.

Mekhonoshina Natal'ya V., Master of the Department of Information Technologies and Automated Systems, Perm National Research Polytechnical University, Perm, Russian Federation.

Rostova Natal'ya B., DPhSc, Professor, Department of Management and Economics of Pharmacy, Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russian Federation.

Fayzrakhmanov Rustam A., DESc, Professor, Head of the Department Information Technologies and Automated Systems, Perm National Research Polytechnical University, Perm, Russian Federation.

(✉) **Gudilina Nadezhda A.**, e-mail: dina0611@gmail.com.

УДК 616.316-007.61-092.9—021.6-076

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-61-69

Для цитирования: Иванова В.В., Мильто И.В., Суходоло И.В., Дзюман А.Н. Моделирование гипертрофии больших слюнных желез у неполовозрелых крыс: морфометрическая и гистохимическая характеристика эпителиоцитов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 61–69

Моделирование гипертрофии больших слюнных желез у неполовозрелых крыс: морфометрическая и гистохимическая характеристика эпителиоцитов

Иванова В.В.¹, Мильто И.В.^{1,2}, Суходоло И.В.¹, Дзюман А.Н.¹

¹ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

² Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Оценить морфофункциональное состояние эпителиальных клеток ацинусов и протоков больших слюнных желез неполовозрелых крыс при гипертрофии, вызванной многократной ампутацией резцов.

Материал и методы. Эксперимент проведен на неполовозрелых (20 сут) самцах белых крыс, разделенных на три группы: интактная, контрольная и группа крыс, подвергшихся многократной ампутации резцов. Выведение животных из эксперимента осуществляли на 2-ю, 3-, 4-, 6-, 8-, 10- и 12-ю нед после первой ампутации резцов. Морфофункциональное состояние больших слюнных желез крыс оценивали гистологически (гематоксилин и эозин), гистохимически (альциановый синий, ШИК-реакция, по Браше) и морфометрически (площадь ацинусов, удельный объем внутридольковых протоков).

Результаты. При многократной ампутации резцов у неполовозрелых самцов крыс на 2–4-й нед эксперимента наблюдались увеличение площади ацинусов и снижение удельного объема внутридольковых протоков поднижнечелюстных желез. В клетках концевых отделов поднижнечелюстных желез на 3-й нед эксперимента пиронинофилия цитоплазмы менее, а интенсивность ШИК-реакции – более выражена, чем у интактных животных. При многократной ампутации резцов у неполовозрелых крыс морфофункциональных изменений эпителиоцитов околоушных и подъязычных желез не наблюдалось.

Заключение. Многократная ампутация резцов у неполовозрелых самцов крыс в ранние сроки эксперимента (2–4-я нед) приводит к гипертрофии клеток ацинусов поднижнечелюстных желез, накоплению в них гликопротеинов и ослаблению синтеза РНК. Гипертрофия клеток ацинусов сопровождается замедлением развития эпителиоцитов гранулярных извитых трубок, которые являются местом синтеза и секреции эндокринных биологически активных факторов поднижнечелюстных желез.

Ключевые слова: гипертрофия, большие слюнные железы, морфофункциональная характеристика.

ВВЕДЕНИЕ

Для изучения адаптивно-приспособительных реакций и патологических процессов больших слюнных желез (БСЖ) часто необходимо созда-

ние модели их гипертрофии. Одним из наиболее распространенных способов моделирования гипертрофии БСЖ у грызунов является повторяющаяся ампутация резцов. Разработаны подробные протоколы подрезания резцов, обеспечивающие развитие гипертрофии БСЖ [1]. При

✉ Иванова Вера Владимировна, e-mail: ivvera92@rambler.ru.

повторяющейся ампутации резцов у грызунов наблюдалось увеличение веса БСЖ, а также площади их ацинусов. Целью исследования явилась оценка морфофункционального состояния эпителиальных клеток БСЖ крыс при многократной ампутации резцов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Белые беспородные неполовозрелые (возраст 20 сут, масса тела $(45 \pm 10 \text{ г})$) самцы крыс, включенные в эксперимент, были разделены на три группы: интактные (ИН) крысы ($n = 28$), контрольные (К, $n = 28$), подвергшиеся многократной ампутации резцов (АР, $n = 35$). Крысам группы АР под эфирным наркозом осуществляли ампутацию нижних резцов до уровня 1–2 мм выше десневого края с промежутком в 2 сут в течение 2 нед (всего пять ампутаций), тогда как крысы группы К в аналогичные сроки подвергались исключительно процедуре наркотизации. Животных выводили из эксперимента на 2-ю, 3-, 4-, 6-, 8-, 10- и 12-ю нед после первой ампутации резцов асфиксией углекислым газом.

Большие слюнные железы (околоушные, поднижнечелюстные и подъязычные) для гистологического исследования фиксировали в 10%-м формалине (рН 7,4) и заливали в парафиновую смесь. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, альциановым синим (рН 2,5) для выявления гликозаминогликанов (ГАГ), по Браше для определения РНК, проводили ШИК-реакцию с целью обнаружения гликопротеинов. Инкубация срезов с α -амилазой не вызывала изменения интенсивности и распределения ШИК-позитивного окрашивания в БСЖ. Обработка срезов БСЖ раствором РНКазы приводила к исчезновению пиронинофилии. Удельный объем внутридольковых протоков БСЖ и сероцитов подъязычных желез определяли методом точечного счета [2]. Площадь ацинусов БСЖ измеряли при помощи программы ImageJ 1.48.

Для проверки закона распределения количественных показателей применялся критерий Шапиро – Уилка, для сравнения средних в группах и в динамике применялся однофакторный дисперсионный анализ для независимых выборок и для повторных измерений, для апостериорных парных сравнений использовали поправку Бонферрони (SPSS 17.0). Так как данные соответствуют нормальному закону распределения, результаты морфометрического исследования представлены в виде выборочного среднего и стандартного отклонения $M \pm \sigma$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Строма БСЖ животных всех экспериментальных групп – без особенностей, сосуды микроциркуляторного русла больших слюнных желез крыс групп ИН и К – полнокровны на протяжении всего эксперимента. Тучные клетки определялись в междольковой соединительной ткани всех БСЖ, в поднижнечелюстных железах они в большом количестве присутствовали также во внутридольковой строме перидуктально и периваскулярно.

В околоушных и поднижнечелюстных слюнных железах крыс групп ИН и К обнаруживались исключительно белковые концевые отделы. Их эпителиоциты имели пирамидальную форму, базофильную цитоплазму и базально расположенное округлое ядро с 1–2 ядрышками. В подъязычных железах крыс групп ИН и К можно выделить два типа ацинусов: слизистые и смешанные. Слизистые ацинусы состояли из мукоцитов, тогда как смешанные представлены центрально расположенными мукоцитами и сероцитами, формирующими серозные полулуния (полулуния Джигануцци) по периферии. Мукоциты представляли собой клетки пирамидальной или призматической формы. Секреторные гранулы со слабо базофильным содержимым заполняли практически весь объем цитоплазмы, оттесняя темное уплощенное ядро к базальному полюсу клетки. Сероциты – клетки кубической или неправильной формы, по размеру меньше мукоцитов, с выраженной базофилией цитоплазмы, а также округлым центрально расположенным ядром.

В БСЖ крыс групп ИН и К протоковая система представлена внутридольковыми (вставочными, исчерченными), междольковыми и главным выводным протоками. Гранулярные извитые трубки определялись исключительно в поднижнечелюстных железах пубертатных (45-суточных) и половозрелых (60-суточных) крыс. Эпителий вставочных протоков БСЖ представлен плоскими или кубическими клетками с крупным уплощенным или округлым ядром и интенсивно оксифильной цитоплазмой. Кубические, или столбчатые, эпителиоциты исчерченных протоков БСЖ характеризовались наличием центрально расположенного округлого светлого ядра, эозинофильной цитоплазмы и базальной исчерченности. Клетки гранулярных извитых трубок представляли собой столбчатые эпителиоциты с базально расположенным овальным ядром; средняя и апикальная часть цитоплазмы заполнена округлыми оксифильными гранулами. У крыс

групп ИН и К с 3-й нед эксперимента на границе вставочных и исчерченных протоков начинали определяться единичные клетки гранулярных извитых трубок, их количество нарастало к концу эксперимента.

У крыс группы АР на 3-й нед эксперимента в БСЖ наблюдался умеренный перидуктальный и периваскулярный отек. Вакуолизация цитоплазмы мукоцитов и сероцитов ацинусов подъязычных и поднижнечелюстных желез, соответственно, крыс группы АР выражена в большей степени, чем у интактных животных на 3-й нед эксперимента. Единичные клетки гранулярных извитых

трубок поднижнечелюстных желез крыс группы АР впервые появлялись на 4-й нед эксперимента, их количество нарастало к концу эксперимента, оставаясь сниженным по сравнению с таковым у интактных животных.

Морфометрические и гистохимические показатели контрольных и интактных животных не отличались, поэтому ниже описываются исключительно показатели крыс группы ИН. Увеличения площади ацинусов околоушных и подъязычных желез в ответ на многократную ампутацию резцов у неполовозрелых крыс не наблюдалось ($p > 0,05$, табл. 1).

Т а б л и ц а 1

Площадь ацинусов больших слюнных желез неполовозрелых крыс, мкм ² , $M \pm \sigma$							
Группа	Срок эксперимента, нед						
	2	3	4	6	8	10	12
<i>Площадь ацинусов околоушных слюнных желез неполовозрелых крыс</i>							
ИН ($n = 28$)	411,5 $\pm$ 118,1	527,8 $\pm$ 102,5	848,8 $\pm$ 163,7 #	747,4 $\pm$ 222,9 #	947,1 $\pm$ 325,9 #	1574,9 $\pm$ 392,7 #	1197,7 $\pm$ 421,6 #
К ($n = 28$)	695,0 $\pm$ 2134	515,0 $\pm$ 82,4 #	702,5 $\pm$ 223,4	789,6 $\pm$ 143,8 #	881,8 $\pm$ 209,5 #	1390,1 $\pm$ 405,2 #	1218,3 $\pm$ 315,6 #
АР ($n = 35$)	695,0 $\pm$ 2134	487,0 $\pm$ 99,1 #	629,4 $\pm$ 143,7	801,9 $\pm$ 291,2 #	841,8 $\pm$ 134,7 #	1356,7 $\pm$ 392,7 #	1223,8 $\pm$ 357,8 #
<i>Площадь ацинусов подъязычных слюнных желез неполовозрелых крыс</i>							
ИН ($n = 28$)	985,3 $\pm$ 304,2	1184,8 $\pm$ 329,7	1195,2 $\pm$ 267,4	1272,2 $\pm$ 407,4	990,4 $\pm$ 293,3	1184,8 $\pm$ 329,7	1103,8 $\pm$ 231,4
К ($n = 28$)	1107,2 $\pm$ 378,2	1028,3 $\pm$ 256,1	1224,7 $\pm$ 213,6	1158,3 $\pm$ 293,5	1375,1 $\pm$ 334,9	1102,0 $\pm$ 414,6	1163,4 $\pm$ 256,7
АР ($n = 35$)	1114,4 $\pm$ 226,0	934,3 $\pm$ 304,2	1145,4 $\pm$ 223,4	1212,8 $\pm$ 396,0	1273,1 $\pm$ 315,1	1179,6 $\pm$ 385,8	1216,9 $\pm$ 348,1
<i>Площадь ацинусов поднижнечелюстных слюнных желез неполовозрелых крыс</i>							
ИН ($n = 28$)	564,5 $\pm$ 124,6	604,7 $\pm$ 119,6 #	557,1 $\pm$ 112,8	1151,6 $\pm$ 316,4 #	759,3 $\pm$ 189,5 #	782,6 $\pm$ 236,9 #	918,0 $\pm$ 274,2 #
К ($n = 28$)	524,5 $\pm$ 84,3	595,0 $\pm$ 94,6 #	543,5 $\pm$ 128,6 #	997,1 $\pm$ 291,6 #	733,1 $\pm$ 221,5 #	762,2 $\pm$ 215,6 #	894,6 $\pm$ 252,9 #
АР ($n = 35$)	754,6 $\pm$ 557,9	737,2 $\pm$ 211,6 *	847,1 $\pm$ 313,7 *	1623,1 $\pm$ 478,3 #*	891,1 $\pm$ 259,8	819,9 $\pm$ 302,8	874,3 $\pm$ 224,9

* отличие от аналогичного показателя животных интактной группы; # отличие от показателя этой же группы на 2-ю нед, достигнутый уровень значимости $p < 0,05$.

Удельный объем сероцитов подъязычных желез крыс группы АР на 3–4-й нед эксперимента выше ($p < 0,01$), чем у интактных животных (табл. 2, рис. 1). Площадь ацинусов в поднижнечелюстных железах крыс АР группы на 3-й, 4- и 6-й нед эксперимента выше ($p < 0,05$), чем аналогичные показатели у интактных животных (см. табл. 1, рис. 2).

В околоушных и подъязычных железах животных группы АР удельный объем внутридольковых протоков не отличался от такового интактных крыс ($p > 0,05$, см. табл. 2). У крыс групп ИН и АР удельный объем внутридольковых протоков поднижнечелюстных желез увеличивался к

12-й нед эксперимента (табл. 3). На 2-й нед эксперимента этот показатель меньше аналогичного у интактных животных ($p < 0,05$).

В строме БСЖ крыс альциановым синим окрашивались гранулы тучных клеток и основное вещество соединительной ткани. Эпителиоциты ацинусов и протоков околоушных и поднижнечелюстных желез крыс, а также содержимое протоков не воспринимали альциановый синий. В слизистых и смешанных ацинусах подъязычных желез крыс группы ИН наблюдалось интенсивное позитивное окрашивание цитоплазмы мукоцитов (см. рис. 1). Просветы исчерченных и междольковых протоков были заполнены пенным

содержимым или плотными агломератами, которые окрашивались альциановым синим. Визуально различий в распределении и интенсивности окрашивания альциановым синим паренхимы и стромы БСЖ крыс групп ИН и АР не наблюдалось.

Гликопротеины основного вещества стромы, гранулы тучных клеток БСЖ ШИК-позитивны. Для эпителиоцитов ацинусов околоушных желез

крыс группы ИН характерно диффузное цитоплазматическое ШИК-позитивное окрашивание. Клетки вставочных протоков околоушных желез характеризовались наличием в цитоплазме пылевидных интенсивно ШИК-позитивных гранул. Просветы внутридольковых протоков околоушных желез были заполнены интенсивно позитивным гранулярным или пенистым содержимым.

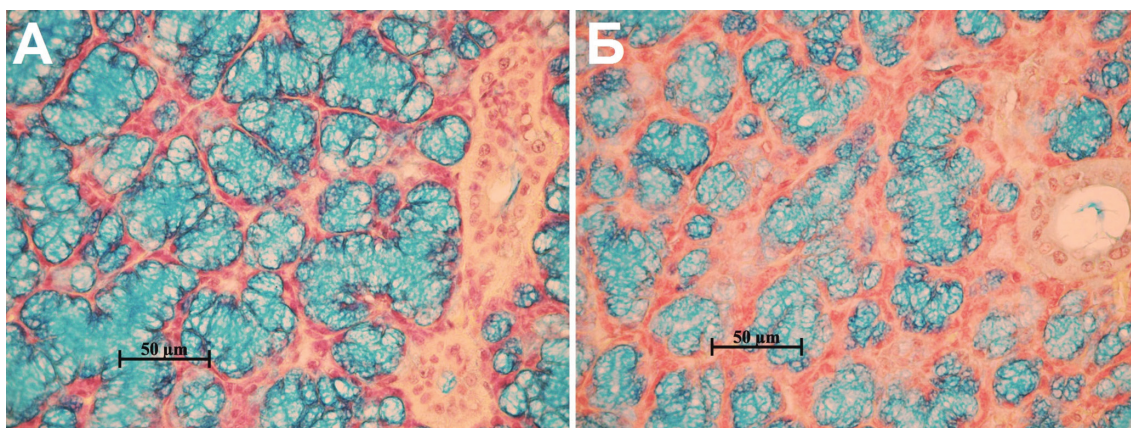


Рис. 1. Подъязычные железы intactной (А) и подвергшейся многократной ампутации резцов (Б) крысы, 4-я нед эксперимента. Увеличение удельного объема сероцитов (Б). Окраска альциановым синим

Fig. 1. Sublingual glands of intact (A) and repeatedly amputated incisor (B) rats, 4 weeks of the experiment. Increase in the specific volume of serocytes (B). Staining with alcian blue

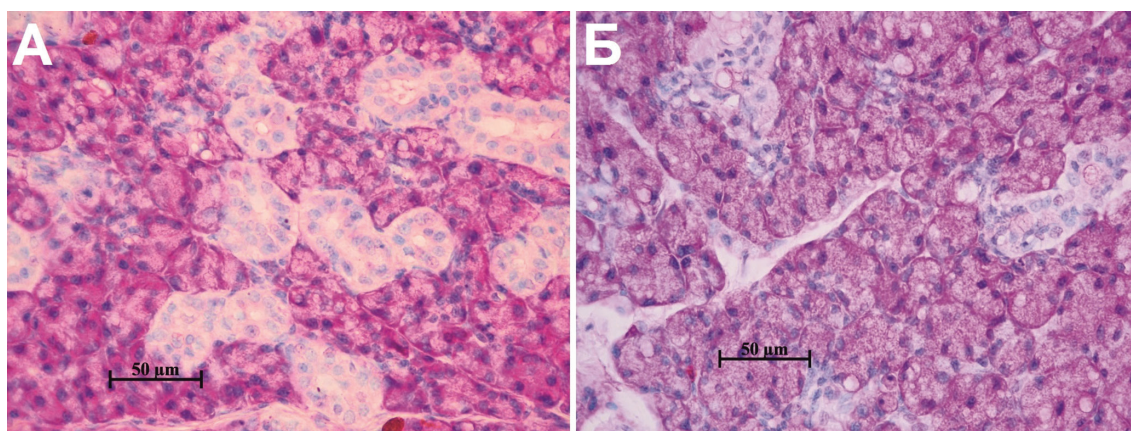


Рис. 2. Поднижнечелюстная железа intactной (А) и подвергшейся многократной ампутации резцов (Б) крысы, 3-я нед эксперимента. Увеличение площади ацинусов и уменьшение объемной плотности внутридольковых протоков, вакуолизация цитоплазмы клеток ацинусов при моделировании гипертрофии железы (Б). Окраска по Браше

Fig. 2. Submandibular gland of intact (A) and repeatedly amputated incisor (B) rats, 3 weeks of the experiment. Increase in acini size and decrease in the volume density of intralobular ducts, vacuolization of cytoplasm of acinus cells in modeling of glandular hypertrophy (B). Staining by Brachet

Т а б л и ц а 2

Удельный объем сероцитов ацинусов подъязычных желез неполовозрелых крыс, %, $M \pm \sigma$							
Группа	Срок эксперимента, нед						
	2	3	4	6	8	10	12
ИН ($n = 28$)	$18,13 \pm 2,25$	$15,34 \pm 1,17$	$16,78 \pm 3,14$	$16,50 \pm 2,34$	$16,93 \pm 4,11$	$15,94 \pm 2,68$	$17,01 \pm 3,72$
К ($n = 28$)	$17,02 \pm 3,12$	$16,58 \pm 2,04$	$18,34 \pm 2,72$	$15,92 \pm 3,98$	$17,36 \pm 5,20$	$15,84 \pm 3,46$	$16,24 \pm 3,28$
АР ($n = 35$)	$16,09 \pm 3,45 *$	$23,50 \pm 0,95 *$	$28,63 \pm 5,11 \#$	$15,47 \pm 1,87$	$18,59 \pm 4,02$	$17,15 \pm 2,24$	$15,42 \pm 3,06 \#$

* отличие от аналогичного показателя животных intactной группы; # отличие от показателя этой же группы на 2-ю нед, достигнутый уровень значимости $p < 0,01$.

Т а б л и ц а 3

Удельный объем внутридольковых протоков больших слюнных желез неполовозрелых крыс, %, $M \pm \sigma$							
Группа	Срок эксперимента, нед						
	2	3	4	6	8	10	12
<i>Удельный объем внутридольковых протоков околушних желез неполовозрелых крыс</i>							
ИН ($n = 28$)	$25,07 \pm 5,02$	$25,87 \pm 4,79$	$19,70 \pm 9,75$	$24,86 \pm 5,17$	$29,98 \pm 6,75$	$22,81 \pm 4,34$	$25,44 \pm 7,23$
К ($n = 28$)	$23,95 \pm 4,62$	$25,49 \pm 6,43$	$23,95 \pm 5,47$	$29,99 \pm 7,86$	$22,92 \pm 5,01$	$20,87 \pm 6,23$	$30,83 \pm 6,15$
АР ($n = 35$)	$23,38 \pm 2,89$	$25,22 \pm 7,24$	$23,38 \pm 6,41$	$25,22 \pm 4,63$	$23,14 \pm 3,98$	$24,16 \pm 3,48$	$30,74 \pm 7,40$
<i>Удельный объем внутридольковых протоков подъязычных желез неполовозрелых крыс</i>							
ИН ($n = 28$)	$43,04 \pm 9,22$	$45,00 \pm 5,17$	$55,28 \pm 9,15$	$46,03 \pm 4,52$	$47,00 \pm 8,11$	$44,25 \pm 5,89$	$46,74 \pm 4,54$
К ($n = 28$)	$42,93 \pm 7,64$	$43,76 \pm 4,16$	$38,99 \pm 11,89$	$48,26 \pm 6,48$	$51,08 \pm 5,23$	$48,32 \pm 4,20$	$48,80 \pm 6,24$
АР ($n = 35$)	$40,32 \pm 6,32$	$42,00 \pm 3,79$	$49,25 \pm 9,75$	$48,76 \pm 4,64$	$47,71 \pm 9,12$	$54,73 \pm 7,56$	$47,23 \pm 8,22$
<i>Удельный объем внутридольковых протоков поднижнечелюстных желез неполовозрелых крыс</i>							
ИН ($n = 28$)	$25,67 \pm 7,81$	$20,29 \pm 8,06$	$20,56 \pm 5,88$	$20,63 \pm 5,18$	$20,33 \pm 6,53$	$24,00 \pm 8,97$	$25,67 \pm 9,46$
К ($n = 28$)	$19,42 \pm 11,17$	$23,15 \pm 7,24 \#$	$21,04 \pm 7,83$	$22,56 \pm 4,94\#$	$20,58 \pm 5,27$	$24,12 \pm 9,16\#$	$24,55 \pm 5,32 \#$
АР ($n = 35$)	$14,56 \pm 6,12 *$	$22,08 \pm 6,23 \#$	$18,57 \pm 7,67$	$14,11 \pm 8,72$	$16,06 \pm 6,86$	$19,18 \pm 7,64$	$24,80 \pm 6,54 \#$

* отличие от аналогичного показателя животных интактной группы; # отличие от показателя этой же группы на 2-ю нед, достигнутый уровень значимости $p < 0,05$.

В эпителиоцитах концевых отделов поднижнечелюстных желез крыс группы ИН на 2-й нед эксперимента наблюдалось умеренное ШИК-положительное окрашивание цитоплазмы; на 3- и 4-й нед эксперимента базальная часть цитоплазмы клеток была умеренно ШИК-позитивна, апикальная – окрашена более интенсивно. Возможно, это связано со становлением синхронизации секреторного цикла клеток. С 6-й нед эксперимента эпителиоциты ацинусов поднижнечелюстных желез характеризовались умеренным равномерным окрашиванием цитоплазмы, клетки гранулярных извитых трубок в апикальной части содержали крупные ШИК-позитивные гранулы. ШИК-реакция характерна для щеточной каемки эпителиоцитов исчерченных протоков. Во внутридольковых протоках поднижнечелюстных

желез наблюдалось слабopозитивное пенистое содержимое.

В ацинусах подъязычных желез слабая диффузная ШИК-реакция наблюдалась в цитоплазме сероцитов, интенсивное окрашивание было характерно для цитоплазмы мукоцитов, окружающей крупные ШИК-негативные секреторные везикулы. Эпителиоциты внутридольковых и междольковых протоков подъязычных желез были ШИК-негативны. В просветах протоков определялось пенистое или волокнистое умеренно ШИК-позитивное содержимое.

У крыс группы АР на 2–4-й нед эксперимента ШИК-реакция эпителиоцитов ацинусов поднижнечелюстных желез была визуальнее интенсивнее, чем у животных группы ИН в аналогичные сроки (рис. 3).

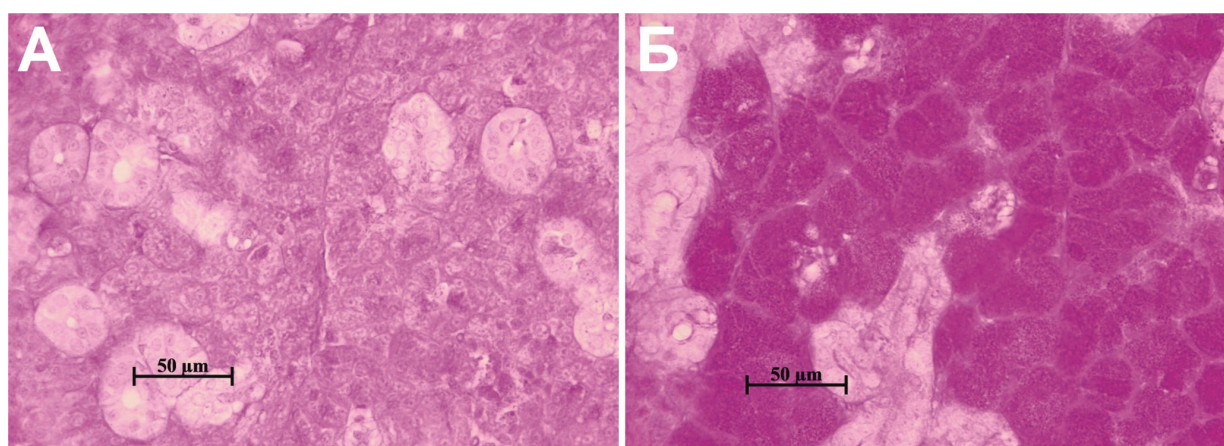


Рис. 3. Поднижнечелюстная железа интактной (А) и подвергшейся многократной ампутации резцов (Б) крысы, 2-я нед эксперимента. Позитивно окрашены клетки ацинусов. ШИК-реакция

Fig. 3. Submandibular gland of intact (A) and repeatedly amputated incisor (B) rats, 2 weeks of the experiment. Positively stained acinus cells. SHIC-reaction

Со 2-й нед эксперимента наблюдалось изменение характера окрашивания цитоплазмы клеток ацинусов поднижнечелюстных желез крыс группы АР по сравнению с интактными животными: появлялись многочисленные пылевидные интенсивно ШИК-позитивные гранулы. Интенсивность окрашивания эпителиоцитов концевых отделов поднижнечелюстных желез крыс группы АР на 3–6-й нед эксперимента варьировала от умеренной до выраженной. ШИК-позитивные клетки в составе гранулярных извитых трубок появлялись у крыс группы АР на 8-й нед эксперимента. На срезах околоушных и подъязычных желез животных групп ИН и АР визуально различий интенсивности ШИК-реакции не наблюдалось. Основное вещество, волокна и клеточные элементы стромы БСЖ крыс не обнаруживали сродства к пиронину, за исключением тучных клеток, гранулы которых окрашивались в кирпично-оранжевый цвет.

В околоушных железах крыс группы ИН эпителиоциты ацинусов характеризовались интенсивной пиронинофилией базальной и перинуклеарной части цитоплазмы, уменьшающейся к концу эксперимента. В поднижнечелюстных железах крыс группы ИН умеренная пиронинофилия регистрировалась в базальной и перинуклеарной цитоплазме клеток ацинусов, базальная часть цитоплазмы клеток гранулярных извитых протоков была слабо пиронинофильна. В ацинусах подъязычных желез крыс группы ИН пиронинофилией цитоплазмы обладали исключительно сероциты белковых полулуний. В клетках концевых отделов, вставочных и исчерченных протоков БСЖ пиронином окрашивались ядрышки.

У животных группы АР пиронинофилия цитоплазмы клеток ацинусов поднижнечелюстных желез на 2–3-й нед эксперимента представлялась меньшей, чем в аналогичные сроки у крыс группы ИН, и варьировала от полного отсутствия до выраженной степени (см. рис. 2). Пиронинофилия цитоплазмы клеток гранулярных извитых протоков крыс группы АР не обнаруживалась. Интенсивность окрашивания цитоплазмы эпителиоцитов ацинусов и протоков околоушных желез, сероцитов белковых полулуний смешанных ацинусов подъязычных желез крыс групп АР и ИН визуально не различалась.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования А.Г. Бабаевой и Е.А. Шубниковой указывают на развитие гипертрофии БСЖ вследствие многократной ампутации резцов за

счет структурных изменений эпителиоцитов ацинусов поднижнечелюстных желез [1]. О.Б. Саврова и J.A. Kofoed et al. заявляют о развитии гипертрофии не только поднижнечелюстных, но и подъязычных желез [3, 4]. В представленном исследовании показано, что многократная ампутация резцов вызвала увеличение площади ацинусов (3–6-я нед) и уменьшение удельного объема внутридольковых протоков (2-я нед) поднижнечелюстных слюнных желез (по сравнению с интактными крысами), но не вызвала изменений этих показателей в околоушных и подъязычных железах неполовозрелых крыс.

Гипертрофия БСЖ проявляется в увеличении количества клеточных органелл и полиплоидизации ядер клеток ацинусов [3], что может свидетельствовать об их высокой функциональной активности. Однако характеристики особенностей метаболизма и секреторной активности клеток БСЖ при моделировании гипертрофии путем повторяющейся ампутации резцов не дано.

Проведенные гистохимические реакции позволяют сделать вывод об изменении функциональной активности эпителиоцитов ацинусов поднижнечелюстных желез неполовозрелых крыс после многократной ампутации резцов. В данном исследовании показано, что многократная ампутация резцов крыс не влияла на содержание ГАГ в мукоцитах, что согласуется с данными С.С. Handelman, Н. Wells [5]. Однако приводила к увеличению удельного объема сероцитов белковых полулуний смешанных ацинусов подъязычных желез неполовозрелых крыс на 3–4-й нед эксперимента. Площадь ацинусов не менялась в течение эксперимента, следовательно, наблюдалось уменьшение относительной плотности мукоцитов.

Обработка α -амилазой срезов БСЖ свидетельствовала об отсутствии в цитоплазме их клеток гликогена, следовательно, в клетках ацинусов, вставочных протоков околоушных. Также в гранулярных извитых трубках поднижнечелюстных желез в ходе ШИК-реакции выявлялись гликопротеины, что согласуется с данными ряда исследователей [6–10]. Многократная ампутация резцов приводила к увеличению содержания гликопротеинов в цитоплазме клеток ацинусов поднижнечелюстных желез неполовозрелых крыс на 2–4-й нед эксперимента. Наблюдаемое в эпителиоцитах ацинусов поднижнечелюстных желез крыс, подвергшихся многократной ампутации резцов, появление пылевидного диффузного ШИК-окрашивания отражало изменение коллоидных свойств цитоплазмы. Различное содержа-

ние гликопротеинов в клетках ацинусов, возможно, свидетельствует о нарушении синхронизации секреторного цикла клеток.

Множественная ампутация резцов неполовозрелым крысам приводит к уменьшению содержания РНК в цитоплазме клеток ацинусов поднижнечелюстных желез на 2- и 3-й нед эксперимента по сравнению с таковым у интактных крыс, что может свидетельствовать о снижении интенсивности процессов транскрипции и трансляции. Наличие наряду с неактивными в синтетическом плане эпителиоцитами высокоактивных клеток, вероятно, является компенсаторно-приспособительным механизмом, поддерживающим синтез белка в ацинусах поднижнечелюстных желез на должном уровне. Множественная ампутация резцов неполовозрелых крыс приводит к уменьшению пиронинофилии цитоплазмы эпителиоцитов гранулярных извитых трубок, что, возможно, отражает снижение активности белоксинтетических процессов. Наблюдаемое уменьшение удельного объема внутридольковых протоков поднижнечелюстных желез у неполовозрелых животных, подвергшихся множественной ампутации резцов в ранние сроки эксперимента, сопровождается снижением количества ЭФР-позитивных клеток в поднижнечелюстных железах в 1 мм² среза по сравнению с интактными животными.

Таким образом, множественная ампутация резцов неполовозрелым крысам приводит к изменению структуры поднижнечелюстных слюнных желез, которые проявляются в увеличении площади ацинусов, повышении содержания гликопротеинов и ослаблении процессов синтеза РНК эпителиоцитами ацинусов в ранние сроки эксперимента (2–4-я нед), а также уменьшении удельного объема внутридольковых протоков и количества клеток гранулярных извитых трубок.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показано, что в результате множественной ампутации резцов развиваются не только структурные, но и функциональные изменения, наиболее выраженные в эпителиоцитах концевых отделов поднижнечелюстных желез неполовозрелых крыс. Гранулярные протоки, являющиеся источником таких биологически активных веществ поднижнечелюстных желез, как эпидермальный фактор роста, фактор роста нервов, инсулиноподобный фактор роста, глюкагон, эритропоэтин и др. [11, 12], а также другие отделы протоковой системы БСЖ не подвергаются гипертрофии при множественной ампутации резцов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии источников финансирования научной работы.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Работа выполнена с соблюдением Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных (приказ № 755 от 12.08.87). Протокол исследования одобрен решением локального этического комитета СибГМУ № 4253 от 28.09.2015.

ВЫРАЖЕНИЕ ПРИЗНАТЕЛЬНОСТИ

Авторский коллектив признателен Владимиру Юрьевичу Усову, д-ру мед. наук, профессору, руководителю отделения рентгеновских и томографических методов диагностики НИИ кардиологии Томского национального исследовательского медицинского центра.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабаева А.Г., Шубникова Е.А. Структура, функция и адаптивный рост слюнных желез. М.: МГУ, 1979: 192.
2. Гуцол А.А., Кондратьев Б.Ю. Практическая морфометрия органов и тканей: для врачей патологоанатомов. Томск: Издательство Томского университета, 1988: 136.
3. Саврова О.Б. Цитологический анализ секреторного эпителия подчелюстных слюнных желез крысы, гипертрофированных под влиянием повторных ампутаций нижних резцов // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1976; (3): 376–377.
4. Kofoed J.A., Houssay A.B., Curbelo H.M., Tocci A.A. Effects of incisor amputations upon the glycosaminoglycans in salivary glands in the rat // *Arch. Oral Biol.* 1971; 16: 87–93.
5. Handelman C.S., Wells H. Morphological and histochemical studies of experimentally enlarged and atrophied salivary glands of rats // *Am. J. Anat.* 1963; 112: 65–79.
6. Berkman M.D., Kronman J.H. A histochemical study of the effects of castration and testosterone administration on the major salivary glands of swiss mice // *Acta Anat. (Basel)*. 1970; 76 (2): 200–219.
7. Karn R.C., Chung A.G., Laukaitis C.M. Shared and unique proteins in human, mouse and rat saliva proteomes: footprints of functional adaptation // *Proteomes*. 2013; 1 (3): 275–289.
8. Levine M. Susceptibility to dental caries and the salivary proline-rich proteins // *Int. J. Dent.* 2011; 2011: 1–13.
9. Nashida T., Sato R., Imai A., Shimomura H. Gene expression profiles of the three major salivary glands in rats // *Biomed. Res.* 2010; 31 (6): 387–399.
10. Wu J.F., Zhang J., Xue G., Zhang H.Q. Expression and

- localization of trefoil factor family genes in rat submandibular glands // *Biotech. Histochem.* 2014; 89 (6): 424–432.
11. Gresik E.W. The granular convoluted tubule (GCT) cell of rodent submandibular glands // *Microsc. Res. Tech.* 1994; 27 (1): 1–24.
12. Adthapanyawanich K., Kumchantuek T., Nakata H., Yamamoto M., Wakayama T., Nishiuchi T., Iseki S. Morphology and gene expression profile of the submandibular gland of androgen-receptor-deficient mice // *Arch. Oral Biol.* 2015; 60 (2): 320–332.

Поступила в редакцию 01.11.2016

Утверждена к печати 30.06.2017

Иванова Вера Владимировна, аспирант кафедры морфологии и общей патологии, СибГМУ, г. Томск.

Мильто Иван Васильевич, д-р. биол. наук, доцент, кафедра морфологии и общей патологии, СибГМУ; доцент кафедры биотехнологии и органической химии, НИ ТПУ, г. Томск.

Суходоло Ирина Владимировна, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой морфологии и общей патологии, СибГМУ, г. Томск.

Дзюман Анна Николаевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра морфологии и общей патологии, СибГМУ, г. Томск.

(✉) Иванова Вера Владимировна, e-mail: ivvera92@rambler.ru.

УДК 616.316-007.61-092.9—021.6-076

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-61–69

For citation: Ivanova V.V., Milto I.V., Sukhodolo I.V., Dzuman A.N. Major salivary glands hypertrophy model in immature rats: morphometric and histochemical epithelial cells characteristics. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2017; 16 (3): 61–69

Major salivary gland hypertrophy model in immature rats: morphometric and histochemical epithelial cell characteristics

Ivanova V.V.¹, Milto I.V.^{1,2}, Sukhodolo I.V.¹, Dzuman A.N.¹¹Siberian State Medical University

2, Moskow Tract, Tomsk, 634050, Russian Federation

²National Research Tomsk Polytechnic University

30, Lenin Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

The purpose of the study is to estimate the functional state of epithelial cells of acini and ducts of major salivary glands with hypertrophy caused by repeated incisor amputations in immature rats.

Materials and methods. The experiment was carried out on immature (20 days), white male rats, divided into 3 groups: intact, control and group of rats with repeated incisor amputations. Animals were taken out in 2d, 3d, 4th, 6th, 8th, 10th and 12th weeks after the first incisor amputation. Morphofunctional state of rat major salivary glands was assessed by histological (hematoxylin and eosin), histochemical (Alcian blue, PAS-reaction, Brachet method) and morphometrical (acini area, intralobular ducts volume) methods.

Results. Repeated incisor amputations led to the increase of acini area and the decrease of intralobular duct volume in submandibular glands in 2nd–4th weeks of the experiment. Cytoplasm pyroninophilia of submandibular gland acinar cells was less pronounced and intensity of PAS-reaction was more pronounced than in intact animals in 3rd week of the experiment. Morphological and functional changes of parotid and sublingual gland epithelial cells were not observed after repeated amputations of incisors in immature rats.

Conclusion. Repeated incisor amputations in immature male rats lead to submandibular gland acinar cell hypertrophy in the early stages of the experiment (2d–4th weeks) with accumulation of glycoproteins and protein synthesis weakening in these cells. Hypertrophy of acinar cells are accompanied by retardation in the development of granular convoluted tubule cells which are the source of synthesis and secretion of the endocrine biologically active factors of submandibular glands.

Key words: incisor, hypertrophy, salivary glands.

REFERENCES

1. Babayeva A.G., Spubnikova E.A. Struktura, funktsiya i adaptivnyy rost slyunnykh zhelez [Structure, function and adaptive growth of the salivary glands] M.: MGU Publ., 1979: 192 (in Russian).
2. Gutsol A.A., Kondrat'yev B.Yu. Prakticheskaya morfometriya organov i tkaney: dlya vrachev patologoanatomov [Practical morphometry of the organs and tissues: for pathologists] Tomsk: Izdatel'stvo Tomskogo universiteta Publ., 1988: 136 (in Russian).
3. Savrova O.B. Tsitologicheskii analiz sekretornogo epiteliya podchelyustnykh slyunnykh zhelez krysy, gipertrofirovannykh pod vliyaniem povtornykh amputatsiy nizhnikh reztsov [Cytological analysis of the secretory epithelium of the rat submandibular salivary glands hypertrophied after repeated amputation of the lower incisors] // *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny – Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 1976; (3): 376–377 (in Russian). doi.org/10.1007/bf00804948
4. Kofoed J.A., Houssay A.B., Curbelo H.M., Tocci A.A. Effects of incisor amputations upon the glycosaminoglycans in salivary glands in the rat // *Arch. Oral Biol.* 1971; 16: 87–93.
5. Handelman C.S., Wells H. Morphological and histochemical studies of experimentally enlarged and atrophied salivary glands of rats // *Am. J. Anat.* 1963; 112: 65–79.
6. Berkman M.D., Kronman J.H. A histochemical study of the effects of castration and testosterone administration on the major salivary glands of swiss mice // *Acta Anat. (Basel)*. 1970; 76 (2): 200–219.
7. Karn R.C., Chung A.G., Laukaitis C.M. Shared and unique proteins in human, mouse and rat saliva proteomes: footprints of functional adaptation // *Proteomes*. 2013; 1 (3): 275–289.
8. Levine M. Susceptibility to dental caries and the salivary proline-rich proteins // *Int. J. Dent.* 2011; 2011: 1–13.
9. Nashida T., Sato R., Imai A., Shimomura H. Gene expression profiles of the three major salivary glands in rats // *Biomed. Res.* 2010; 31 (6): 387–399.
10. Wu J.F., Zhang J., Xue G., Zhang H.Q. Expression and localization of trefoil factor family genes in rat submandibular glands // *Biotech. Histochem.* 2014; 89 (6): 424–432.
11. Gresik E.W. The granular convoluted tubule (GCT) cell of rodent submandibular glands // *Microsc. Res. Tech.* 1994; 27 (1): 1–24.
12. Adthapanyawanich K., Kumchantuek T., Nakata H., Yamamoto M., Wakayama T., Nishiuchi T., Iseki S. Morphology and gene expression profile of the submandibular gland of androgen-receptor-deficient mice // *Arch. Oral Biol.* 2015; 60 (2): 320–332.

Received November 01.2016

Accepted June 30.2017

Ivanova Vera V., Postgraduate Student of the Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Milto Ivan V., DBSc, Associate Professor, Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, Associate Professor, Department of Biotechnology and Organic Chemistry, National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russian Federation.

Sukhodolo Irina V., DM, Professor, Head of the Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Dzuman Anna N., PhD, Associate Professor, Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

(✉) **Ivanova Vera V.**, e-mail: ivvera92@rambler.ru.

УДК 575.174.015.3:616.858

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-70–78

Для цитирования: Иванова С.А., Алифирова В.М., Жукова И.А., Тигунцев В.В., Пожидаев И.В., Османова Д.З., Федоренко О.Ю., Фрейдин М.Б., Миронова Ю.С., Жукова Н.Г., Бохан Н.А., Лунен А.Дж.М. Ассоциация полиморфизмов гена *COMT* с болезнью Паркинсона. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 70–78

Ассоциация полиморфизмов гена *COMT* с болезнью Паркинсона

Иванова С.А.^{1,3}, Алифирова В.М.², Жукова И.А.², Тигунцев В.В.¹,
Пожидаев И.В.^{1,4}, Османова Д.З.^{1,4}, Федоренко О.Ю.^{1,3}, Фрейдин М.Б.⁵,
Миронова Ю.С.², Жукова Н.Г.², Бохан Н.А.^{1,2,4}, Лунен А.Дж.М.⁶

¹ Научно-исследовательский институт (НИИ) психического здоровья Томского национального исследовательского медицинского центра (НИМЦ) Российской академии наук (РАН)
Россия, 634014, г. Томск, ул. Алеутская, 4

² Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

³ Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ)
634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

⁴ Национальный исследовательский Томский государственный университет (НИ ТГУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36

⁵ Научно-исследовательский институт (НИИ) медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра (НИМЦ) Российской академии наук (РАН)
Россия, 634050, г. Томск, ул. Набережная р. Ушайки, 10

⁶ Национально-исследовательский институт фармации Гронингского университета
Нидерланды, г. Гронинген AV, 9713, ул. Антониуса Деусинглаана, 1

РЕЗЮМЕ

Болезнь Паркинсона – одно из наиболее тяжелых и распространенных нейродегенеративных заболеваний. Подавляющее большинство случаев заболевания представлено спорадической формой мультифакторной природы. Важную роль в развитии болезни Паркинсона играет генетическая предрасположенность.

Цель исследования – изучение ассоциаций полиморфизмов гена *COMT*, кодирующего фермент катаболизма дофамина катехол-О-метилтрансферазу, с болезнью Паркинсона.

Материал и методы. Обследовано 232 пациента с диагнозом «болезнь Паркинсона» и 127 здоровых лиц русской популяции Сибирского региона. В качестве материала для исследования была использована венозная кровь. Проведено генотипирование семи однонуклеотидных полиморфизмов (rs4680, rs6269, rs4633, rs4818, rs769224, rs165774, rs174696) гена *COMT*. Статистическая обработка результатов проводилась при помощи программы SPSS 17.0.

Результаты. Выявлена достоверная ассоциация полиморфизма rs165774 с болезнью Паркинсона, что подтверждает роль полиморфных особенностей гена катехол-О-метилтрансферазы в патофизиологических процессах при болезни Паркинсона.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, однонуклеотидные полиморфизмы, ген *COMT*.

✉ Иванова Светлана Александровна, e-mail: Svetlana@mail.tomsknet.ru.

ВВЕДЕНИЕ

В развитых странах мира наблюдается неуклонное старение населения, в связи с чем отмечается четкая тенденция к увеличению частоты нейродегенеративной патологии [1]. Достаточно сказать, что у людей старше 70 лет распространенность этих заболеваний составляет около 5%, а у лиц старше 80 лет – уже 10–15%. Важно отметить, что происходит омоложение нейродегенеративных заболеваний, то есть люди начинают болеть на пике социальной и профессиональной активности [2].

Болезнь Паркинсона (БП) – тяжелое, социально значимое прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, занимающее второе место по распространенности после болезни Альцгеймера [3] и встречающееся практически повсеместно. Для БП характерно нарушение функции черной субстанции ствола головного мозга, приводящее к дефициту нейромедиатора дофамина и проявляющееся хроническим прогрессирующим течением с последующей тяжелой инвалидизацией больных. В последние годы в связи с увеличением средней продолжительности жизни населения БП входит в группу возрастзависимых заболеваний и, несомненно, влияет на показатели качества жизни населения и приводит к значительным социально-экономическим потерям [4, 5]. С возрастом риск развития увеличивается, и у лиц старше 65 лет БП выявляется с частотой около 1% [6].

За последние несколько лет получены фундаментальные данные о сложном динамическом патологическом процессе при БП. Так, стало известно, что основная ведущая роль в патогенезе БП отводится изменению конформации α -синуклеина с формированием патологических агрегатов этого белка в виде телец Леви как в центральных нейронах головного мозга, так и периферических вегетативных структурах нервной системы кишечника.

Другой важный подход в изучении патогенеза БП связан с определением молекулярно-патохимических биомаркеров. Ведущую роль в развитии БП играет генетическая предрасположенность, а также воздействие различных нейротоксинов, образующихся в самих дофаминовых нейронах, и свободных радикалов, приводящих к повреждению дофаминовых нейронов, истощению в них запасов дофамина, нарушению их трофики и, в конечном итоге, к гибели нейронов [7–9].

подавляющее большинство случаев заболевания представлено спорадической формой мульт

тифакторной природы, где не последнюю роль играют наследственные факторы [10]. Развитие симптомов спорадических форм БП мультифакторной природы зависит от комбинации различных генов, а на клинические особенности заболевания воздействуют внешние средовые факторы (как пусковые, так и модифицирующие БП).

Значимые успехи в понимании этиологии и патогенеза БП произошли в последнее время благодаря достижениям в области нейрогенетики. Генетические исследования интенсивно проводятся в отношении поиска мутаций в генах, которые, прежде всего, связаны с функционированием нейромедиаторных систем, таких как гены дофаминовых D2- и D3-рецепторов [11–14]. Катехол-О-метилтрансфераза (COMT) – фермент, играющий важную роль в распаде дофамина на уровне синапса. Полиморфные варианты данного фермента могут влиять на активность COMT. В литературе выделяют генотип низкой активности фермента (1947A/A), промежуточной (1947A/G) и высокой (1947G/G). Существует предположение, что низкая активность его может явиться фактором предрасположенности к БП [15]. В то же время полиморфизмы генов ферментов метаболизма дофамина изучены недостаточно и литературные данные являются противоречивыми.

Цель данной работы – изучение ассоциаций полиморфных вариантов гена фермента катехол-О-метилтрансферазы с болезнью Паркинсона.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Критериями включения больных в исследуемую группу являлись: установленный диагноз БП (G20), добровольное согласие на участие в исследовании. Критерии исключения из исследования: наличие коморбидных неврологических и соматических заболеваний, затрудняющих объективную оценку клинического состояния, вызванного основным заболеванием; отказ больного от участия в исследовании. Проводилась стандартизация группы по возрасту, длительности заболевания и тяжести актуального состояния. Пациенты были информированы о характере исследования и его целях, были получены письменные информированные согласия.

В соответствии с диагностическими критериями (G20 по МКБ-10) обследовано 232 пациента с БП, находившихся на стационарном лечении в неврологической клинике СибГМУ, из них 149 (64%) женщин и 83 (36%) мужчины.

Средний возраст пациентов составил ($68,7 \pm 7,6$) лет (возрастной диапазон 40–86 лет). Средний возраст начала заболевания ($60,1 \pm 9,5$) года, средняя длительность заболевания ($9,8 \pm 5,6$) года. Было отмечено преобладание лиц с высшим (108 (46,6%) человек) и средне-специальным образованием (91 (39,2%) человек).

Все пациенты получали комбинированную или монотерапию противопаркинсоническими препаратами. Диагноз формулировали согласно рекомендациям Центра экстрапирамидных заболеваний Минздрава РФ с указанием клинической формы, наличия постуральной неустойчивости и нарушения ходьбы, преобладания выявленных симптомов в конечностях, выраженности когнитивных нарушений, депрессии и вегетативной недостаточности; уточнением стадии болезни по Хен и Яру (1967) и темпа прогрессирования с учетом наличия осложнений, связанных с длительным лечением леводопосодержащими препаратами [16]. Вторичные формы паркинсонизма являлись критериями исключения из исследования.

Клиническое обследование проводили по общепринятой схеме: учитывали данные анамнеза, объективно оценивали соматический, личный и профессиональный анамнез, перенесенные и сопутствующие заболевания. Фиксировали возраст манифестации БП, скорость прогрессирования и длительность болезни. Оценивали неврологический статус.

Степень тяжести БП определяли с помощью Унифицированной рейтинговой шкалы оценки проявлений БП (UPDRS) [17]. Степень двигательных расстройств (гипокинезия, ригидность и тремор покоя) определяли по III разделу шкалы UPDRS, посвященному двигательным нарушениям. Стадию заболевания оценивали по шкале Хен и Яра у каждого субъекта, когда он находился в оптимальном «включенном» состоянии [18].

Достоверно чаще регистрировали смешанные формы БП (92,2%) и умеренный темп прогрессирования болезни (65,5%). Наибольшее количество пациентов было представлено в двух возрастных группах: 60–69 лет (40,8%) и 70–79 лет (29,1%).

Дебют заболевания чаще (в 54,4% случаев) наблюдали в возрасте 46–64 лет, причем для пациентов с акинетико-ригидно-дрожательной формой БП характерно более раннее, до 49 лет, начало болезни (20,0% пациентов). В возрасте от 65 лет несколько чаще фиксировали быстрый темп прогрессирования БП, в 46–64 года – медленный.

Наиболее часто среди основных клинических симптомов болезни бради- и гипокинезию реги-

стрировали в 93,9% случаев, нарушение походки – в 93,2% и постуральную неустойчивость – в 56,7%. Тремор покоя у обследованных больных был зафиксирован в 65,1% случаев. Ригидность выявляли в 85,4%, без существенной разницы в руках и ногах (85,5 и 77,0% случаев соответственно).

Контрольная группа была представлена 127 добровольцами без проявлений паркинсонизма и соматической патологии (средний возраст – ($38,5 \pm 13,2$) лет) и соответствовала по полу исследуемой группе пациентов. Отбор здоровых лиц проводили, используя углубленный опрос с помощью «Анкеты обследования здоровых лиц». Все испытуемые считали себя этническими русскими и являлись жителями Сибирского региона. Фактически средний возраст испытуемых контрольной группы был значительно ниже возраста дебюта заболевания. Поскольку частоты генных полиморфизмов не зависят от возраста и полиморфизмы генов не изменяются в течение жизни, влияние возраста маловероятно, что позволяет использовать данную контрольную группу для сравнительного анализа результатов генотипирования.

В качестве материала для исследования была использована венозная кровь. Кровь брали из локтевой вены, утром, натощак в пробирки фирмы BD Vacutainer (Becton Dickinson International, США) с антикоагулянтом ЭДТА. ДНК выделяли из лейкоцитов цельной периферической крови и использовали стандартный фенол-хлороформный метод. Определение аллельных вариантов гена *COMT* проводили на базе лаборатории молекулярной генетики и биохимии методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием наборов TaqMan® SNP Genotyping Assay (Applied Biosystems, США). Амплификация и анализ результатов были осуществлены с помощью прибора StepOnePlus (Applied Biosystems, США). Статистическая обработка результатов проводилась при помощи программы SPSS 17.0. Распределение частот генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди – Вайнберга. Сравнение частот генотипов и аллелей в исследуемых группах проводили по критерию χ^2 . Различия считались достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ген *COMT*, кодирующий фермент, ответственный за О-метилирование катехоламинов (дофамина, норадреналина и адреналина) локализован в локусе 22q11.21 (gene ID 1312), содержит 11 экзонов.

Для настоящего исследования на основании литературных данных было выбрано семь полиморфизмов гена *COMT*, которые ранее были исследованы на предмет ассоциаций с болезнью Паркинсона или с другими неврологическими и психическими заболеваниями, при которых выявлялась дисфункция дофаминергической нейротрансмиссии.

Сравнение частот генотипов в группах пациентов с БП и контроля выявило достоверные

отличия по полиморфизму rs165774 (таблица). В группе пациентов с БП наблюдалось значимое ($p = 0,05$) повышение частоты встречаемости генотипа АА по сравнению со здоровыми индивидами, что может свидетельствовать о вкладе данного полиморфизма в развитие заболевания. При проведении дальнейшего анализа данных с помощью логистической регрессии, включающего пол и возраст в качестве ковариат, статистически значимая ассоциация генотипа с заболеванием сохранялась.

Т а б л и ц а

Частоты встречаемости генотипов полиморфных вариантов гена <i>COMT</i> в группах пациентов с БП и здоровых индивидов					
Полиморфный вариант гена	Генотип	Пациенты с БП	Здоровые лица	χ^2	p
rs4680	АА	59 (25,5)	27 (23,7)	0,8	0,67
	AG	112 (48,5)	61 (53,5)		
	GG	60 (26)	26 (22,8)		
rs6269	АА	99 (43)	53 (41,7)	0,16	0,92
	AG	100 (43,5)	55 (43,3)		
	GG	31 (13,5)	19 (15)		
rs4633	ТТ	58 (25,2)	27 (23,7)	0,92	0,63
	TC	113 (49,1)	62 (54,4)		
	CC	59 (25,7)	25 (21,9)		
rs4818	CC	101 (43,5)	54 (42,5)	1,08	0,58
	GC	105 (45,3)	54 (42,5)		
	GG	26 (11,2)	19 (15)		
rs769224	GG	220 (95,2)	120 (94,5)	0,1	0,95
	AG	11 (4,8)	7 (5,5)		
	AA	0 (0)	0 (0)		
rs165774	GG	103 (45,2)	60 (47,6)	6,09	0,05
	AG	93 (40,8)	59 (46,8)		
	AA	32 (14)	7 (5,6)		
rs174696	ТТ	132 (57,1)	64 (56,2)	0,03	0,98
	CT	75 (32,5)	38 (33,3)		
	CC	24 (10,4)	12 (10,5)		

Так, у пациентов генотип АА встречался у 14% обследованных лиц, в то время как в группе здоровых лиц носительство данного генотипа составляло 5,6%.

Ген *COMT* рассматривается как возможный ген-кандидат патогенеза БП в связи с его влиянием на дофаминовую нейротрансмиссию [19]. Данный полиморфизм rs165774 в этом гене ранее не исследовался на вклад в развитие БП, была показана его ассоциация с деменцией в китайской популяции [20] и шизофренией в японской популяции [21]. Как известно, нарушение метаболизма дофамина играет важную роль в патогенезе шизофрении, а деменция может наблюдаться как одно из осложнений БП.

В литературе наибольшее внимание уделяется полиморфизму rs4680 (Val158Met), который явля-

ется функциональным и относится к missense-мутациям. Однонуклеотидная замена в экзоне 4 приводит к аминокислотной замене и синтезу фермента со сниженной функциональной активностью. Если это гуанин, то кодируется валин, и фермент является термостабильным (имеет высокую активность). В случае нуклеотидной замены на аденин кодируется метионин и фермент термолabile (низкая активность). Частота аллеля А составляет примерно 50% у белой расы, 29% у восточных народов и 39% у африканцев [19]. В проведенном исследовании частота данного аллеля составила 49,8% у пациентов и 50,4% у здоровых лиц.

В ряде исследований выявлена ассоциация между полиморфизмом *COMT* (с низкой активностью фермента) и риском развития БП [22, 23].

В то же время эти результаты не согласуются с данными других авторов, которые не выявили взаимосвязи между полиморфизмом rs4680 и БП [24–26]. Следует отметить, что вышеперечисленные исследования проводились на южноамериканской [26], иранской [25] и тайваньской популяциях [24]. Противоречивость результатов по генетическим ассоциациям может свидетельствовать о значительных этнических различиях в полиморфизмах гена *COMT* и возможном взаимодействии их с полиморфизмами других генов, например МАО-В, что продемонстрировано в исследовании, проведенном на польской популяции [27].

Необходимость проведения дальнейших исследований в области наследственных факторов БП не вызывает сомнения, поскольку полученные результаты позволяют не только приблизиться к пониманию молекулярно-генетических основ предрасположенности, но и в дальнейшем открывают перспективы прогнозирования и профилактики развития заболевания.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ И ВКЛАД АВТОРОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи, и сообщают о вкладе авторов. Иванова С.А. – разработка концепции и дизайна исследования, интерпретация полученных результатов, написание текста статьи. Алифиров В.М. – отбор пациентов для исследования, клиническая верификация диагнозов и клиническая характеристика группы обследованных лиц. Жукова И.А. – проведение клинко-неврологического обследования пациентов, заполнение клинических карт, клиническая характеристика группы обследованных лиц. Тигунцев В.В. – подготовка биологических проб для хранения, маркировка и выделение ДНК. Пожидаев И.В. – определение концентрации ДНК, проведение генотипирования образцов ДНК пациентов и здоровых лиц. Османова Д.З. – определение концентрации ДНК, проведение генотипирования образцов ДНК пациентов и здоровых лиц. Федоренко О.Ю. – проведение генотипирования, отбор группы здоровых добровольцев. Фрейдин М.Б. – проведение статистического анализа. Миронова Ю.С. – проведение клинко-неврологического обследования пациентов, заполнение клинических карт, клиническая характеристика группы обследованных лиц. Жукова Н.Г. – проведение клинко-неврологического обследования пациентов, заполнение клинических карт, клиническая характеристика группы обследованных

лиц. Бохан Н.А. – анализ и интерпретация данных. Лунен А.Дж.М. – разработка методологии исследования, выбор генетических полиморфизмов, анализ и интерпретация полученных результатов.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 14-35-00023 «Лаборатория фармакогенетических исследований персонализированной терапии психических и нейродегенеративных расстройств».

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование одобрено независимым локальным Комитетом по этике СибГМУ (протокол № 3604 от 10 февраля 2014 г.)

ЛИТЕРАТУРА

1. Elbaz A. et al. Epidemiology of Parkinson's disease // *Revue Neurologique*. 2016; 172 (1): 14–26. Doi: 10.1016/j.neurol.2015.09.012.
2. Boland D.F., Stacy M. The economic and quality of life burden associated with Parkinson's disease: a focus on symptoms // *The American Journal of Managed Care*. 2012; 18 (7):168–175.
3. de Lau L.M., Breteler M.M. Epidemiology of Parkinson's disease // *The Lancet Neurology*. 2006; 5 (6): 525–535. Doi: 10.1016/S1474-4422(06)70471-9.
4. Жукова И.А., Жукова Н.Г., Алифиров В.М., Гашилова Ф.Ф. Когнитивные расстройства и качество жизни пациентов с болезнью Паркинсона // *Бюллетень сибирской медицины*. 2008; 5 (1): 145–150.
5. Болезнь Паркинсона и расстройства движений; под ред. С.Н. Иллариошкина, О.С. Левина. М: ЗАО «РКИ Соверо пресс», 2014: 405.
6. Lerche S. et al. Risk factors and prodromal markers and the development of Parkinson's disease // *J. Neurol*. 2014; 261 (1): 180–187. Doi: 10.1007/s00415-013-7171-0.
7. Alonso-Navarro H. et al. Genomic and pharmacogenomic biomarkers of Parkinson's disease // *Current Drug Metabolism*. 2014; 15 (2): 129–181.
8. Subramaniam S.R., Chesselet M.-F. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Parkinson's disease // *Progress in Neurobiology*. 2013; 106–107: 17–32. Doi: 10.1016/j.pneurobio.2013.04.004.
9. Ivanova S.A., Loonen A.J. Levodopa-induced dyskinesia is related to indirect pathway medium spiny neuron excitotoxicity: A hypothesis based on an unexpected finding // *Parkinson's Disease*. 2016; 2016. doi: 10.1155/2016/6461907.
10. Bekris L.M., Mata I.F., Zabetian C.P. The genetics of Parkinson disease // *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*. 2010; 23 (4): 228–242. Doi: 10.1177/0891988710383572.
11. Wang J., Liu Z.-L., Chen B. Polymorphisms of dopamine D3 receptor gene and Parkinson disease // *Chinese Jour-*

- nal of New Drugs and Clinical Remedies*. 2000; 19 (2): 108–110.
12. McGuire V., Van Den Eeden S.K., Tanner C.M., Kamel F., Umbach D.M., Marder K., Mayeux R., Ritz B., Ross G.W., Petrovich H., Topol B., Popat R.A., Costello S., Manthripragada A.D., Southwick A., Myers R.M., Nelson L.M. Association of DRD2 and DRD3 polymorphisms with Parkinson's disease in a multiethnic consortium // *Journal of the Neurological Sciences*. 2011; 307 (1): 22–29.
 13. Dai D., Wang Y., Wang L., Li J., Ma Q., Tao J., Zhou X., Zhou H., Jiang Y., Pan G., Xu L., Ru P., Lin D., Pan J., Xu L., Ye M., Duan S. Polymorphisms of DRD2 and DRD3 genes and Parkinson's disease: A metaanalysis // *Biomedical Reports*. 2014; 2 (2): 275–281.
 14. Иванова С.А., Алифорова В.М., Жукова И.А., Бойко А.С., Федоренко О.Ю., Жукова Н.Г., Бохан Н.А. Ассоциации полиморфизмов гена DRD3 с болезнью Паркинсона // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2016; 116 (5): 71–74.
 15. Segura-Aguilar J., Paris I. Mechanisms of Dopamine Oxidation and Parkinson's Disease // *Handbook of Neurotoxicity* / ed. Kostrzewa R.M. New York, NY: Springer New York, 2014: 865–883. Doi: 10.1007/978-1-4614-5836-4_16.
 16. Шток В.Н., Левин О.С., Федорова Н.В. Экстрапирамидные расстройства. Классификация, терминология, диагностика, лечение: руководство для врачей. 2-е изд., перераб. и доп. М.: МИА, 2002: 235. ISBN 5-89481-095-7.
 17. Goetz C.G. et al. Movement disorder society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Scale presentation and clinimetric testing results // *Movement Disorders*. 2008; 23 (15): 2129–2170. Doi: 10.1002/mds.22340.
 18. Goetz C.G. et al. Movement Disorder Society Task Force report on the Hoehn and Yahr staging scale: Status and recommendations The Movement Disorder Society Task Force on rating scales for Parkinson's disease // *Movement Disorders*. 2004; 19 (9): 1020–1028.
 19. Jiménez-Jiménez F.J. et al. COMT gene and risk for Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis // *Pharmacogenetics and Genomics*. 2014; 24 (7): 331–339. doi: 10.1097/FPC.0000000000000056.
 20. Zhang K. et al. An association study between catechol-O-methyltransferase gene and mental retardation in the Chinese Han population // *Neuroscience Letters*. 2007; 419 (1): 83–87. doi:10.1007/s10571-012-9817-3.
 21. Higashiyama R. et al. Association of copy number polymorphisms at the promoter and translated region of COMT with Japanese patients with schizophrenia // *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*. 2016. doi: 10.1002/ajmg.b.32426
 22. Yoritaka A. et al. Catechol-O-methyltransferase genotype and susceptibility to Parkinson's disease in Japan // *Journal of Neural Transmission*. 1997; 104 (11–12): 1313–1317. doi: 10.1007/BF01294732.
 23. Kiyohara C. et al. Genetic polymorphisms involved in dopaminergic neurotransmission and risk for Parkinson's disease in a Japanese population // *BMC Neurology*. 2011; 11 (1): 89. doi: 10.1186/1471-2377-11-89.
 24. Shih P.-Y., Er T.-K., Chang J.-G. An association study between genetic variants at mu-opioid receptor, dopamine transporter, catechol-O-methyltransferase, and dopamine genes and risk of Parkinson's disease // *Neurology Asia*. 2013; 18 (3): 279–287.
 25. Torkaman-Boutorabi A. et al. Association of monoamine oxidase B and catechol-O-methyltransferase polymorphisms with sporadic Parkinson's disease in an Iranian population // *Folia Neuropathol*. 2012; 50 (4): 382–389.
 26. Benitez B.A. et al. Exploration of genetic susceptibility factors for Parkinson's disease in a South American sample // *Journal of Genetics*. 2010; 89 (2): 229–232. Doi: 10.1007/s12041-010-0030-1.
 27. Bialecka M. et al. Catechol-O-methyltransferase and monoamine oxidase B genes and susceptibility to sporadic Parkinson's disease in a Polish population // *Eur. Neurol*. 2005; 53: 68–73. Doi: 10.1159/000084302.

Поступила в редакцию 29.11.2016

Утверждена к печати 30.06.2017

Иванова Светлана Александровна, д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией молекулярной генетики и биохимии, зам. директора по научной работе, НИИ психического здоровья Томского НИМЦ РАН; профессор кафедры экологии и безопасности жизнедеятельности, НИ ТПУ, г. Томск.

Алифорова Валентина Михайловна, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск.

Жукова Ирина Александровна, канд. мед. наук, доцент, кафедра неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск.

Тигунцев Владимир Владимирович, аспирант, НИИ психического здоровья Томского НИМЦ РАН, г. Томск.

Пожидаев Иван Вячеславович, аспирант, НИ ТГУ; мл. науч. сотрудник, лаборатория молекулярной генетики и биохимии, НИИ психического здоровья Томского НИМЦ РАН, г. Томск.

Османова Диана Закировна, аспирант, НИ ТГУ; мл. науч. сотрудник, лаборатория молекулярной генетики и биохимии, НИИ психического здоровья Томского НИМЦ РАН, г. Томск.

Федоренко Ольга Юрьевна, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория молекулярной генетики и биохимии, зав. лабораторией фармакогенетики психических и нейродегенеративных расстройств, НИИ психического здоровья Томского НИМЦ, РАН; профессор кафедры экологии и безопасности жизнедеятельности, НИ ТПУ, г. Томск.

Фрейдин Максим Борисович, д-р биол. наук, ст. науч. сотрудник, НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ РАН, г. Томск.

Миронова Юлия Сергеевна, аспирант, кафедра неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск.

Жукова Наталья Григорьевна, д-р мед. наук, профессор, кафедра неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск.

Бохан Николай Александрович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, директор НИИ психического здоровья Томского НИМЦ РАН; зав. кафедрой психиатрии, наркологии и психотерапии, СибГМУ; профессор кафедры психотерапии и психологического консультирования, НИ ТГУ, г. Томск.

Лунен Антониус Джозеф Мария, профессор, Научно-исследовательский институт фармации Гронингского университета, г. Гронинген, Нидерланды.

(✉) Иванова Светлана Александровна, e-mail: Svetlana@mail.tomsknet.ru.

УДК 575.174.015.3:616.858

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-70–78

For citation: Ivanova S.A., Alifirova V.M., Zhukova I.A., Tiguntsev V.V., Pozhidaev I.V., Osmanova D.Z., Fedorenko O.Yu., Freydin M.B., Mironova Yu.S., Zhukova N.G., Bokhan N.A., Loonen A. J.M. Association of COMT gene polymorphisms with Parkinson's disease. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 70–78

Association of COMT gene polymorphisms with Parkinson's disease

Ivanova S.A.^{1,3}, Alifirova V.M.², Zhukova I.A.², Tiguntsev V.V.¹, Pozhidaev I.V.^{1,4}, Osmanova D.Z.^{1,4}, Fedorenko O.Yu.^{1,3}, Freydin M.B.⁵, Mironova Yu.S.², Zhukova N.G.², Bokhan N.A.^{1,2,4}, Loonen A. J.M.⁶

¹ Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Centre (NRMC), Russian Academy of Sciences (RAS)

4, Aleutskaya Str., Tomsk, 634014, Russian Federation

² Siberian State Medical University (SSMU)

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

³ National Research Tomsk Polytechnic University (NR TPU)

30, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

⁴ National Research Tomsk State University (NR TSU)

36, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

⁵ Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Centre (NRMC), Russian Academy of Sciences (RAS)

10, Nab. Usbaiki, Tomsk, 634050, Russian Federation

⁶ Groningen Research Institute of Pharmacy (GRIP), University of Groningen

1, Antonius Deusinglaan, 9713 AV Groningen, Netherlands

ABSTRACT

Parkinson's disease (PD) is one of the most serious and widespread neurodegenerative disorders. Genetic susceptibility plays a significant role in the development of PD.

The aim of our study was to investigate associations between single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the COMT gene coding dopamine catabolism enzyme and Parkinson's disease.

Materials and methods. In this study seven SNPs (rs4680, rs6269, rs4633, rs4818, rs769224, rs165774, rs174696) of COMT were genotyped. 232 patients with PD and 127 healthy individuals in the Siberian region of Russia were examined. Venous blood samples were drawn as a marker of PD. Statistical differences in the prevalence of alleles and genotypes between groups of patients were assessed using IBM SPSS Statistics 23.1 software.

Results. A significant association between the rs165774 polymorphism and PD was observed. Our study demonstrates that polymorphisms in the COMT gene may play an important role in the pathophysiology of Parkinson's disease.

Key words: Parkinson's disease, single nucleotide polymorphisms, COMT gene

REFERENCES

1. Elbaz A. et al. Epidemiology of Parkinson's disease // *Revue Neurologique*. 2016; 172 (1): 14–26. Doi: 10.1016/j.neurol.2015.09.012.
2. Boland D.F., Stacy M. The economic and quality of life burden associated with Parkinson's disease: a focus on symptoms // *The American Journal of Managed Care*. 2012; 18 (7):168–175.
3. de Lau L.M., Breteler M.M. Epidemiology of Parkinson's disease // *The Lancet Neurology*. 2006; 5 (6): 525–535. Doi: 10.1016/S1474-4422(06)70471-9.
4. Zhoukova I.A., Zhoukova N.G., Alifirova V.M., Gashilova F.F. Kognitivniye rassroistva i kachestvo zhizni u pacintov s bolezn'yu Parkinsona [Cognitive disorders and life quality of parkinsonism patients] // *Byulleten' sibirskoi meditsiny – Bulletin of Siberian Medicine*. 2008; 5 (1): 145–150. (in Russian).
5. Bolezn' Parkinsona i rassroistva dvizhenii [Parkinson's disease and movement disorders] / ed. S.N. Illarioshkina, O.S. Levina. M: ZAO «RKI Sovero press» Publ., 2014: 405 (in Russian).
6. Lerche S. et al. Risk factors and prodromal markers and the development of Parkinson's disease // *J. Neurol*. 2014; 261 (1): 180–187. Doi: 10.1007/s00415-013-7171-0.
7. Alonso-Navarro H. et al. Genomic and pharmacogenomic biomarkers of Parkinson's disease // *Current Drug Metabolism*. 2014; 15 (2): 129–181.
8. Subramaniam S.R., Chesselet M.-F. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in Parkinson's disease // *Progress in Neurobiology*. 2013; 106–107: 17–32. Doi: 10.1016/j.pneurobio.2013.04.004.
9. Ivanova S.A., Loonen A.J. Levodopa-induced dyskinesia is related to indirect pathway medium spiny neuron excitotoxicity: A hypothesis based on an unexpected finding // *Parkinson's Disease*. 2016; 2016. doi:10.1155/2016/6461907.
10. Bekris L.M., Mata I.F., Zabetian C.P. The genetics of Parkinson disease // *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*. 2010; 23 (4): 228–242. Doi: 10.1177/0891988710383572.
11. Wang J., Liu Z.-L., Chen B. Polymorphisms of dopamine D3 receptor gene and Parkinson disease // *Chinese Journal of New Drugs and Clinical Remedies*. 2000; 19 (2): 108–110.
12. McGuire V., Van Den Eeden S.K., Tanner C.M., Kamel F., Umbach D.M., Marder K., Mayeux R., Ritz B., Ross G.W., Petrovich H., Topol B., Popat R.A., Costello S., Manthripragada A.D., Southwick A., Myers R.M., Nelson L.M. Association of DRD2 and DRD3 polymorphisms with Parkinson's disease in a multiethnic consortium // *Journal of the Neurological Sciences*. 2011; 307 (1): 22–29.
13. Dai D., Wang Y., Wang L., Li J., Ma Q., Tao J., Zhou X., Zhou H., Jiang Y., Pan G., Xu L., Ru P., Lin D., Pan J., Xu L., Ye M., Duan S. Polymorphisms of DRD2 and DRD3 genes and Parkinson's disease: A metaanalysis // *Biomedical Reports*. 2014; 2 (2): 275–281.
14. Ivanova S.A., Alifirova V.M., Zhukova I.A., Boiko A.S., Fedorenko O.Y., Zhukova N.G., Bokhan N.A. Assotsiatsii polimorfizmov gena DRD3 s bolezn'yu Parkinsona [The association of the DRD3 gene with Parkinson's disease] // *Zhurnal neurologii psikiatrii imeni S.S. Korsakova – Journal of Neurology and Psychiatry named C.C. Korsakov*. 2016; 116 (5): 71–74 (in Russian).
15. Segura-Aguilar J., Paris I. Mechanisms of Dopamine Oxidation and Parkinson's Disease // *Handbook of Neurotoxicity* / ed. Kostrzewa R.M. New York, NY: Springer New York, 2014: 865–883. Doi: 10.1007/978-1-4614-5836-4_16.
16. Shtok V.N., Levin O.S., Fedorova N.V. Extrapyramidnue rassroistva. Klassifikatsiya, terminologiya, diagnostika, lecheniye: rucovodstvo dl'a vrachey [Extrapyramidal disorders. Classification, terminology, diagnosis and treatment: a guide for physicians]. 2-e iss., rev. and exp. M.: MIA Publ., 2002: 235. ISBN 5-89481-095-7 (in Russian).
17. Goetz C.G. et al. Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Scale presentation and clinimetric testing results // *Movement Disorders*. 2008; 23 (15): 2129–2170. Doi: 10.1002/mds.22340.
18. Goetz C.G. et al. Movement Disorder Society Task Force report on the Hoehn and Yahr staging scale: Status and recommendations The Movement Disorder Society Task Force on rating scales for Parkinson's disease // *Movement Disorders*. 2004; 19 (9): 1020–1028.
19. Jiménez-Jiménez F.J. et al. COMT gene and risk for Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis // *Pharmacogenetics and Genomics*. 2014; 24 (7): 331–339. doi: 10.1097/FPC.000000000000056.
20. Zhang K. et al. An association study between catechol-O-methyltransferase gene and mental retardation in the Chinese Han population // *Neuroscience Letters*. 2007; 419 (1): 83–87. doi:10.1007/s10571-012-9817-3.
21. Higashiyama R. et al. Association of copy number polymorphisms at the promoter and translated region of COMT with Japanese patients with schizophrenia // *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*. 2016. doi: 10.1002/ajmg.b.32426.
22. Yoritaka A. et al. Catechol-O-methyltransferase genotype and susceptibility to Parkinson's disease in Japan // *Journal of Neural Transmission*. 1997; 104 (11–12): 1313–1317. doi: 10.1007/BF01294732.
23. Kiyohara C. et al. Genetic polymorphisms involved in dopaminergic neurotransmission and risk for Parkinson's disease in a Japanese population // *BMC Neurology*. 2011; 11 (1): 89. doi: 10.1186/1471-2377-11-89.
24. Shih P.-Y., Er T.-K., Chang J.-G. An association study between genetic variants at mu-opioid receptor, dopamine transporter, catechol-O-methyltransferase, and dopamine genes and risk of Parkinson's disease // *Neurology Asia*. 2013; 18 (3): 279–287.

25. Torkaman-Boutorabi A. et al. Association of monoamine oxidase B and catechol-O-methyltransferase polymorphisms with sporadic Parkinson's disease in an Iranian population // *Folia Neuropathol.* 2012; 50 (4): 382–389.
26. Benitez B.A. et al. Exploration of genetic susceptibility factors for Parkinson's disease in a South American sample // *Journal of Genetics.* 2010; 89 (2): 229–232. Doi: 10.1007/s12041-010-0030-1.
27. Bialecka M. et al. Catechol-O-methyltransferase and monoamine oxidase B genes and susceptibility to sporadic Parkinson's disease in a Polish population // *Eur. Neurol.* 2005; 53: 68–73. Doi: 10.1159/000084302.

Received November 11.2016

Accepted June 30.2017

Ivanova Svetlana A., DM, Professor, Head of the Molecular Genetics and Biochemistry Laboratory, Deputy Director, Mental Health Research Institute, Tomsk NRMC, RAS; Professor, Department of Ecology and Basic Safety, NR TPU, Tomsk, Russian Federation.

Alifirova Valentina M., DM, Professor, Head of the Neurology and Neurosurgery Department, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Zhukova Irina A., Associate Professor, Neurology and Neurosurgery Department, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Tiguntsev Vladimir V., Postgraduate Student, Mental Health Research Institute, Tomsk NRMC, RAS, Tomsk, Russian Federation.

Pozhidaev Ivan V., Postgraduate Student, National Research Tomsk State University, Junior Researcher, Molecular Genetics and Biochemistry Laboratory, Mental Health Research Institute, Tomsk NRMC, RAS, Tomsk, Russian Federation.

Osmanova Diana Z., Postgraduate Student, NR TSU; Junior Researcher, Molecular Genetics and Biochemistry Laboratory, Mental Health Research Institute, Tomsk NRMC, RAS, Tomsk, Russian Federation.

Fedorenko Olga Yu., DM, Leading Researcher, Molecular Genetics and Biochemistry Laboratory, Mental Health Research Institute, Tomsk NRMC, RAS; Professor, Department of Ecology and Basic Safety, NR TPU, Tomsk, Russian Federation.

Freydin Maxim B., DBSc, Senior Researcher, Population Genetics Laboratory, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk NRMC, RAS, Tomsk, Russian Federation.

Mironova Yulia S., Postgraduate Student, Neurology and Neurosurgery Department, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Zhukova Natalia G., DM, Professor, Neurology and Neurosurgery Department, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Bokhan Nikolay A., DM, Professor, Academician of RAS, Director, Mental Health Research Institute, Tomsk NRMC, RAS; Head of the Department of Psychiatry, Narcology and Psychotherapy, SSMU; Professor, Department of Psychotherapy and Psychological Counseling, NR TSU, Tomsk, Russian Federation.

Loonen Anton J.M., MD, Professor, Groningen Research Institute of Pharmacy, University of Groningen, Netherlands.

(✉) **Ivanova Svetlana A.**, e-mail: Svetlana@mail.tomsknet.ru.

УДК 616.831-005.1-005.4-06-074:616.89-008.45/.48

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-79-86

Для цитирования: Кулеш А.А., Дробаха В.Е., Куклина Е.М., Шестаков В.В. Амилоид-бета 40 как биомаркер когнитивных нарушений в остром периоде ишемического инсульта. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 79–86

Амилоид-бета 40 как биомаркер когнитивных нарушений в остром периоде ишемического инсульта

Кулеш А.А.¹, Дробаха В.Е.¹, Куклина Е.М.², Шестаков В.В.¹

¹ Пермский государственный медицинский университет (ПГМУ) имени академика Е.А. Вагнера Россия, 614000, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26

² Институт экологии и генетики микроорганизмов, Уральское отделение (УО) Российской академии наук (РАН) Россия, 614000, г. Пермь, ул. Голева, 13

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучение роли амилоида-бета 40 (Аβ 40) в развитии когнитивных нарушений в остром периоде ишемического инсульта.

Материал и методы. Обследованы 70 пациентов в возрасте 33–86 лет, из которых 46 мужчин и 24 женщины. У пациентов в остром периоде ишемического инсульта проводилась оценка когнитивного статуса (краткая шкала оценки психического статуса (MMSE), Монреальская шкала оценки когнитивных функций (MoCA), батарея лобных тестов (FAB), таблицы Шульте, тест рисования часов, тест на семантическую вербальную беглость и тест пяти слов). Также исследовалась концентрация Аβ 40 в ликворе, изучались морфометрические (размер очага инфаркта и площадь лейкоареоза, объем желудочков мозга и гиппокампов) и диффузионно-тензорные показатели (фракционная анизотропия скорлупы, таламуса, гиппокампа, мозолистого тела, ножек внутренней капсулы, цингулярного, верхнего продольного и нижнего фронто-окципитального пучков) магнитно-резонансной томографии.

Результаты. Концентрация Аβ 40 в ликворе составила 436,4 (226,0–514,0) пг/мл и была ассоциирована с результатом субтестов «ориентация» (MMSE) и «внимание» (MoCA), а также опосредованным воспроизведением в MoCA. Пациенты с результатом MMSE 24–27 баллов характеризовались более низкой концентрацией Аβ 40 по сравнению с пациентами с результатом шкалы менее 24 баллов. Концентрация Аβ 40 более 436,4 пг/мл была связана с более выраженной соматической коморбидностью инсульта (артериальная гипертензия, более низкое содержание гемоглобина и альбумина крови, более высокая скорость оседания эритроцитов), меньшим объемом желудочков мозга, более низкой фракционной анизотропией таламусов, цингулярных пучков и контралатерального гиппокампа и ассоциирована с более низким глобальным когнитивным статусом (по результатам MMSE и MoCA), а также снижением отдельных когнитивных функций, а именно внимания, зрительно-пространственного гнозиса и памяти.

Выводы. Концентрация Аβ 40 в спинномозговой жидкости является биологическим маркером как выраженности, так и характера постинсультных когнитивных нарушений, что, вероятно, опосредовано повреждением гиппокампов, таламуса и цингулярных трактов. При этом, на наш взгляд, биомаркер отражает как сосудистый, или ишемический, компонент патогенеза когнитивных нарушений в остром периоде ишемического инсульта, так и влияние амилоид-опосредованной нейродегенерации.

Ключевые слова: инсульт, амилоид, нейродегенерация, когнитивные нарушения.

✉ Кулеш Алексей Александрович, e-mail: aleksey.kulesh@gmail.com.

ВВЕДЕНИЕ

Проблеме смешанных когнитивных нарушений уделяется повышенное внимание научного сообщества ввиду сложности их патогенеза и высокой клинической значимости [1]. Смешанные познавательные нарушения могут быть установлены на основании наличия цереброваскулярной болезни и таких индикаторов болезни Альцгеймера, как постепенное снижение памяти, значимая эпизодическая амнезия и атрофия медиальных отделов височной доли [2]. Некоторые исследования показывают, что смешанная патология объясняет большинство когнитивных нарушений, связанных со старением [3]. Следует отметить, что одной из кардинальных патогистологических черт болезни является отложение β -амилоидного пептида в виде внеклеточных бляшек. Амилоид-бета представлен двумя формами (А β 40 и А β 42) [4], которые играют специфическую роль в патогенезе болезни Альцгеймера [5]. Показано, что концентрация А β 40 изменяется как при болезни Альцгеймера [6], так и у больных с неальцгеймеровской деменцией [7]. Более того, выявлено, что плазменный А β 40 участвует в развитии церебральной вазомоторной дисфункции у мышей [8]. Показано, что уровень А β 40 в крови выше у пациентов в остром периоде инсульта по сравнению с контролем и прямо коррелирует с тяжестью инсульта и размером очага [9]. Данный факт может отражать вызванное инфарктом образование β -амилоида в зоне повреждения как транзиторный феномен, наблюдаемый в острую фазу воспаления [10]. Все вышесказанное позволяет рассматривать концентрацию белка в качестве потенциального биологического маркера смешанных когнитивных нарушений в остром периоде ишемического инсульта. Исходя из данной гипотезы, целью настоящей работы явилось изучение роли А β 40 в развитии когнитивных нарушений в остром периоде ишемического инсульта.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на базе неврологического отделения для лечения больных с острым нарушением мозгового кровообращения Регионального сосудистого центра ГАУЗ ПК ГKB № 4 г. Перми. Критериями включения в исследование явились острый период первого ишемического инсульта, нейровизуализационное подтверждение острого инфаркта мозга, способность пациента осуществлять продуктивный контакт с врачом для оценки когнитивного статуса, подписание информированного добровольного согласия. Пациентам проводилось комплексное клиническое и инструментально-лабораторное обследование.

Оценка когнитивного статуса проводилась при помощи краткой шкалы оценки психического статуса (MMSE), Монреальской шкалы оценки когнитивных функций (MoCA), батареи лобных тестов (FAB), таблиц Шульте, теста рисования часов, теста на семантическую вербальную беглость и теста пяти слов на 2–3-й нед заболевания. С 7-го по 14-й день от начала заболевания определялась концентрация А β 40 в ликворе методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных тест-систем (Invitrogen, США).

MPT-обследование проводилось на магнитном томографе GE HealthcareBrivo MR 355 (General Electric, США) с напряженностью магнитного поля 1,5 Т. Алгоритм сканирования включал в себя импульсные последовательности T2, T1, FLAIR, диффузионно-взвешенные изображения, а также последовательности высокого разрешения сильно взвешенной по T1-Ax 3D T1 FSPGR BRAVO (256 x 256, Slicethickness 1,2 мм, NEX = 1, FOV 24,0, FA-12). Исследовались следующие МР-морфометрические показатели: объем головного мозга, объем желудочковой системы головного мозга, площадь лейкоареоза, размер очага инфаркта и объем гиппокампов. Для оценки трактов и вычисления значений фракционной анизотропии была проведена последовательность для получения диффузионно-тензорного изображения с использованием 12 направлений измерения. Полученные результаты были обработаны в программе OsiriX v3.6.1 с использованием приложения DTImap для построения карт фракционной анизотропии (ФА), приложения ADCmap для вычисления показателей измеряемого коэффициента диффузии, а также программы 3DSliver 4.4 для трехмерного построения трактов головного мозга. В анализ вошли показатели, полученные в скорлупе, таламусе, гиппокампе, колоне, теле и валике мозолистого тела, передней и задней ножках внутренней капсулы, цингулярном пучке, верхнем продольном пучке, нижнем фронто-окципитальном пучке, а также в этих зонах на противоположных, симметричных участках.

Статистический анализ проводился с использованием пакета программ Statistica 10.0. Количественные данные представлены как медиана *Me* (25–75-й процентиля). Сравнительный анализ двух независимых групп по количественному признаку выполнялся с помощью U-критерия Манна – Уитни. Корреляционный анализ (*r*) изученных показателей проводился с использованием непараметрического метода Спирмена.

В исследование включены 70 пациентов в возрасте 33–86 лет (*Me* 65 лет), из которых 46 муж-

чин и 24 женщины. Забор ликвора в контрольной группе не проводился по этическим соображениям.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Обследованные пациенты отличались нетяжелым инсультом, результат шкалы инсульта NIH составил 5 (2–7) баллов. Концентрация Аβ 40 в ликворе составила 436,4 (226,0–514,0) пг/мл.

Результаты корреляционного анализа концентрации Аβ 40 в ликворе с клинико-инструментальными данными представлены в табл. 1.

Т а б л и ц а 1

Результаты корреляционного анализа концентрации Аβ 40 в ликворе с клинико-инструментальными данными		
Показатель	Аβ 40 в ликворе	
	<i>r</i>	<i>p</i>
САД при поступлении	0,30	0,015
Гемоглобин	−0,27	0,023
Гематокрит	−0,43	0,0003
СОЭ	0,25	0,042
Объем желудочков	−0,39	0,014
ФА таламуса ипс.	−0,36	0,021
ФА гиппокампа контр.	−0,32	0,040

П р и м е ч а н и е. САД – систолическое артериальное давление, СОЭ – скорость оседания эритроцитов.

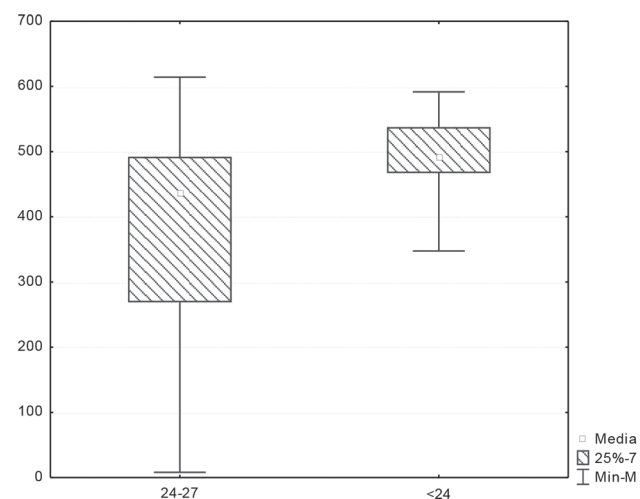


Рис. 1. Концентрация Аβ 40, пг/мл, у пациентов с различной степенью когнитивного дефицита по MMSE, балл

Fig. 1. Concentration of Аβ 40, pg / ml, in patients with varying degrees of cognitive deficiency by MMSE, score

Не отмечалось взаимосвязей уровня белка с возрастом, полом, уровнем образования, наличием сердечно-сосудистых заболеваний и сахарного диабета, количеством инсультов, патогенетическим типом инсульта и его тяжестью, показателями ультразвуковой диагностики сонных артерий и сердца, размером очага и выраженностью

лейкоареоза.

Наблюдались обратные ассоциации между ликворной концентрацией Аβ 40 и результатом субтеста «ориентация» MMSE ($r = -0,28$; $p = 0,033$), субтеста «внимание» MoCA ($r = -0,27$; $p = 0,045$), а также прямая взаимосвязь с результатом извлечения слов с подсказкой множественным выбором в MoCA ($r = 0,31$; $p = 0,046$). Пациенты с результатом MMSE 24–27 баллов характеризовались более низкой концентрацией Аβ 40 в ликворе по сравнению с пациентами с результатом шкалы менее 24 баллов ($p = 0,031$) (рис. 1).

В соответствии с медианой концентрации Аβ 40 в ликворе (436,4 пг/мл) пациенты были разделены на две группы (с содержанием Аβ 40 больше и меньше 436,4 пг/мл). Различий в возрасте между указанными подгруппами не выявлено. В табл. 2 представлены основные лабораторно-инструментальные и клинические различия между подгруппами.

Как представлено в табл. 2, высокая концентрация Аβ 40 в ликворе отмечалась у пациентов с более выраженной соматической коморбидностью инсульта (артериальная гипертензия, более низкое содержание гемоглобина и альбумина крови, более высокая СОЭ), меньшим объемом желудочков, нарушением интегральности таламусов, цингулярных пучков, контралатерального гиппокампа и ассоциирована с более низким глобальным когнитивным статусом (по результатам обеих использованных шкал), а также снижением отдельных когнитивных функций, а именно внимания, зрительно-пространственного гнозиса и памяти (рис. 2).

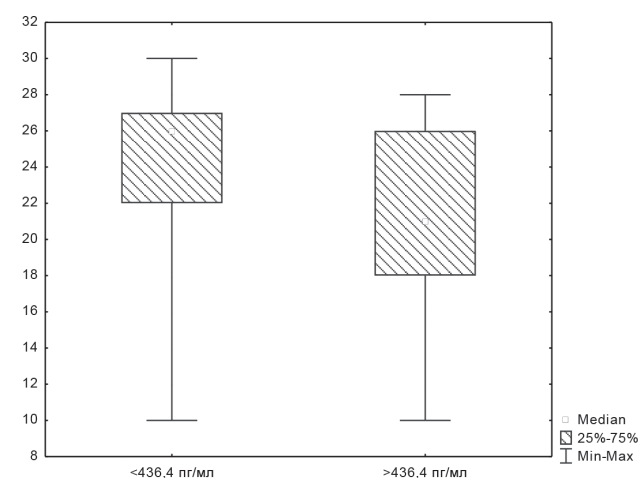


Рис. 2. Различия результата MoCA, балл, в зависимости от концентрации Аβ 40 в ликворе

Fig. 2. Differences in the MoCA result, score, depending on the concentration of Аβ 40 in the cerebrospinal liquor

Т а б л и ц а 2

Различия нейропсихологических и лабораторно-инструментальных показателей в зависимости от концентрации Аβ 40 в ликворе			
Показатель	Концентрация Аβ 40 более 436,4 пг/мл	Концентрация Аβ 40 менее 436,4 пг/мл	p
<i>Лабораторно-инструментальные данные</i>			
САД при поступлении, мм рт. ст.	160,0 (150,0–180,0)	150,0 (140,0–155,0)	0,003
Гемоглобин, г/л	138,0 (127,0–143,0)	147,0 (134,0–155,0)	0,011
Гематокрит, %	39,0 (35,0–42,0)	42,9 (40,4–45,0)	0,0002
СОЭ, мм/ч	22,5 (15,0–31,0)	15,0 (10,0–24,0)	0,007
Альбумин, г/л	46,0 (41,0–48,0)	48,0 (42,0–53,0)	0,021
<i>Когнитивный статус</i>			
MMSE, балл	26,0 (23,0–29,0)	28,0 (27,0–29,0)	0,028
Ориентация MMSE, балл	10,0 (9,0–10,0)	10,0 (10,0–10,0)	0,013
Тест рисования часов, балл	8,0 (5,0–10,0)	9,0 (8,0–10,0)	0,043
МоСА, балл	21,0 (18,0–26,0)	26,0 (22,0–27,0)	0,050
Внимание МоСА, балл	6,0 (4,0–6,0)	6,0 (6,0–6,0)	0,023
Подск. множ. выб.МоСА, балл	2,0 (1,0–3,0)	1,0 (0–2,0)	0,016
<i>Нейровизуализационные данные</i>			
Объем желудочков, см ³	35,0 (28,0–52,0)	49,5 (36,0–88,5)	0,031
ФА таламуса ипс.	0,29 (0,25–0,37)	0,34 (0,32–0,37)	0,013
ФА таламуса контр.	0,33 (0,28–0,36)	0,35 (0,33–0,41)	0,032
ФА гиппокампа контр.	0,21 (0,18–0,31)	0,28 (0,24–0,46)	0,034
ФА ЦП ипс.	0,50 (0,43–0,58)	0,54 (0,50–0,61)	0,037
ФА ЦП контр.	0,51 (0,46–0,56)	0,56 (0,52–0,59)	0,028

Примечание. САД – систолическое артериальное давление, СОЭ – скорость оседания эритроцитов, ЦП – цингулярный пучок, ипс. – ипсилатеральный, контр. – контралатеральный.

ОБСУЖДЕНИЕ

Уровень Аβ 40 в ликворе имел отрицательную корреляцию с состоянием когнитивных функций, что позволяет рассматривать данный показатель в качестве биомаркера когнитивных нарушений в остром периоде ишемического инсульта. Причем ликворная концентрация белка позволяла дифференцировать пациентов с умеренным и выраженным познавательным дефицитом. Более высокий ликворный уровень белка был ассоциирован с худшим глобальным когнитивным статусом, а также дефицитом нейродинамики, зрительно-пространственных функций и вторичной недостаточностью памяти – нейропсихологическими феноменами, характерными для смешанных постинсультных когнитивных нарушений [11]. Отчасти полученные данные соответствуют результатам исследований Р.Н. Lee (2005) и Y.H. Liu et al. (2015), согласно которым концентрация белка в сыворотке повышена в остром периоде инсульта [12, 13]. С другой стороны, в представленном исследовании не выявлено взаимосвязи уровня Аβ 40 с тяжестью инсульта и размером очага. Это может быть связано с более поздним сроком исследования уровня амилоида

да в настоящей работе. Также полученные данные перекликаются с результатами исследования S. Mouli et al. (2015), согласно которым Аβ 40 может быть вовлечен в сосудистые аспекты патогенеза острого периода инсульта в отличие от Аβ 42, который участвует в развитии нейродегенерации [14]. Интерпретация полученных данных может быть проведена в контексте результатов исследования W. Liu et al. (2015), согласно которым уровень отложения белка по данным позитронно-эмиссионной томографии у пациентов с инсультом коррелировал с состоянием отдельных когнитивных сфер, в том числе памяти, зрительно-пространственных и регуляторных функций [15].

Настоящее исследование показало, что высокая концентрация белка была связана с соматической отягощенностью инсульта, а также с дезинтеграцией таламусов, гиппокампа и цингулярных пучков – структур, рассматриваемых как стратегические по отношению к когнитивным процессам [16, 17]. Выявленная ассоциация с микроструктурой гиппокампа согласуется с данными экспериментальных исследований, продемонстрировавших взаимосвязь между атрофией гиппокампа и токсическим воздействием β-амилоида при инсульте, которая приводила к раз-

виту поведенческих и когнитивных нарушений у крыс [18]. При этом другими исследователями не выявлено корреляции уровня β -амилоида в ликворе с морфометрией гиппокампа у больных с инсультом [19]. Выявленная взаимосвязь уровня $A\beta$ 40 с микроструктурой цингулярных пучков, а также с состоянием зрительно-пространственных функций может быть интерпретирована в рамках данных о том, что ФА заднего цингулярного пучка, который является важным исходящим трактом медиальной височной доли, соединяющим заднюю цингулярную извилину с гиппокампом, может служить МР-маркером риска развития болезни Альцгеймера [20]. В целом полученные данные развивают гипотезу А. Thiel et al. (2014), согласно которой наличие на момент инсульта отложения амилоида в головном мозге снижает когнитивный резерв и увеличивает склонность к развитию постинсультных когнитивных нарушений [21].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Концентрация бета-амилоида 40 в спинномозговой жидкости является биологическим маркером как выраженности, так и характера постинсультных когнитивных нарушений, что, вероятно, опосредовано повреждением гиппокампов, таламуса и цингулярных трактов. При этом, на наш взгляд, биомаркер отражает как сосудистый, или ишемический, компонент патогенеза когнитивных нарушений в остром периоде ишемического инсульта, так и влияние амилоид-опосредованной нейродегенерации.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование одобрено локальным этическим комитетом Пермского государственного медицинского университета им. академика Е.А. Вагнера (протокол № 98 от 14.11.2014).

ЛИТЕРАТУРА

1. Левин О.С. Современные подходы к диагностике и лечению смешанной деменции // *Трудный пациент*. 2014; 12 (5): 40–46.
2. Bastos-Leite A.J., van der Flier W.M., van Straaten E.C., Staekenborg S.S., Scheltens P., Barkhof F. The contribution of medial temporal lobe atrophy and vascular pathology to cognitive impairment in vascular dementia // *Stroke*. 2007; 38: 3182–3185. DOI: 10.1161/STROKEAHA.107.490102.
3. Schneider J.A., Arvanitakis Z., Bang W., Bennett D.A. Mixed brain pathologies account for most dementia cases in community – dwelling older persons // *Neurology*. 2007; 69: 2197–2204. DOI: 10.1212/01.wnl.0000271090.28148.24.
4. Lewis J., Dickson D.W., Lin W.L., Chisholm L., Corral A., Jones G., Yen S.H., Sahara N., Skipper L., Yager D., Eckman C., Hardy J., Hutton M., McGowan E. Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP // *Science*. 2001; 293 (5534): 1487–1491. DOI: 10.1126/science.1058189.
5. McGowan E., Pickford F., Kim J., Onstead L., Eriksen J., Yu C., Skipper L., Murphy M.P., Beard J., Das P., Jansen K., Delucia M., Lin W.L., Dolios G., Wang R., Eckman C.B., Dickson D.W., Hutton M., Hardy J., Golde T. Abeta42 is essential for parenchymal and vascular amyloid deposition in mice // *Neuron*. 2005; 47(2): 191–199. DOI: 10.1016/j.neuron.2005.06.030.
6. Ikeda M., Yonemura K., Kakuda S., Tashiro Y., Fujita Y., Takai E., Hashimoto Y., Makioka K., Furuta N., Ishiguro K., Maruki R., Yoshida J., Miyaguchi O., Tsukie T., Kuwano R., Yamazaki T., Yamaguchi H., Amari M., Takatama M., Harigaya Y., Okamoto K. Cerebrospinal fluid levels of phosphorylated tau and $A\beta$ 1-38/ $A\beta$ 1-40/ $A\beta$ 1-42 in Alzheimer's disease with PS1 mutations // *Amyloid*. 2013; 20 (2): 107–112. DOI: 10.3109/13506129.2013.790810.
7. Slaets S., Le Bastard N., Martin J.J., Slegers K., Van Broeckhoven C., De Deyn P.P., Engelborghs S. Cerebrospinal fluid $A\beta$ 1-40 improves differential dementia diagnosis in patients with intermediate P-tau181P levels // *J. Alzheimers Dis*. 2013; 36 (4): 759–767. DOI: 10.3233/JAD-130107
8. Park L., Zhou P., Koizumi K., El Jamal S., Previti M.L., Van Nostrand W.E., Carlson G., Iadecola C. Brain and circulating levels of $A\beta$ 1-40 differentially contribute to vasomotor dysfunction in the mouse brain // *Stroke*. 2013; 44 (1): 198–204. DOI: 10.1161/STROKEAHA.112.670976.
9. Lee P.H., Bang O.Y., Hwang E.M., Lee J.S., Joo U.S., Mook-Jung I., Huh K. Circulating beta amyloid protein is elevated in patients with acute ischemic stroke // *J. Neural Transm (Vienna)*. 2005; 112 (10): 1371–1379. DOI: 10.1007/s00702-004-0274-0.
10. Garcia-Alloza M., Gregory J., Kuchibhotla K.V., Fine S., Wei Y., Ayata C., Frosch M.P., Greenberg S.M., Bacskai B.J. Cerebrovascular lesions induce transient β -amyloid deposition // *Brain*. 2011; 134 (12): 3697–3707. DOI: 10.1093/brain/awr300.
11. Кулеш А.А., Шестаков В.В. Постинсультные когнитивные нарушения и возможности терапии препаратом целлекс // *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова*. 2016; 116 (5): 38–42. DOI: 10.171116/jnevro20161165138-42.
12. Lee P.H., Bang O.Y., Hwang E.M., Lee J.S., Joo U.S., Mook-Jung I., Huh K. Circulating beta amyloid protein

- is elevated in patients with acute ischemic stroke // *Neural Transm (Vienna)*. 2005; 112 (10): 1371–1379. DOI: 10.1007/s00702-004-0274-0.
13. Das S., Paul N., Hazra A., Ghosal M., Ray B.K., Bannerjee T.K., Burman P., Das S.K. Cognitive dysfunction in stroke survivors: a community – based prospective study from Kolkata, India // *J. Stroke Cerebrovasc Dis.* 2013; 22 (8): 1233–1242. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2012.03.008.
 14. Moulin S., Leys D., Schraen-Maschke S., Bombois S., Mendyk A.M., Muhr-Tailleux A., Cordonnier C. Aβ1-40 and Aβ1-42 plasmatic levels in stroke: influence of pre – existing cognitive status and stroke characteristics // *Curr Alzheimer Res.* 2015 Oct 27. [Epub ahead of print].
 15. Liu W., Wong A., Au L., Yang J., Wang Z., Leung E.Y., Chen S., Ho C.L., Mok V.C. Influence of Amyloid-β on Cognitive Decline After Stroke/Transient Ischemic Attack: Three-Year Longitudinal Study // *Stroke*. 2015; 46 (11): 3074–3080.
 16. Дробаха В.Е., Кулеш А.А., Шестаков В.В. Фракционная анизотропия белого и серого вещества головного мозга в остром периоде ишемического инсульта как маркер неврологического, когнитивного и функционального статуса // *Медицинская визуализация*. 2015; 6: 8–15.
 17. Кулеш А.А., Шестаков В.В., Дробаха В.Е., Куikliна Е.М., Некрасова И.В. Нейровоспалительные, нейродегенеративные и структурные церебральные маркеры основных клинических вариантов постинсультных когнитивных нарушений в остром периоде ишемического инсульта // *Вестник Российской Академии Медицинских Наук*. 2016; 71 (4): 304–312. DOI: 10.15690/vramn728.
 18. Amtul Z., Nikolova S., Gao L., Keeley R.J., Bechberger J.F., Fisher A.L., Bartha R., Munoz D.G., McDonald R.J., Naus C.C., Wojtowicz J.M., Hachinski V., Cechetto D.F. Comorbid Aβ toxicity and stroke: hippocampal atrophy, pathology, and cognitive deficit // *Neurobiol Aging*. 2014; 35 (7): 1605–1614. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2014.01.005.
 19. Selnes P., Grambaite R., Rincon M., Bjørnerud A., Gjerstad L., Hessen E., Auning E., Johansen K., Almdahl I.S., Due-Tønnessen P., Vegge K., Bjelke B., Fladby T. Hippocampal complex atrophy in poststroke and mild cognitive impairment // *J. Cereb Blood Flow Metab.* 2015; 35 (11): 1729–1737. DOI: 10.1038/jcbfm.2015.110.
 20. Delano-Wood L., Stricker N.H., Sorg S.F., Nation D.A., Jak A.J., Woods S.P., Libon D.J., Delis D.C., Frank L.R., Bondi M.W. Posterior cingulum white matter disruption and its associations with verbal memory and stroke risk in mild cognitive impairment // *J. Alzheimers Dis.* 2012; 29 (3): 589–603. DOI: 10.3233/JAD-2012-102103.
 21. Thiel A., Cechetto D.F., Heiss W.D., Hachinski V., Whitehead S.N. Amyloid burden, neuroinflammation, and links to cognitive decline after ischemic stroke // *Stroke*. 2014; 45 (9): 2825–2829. DOI: 10.1161/STROKEA-HA.114.004285.

Поступила в редакцию 14.01.2017

Утверждена к печати 30.06.2017

Кулеш Алексей Александрович, канд. мед. наук, доцент, кафедра неврологии, ПГМУ имени академика Е.А. Вагнера, г. Пермь.

Дробаха Виктор Евгеньевич, ассистент, кафедра лучевой диагностики, ПГМУ имени академика Е.А. Вагнера, г. Пермь.

Куikliна Елена Михайловна, д-р биол. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория иммунорегуляции, Институт экологии и генетики микроорганизмов, УО РАН, г. Пермь.

Шестаков Владимир Васильевич, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой неврологии, ПГМУ имени академика Е.А. Вагнера, г. Пермь.

(✉) Кулеш Алексей Александрович, e-mail: aleksey.kulesh@gmail.com

УДК 616.831-005.1-005.4-06-074:616.89-008.45/.48

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-79–86

For citation: Kulesh A.A., Drobakha V.E., Kuklina E.M., Shestakov V.V. Amyloid-beta 40 as a biomarker of cognitive impairment in acute ischemic stroke. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 79–86

Amyloid-beta 40 as a biomarker of cognitive impairment in acute ischemic stroke

Kulesh A.A.¹, Drobakha V.E.¹, Kuklina E.M.², Shestakov V.V.¹

¹ Perm State Medical University named after academician EA Wagner
26, Petropavlovskaya Str., Perm, 614990, Russian Federation

² Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences
13, Goleva Str., Perm, 614990, Russian Federation

ABSTRACT

Aim: to study the role of amyloid-beta 40 (A β 40) in the development of cognitive impairment in acute ischemic stroke.

Materials and methods. The study included 70 patients aged 33–86 years, 46 men and 24 women. In patients with acute ischemic stroke cognitive status was assessed with Mini-Mental State Examination (MMSE), Montreal Cognitive Assessment Test (MoCA), Frontal Assessment Battery (FAB), Schulte tables, Clock Drawing Test, Test for Semantic Verbal Fluency and Five Words Test. The concentration of A β 40 in the cerebrospinal fluid was determined. Morphometric (size of the infarct and leukoaraiosis area, volume of the brain ventricles and hippocampus) and diffusion-tensor parameters of MRI (fractional anisotropy of putamen, thalamus, hippocampus, corpus callosum, limbs of the internal capsule, the cingulate, the superior longitudinal and inferior fronto-occipital tracts) were studied.

Results. The concentration of A β 40 in the cerebrospinal fluid was 436,4 (226,0–514,0) pg/ml. The protein level was associated with the result of subtests «Orientation» (MMSE) and «Attention» (MoCA), as well as indirect recall with cues in MoCA. Patients with MMSE score of 24–27 points were characterized by a lower concentration of A β 40 as compared to patients with a score less than 24 points. A β 40 concentration more than 436,4 pg/mL was associated with a more severe somatic co-morbidity of stroke (hypertension, lower hemoglobin and albumin level, higher erythrocyte sedimentation rate), a smaller volume of the brain ventricles, lower fractional anisotropy of the thalamus, cingulate tracts and contralateral hippocampus. A β 40 concentration more than 436,4 pg/mL was also associated with a lower global cognitive status (according to the MMSE and MoCA), as well as the reduction in certain cognitive functions, namely, attention, visual-spatial functions and memory.

Conclusions. The concentration of A β 40 in the cerebrospinal fluid is a biological marker of severity type of post-stroke cognitive impairment. This interaction is probably due to the damage to the hippocampus, thalamus and cingulate tracts. In our opinion, the biomarker reflects both ischemic and neurodegenerative components of the pathogenesis of cognitive impairment in acute ischemic stroke.

Key words: stroke, neurodegeneration, amyloid, fractional anisotropy, cognitive impairment.

REFERENCES

1. Levin O.S. Sovremennyyepodkhody k diagnostike i lecheniy usmeshannyh dementsii [Current approaches to diagnosis and treatment of mixed dementia] // *Trudnyyatsient – Difficult patient*. 2014; 12 (5): 40–46 (in Russian).
2. Bastos-Leite A.J., van der Flier W.M., van Straaten E.C., Staekenborg S.S., Scheltens P., Barkhof F. The contribution of medial temporal lobe atrophy and vascular pathology to cognitive impairment in vascular dementia // *Stroke*. 2007; 38: 3182–3185. DOI: 10.1161/STROKEAHA.107.490102.
3. Schneider J.A., Arvanitakis Z., Bang W., Bennett D.A. Mixed brain pathologies account for most dementia cases in community – dwelling older persons // *Neurology*. 2007; 69: 2197–2204. DOI: 10.1212/01.wnl.0000271090.28148.24.
4. Lewis J., Dickson D.W., Lin W.L., Chisholm L., Corral A., Jones G., Yen S.H., Sahara N., Skipper L., Yager D., Eckman C., Hardy J., Hutton M., McGowan E. Enhanced neurofibrillary degeneration in transgenic mice expressing mutant tau and APP // *Science*. 2001; 293 (5534): 1487–1491. DOI: 10.1126/science.1058189.
5. McGowan E., Pickford F., Kim J., Onstead L., Eriksen J., Yu C., Skipper L., Murphy M.P., Beard J., Das P., Jansen K., Delucia M., Lin W.L., Dolios G., Wang R., Eckman C.B., Dickson D.W., Hutton M., Hardy J., Golde T. Abeta42 is essential for parenchymal and vascular amyloid deposition in mice // *Neuron*. 2005; 47(2): 191–199. DOI: 10.1016/j.neuron.2005.06.030.
6. Ikeda M., Yonemura K., Kakuda S., Tashiro Y., Fujita Y., Takai E., Hashimoto Y., Makioka K., Furuta N., Ishiguro K., Maruki R., Yoshida J., Miyaguchi O., Tsukie T., Kuwano R., Yamazaki T., Yamaguchi H., Amari M., Takatama M., Harigaya Y., Okamoto K. Cerebrospinal fluid levels of phosphorylated tau and A β 1-38/A β 1-40/A β 1-42 in Alzheimer's disease with PS1 mutations // *Amyloid*. 2013; 20 (2): 107–112. DOI: 10.3109/13506129.2013.790810.
7. Slaets S., Le Bastard N., Martin J.J., Slegers K., Van Broeckhoven C., De Deyn P.P., Engelborghs S. Cerebrospinal fluid A β 1-40 improves differential dementia diagnosis in patients with intermediate P-tau181P levels // *J. Alzheimers Dis*. 2013; 36 (4): 759–767. DOI: 10.3233/JAD-130107.
8. Park L., Zhou P., Koizumi K., El Jamal S., Previti M.L., Van Nostrand W.E., Carlson G., Iadecola C. Brain and circulating levels of A β 1-40 differentially contribute to vasomotor dysfunction in the mouse brain // *Stroke*. 2013; 44 (1): 198–204. DOI: 10.1161/STROKEAHA.112.670976.
9. Lee P.H., Bang O.Y., Hwang E.M., Lee J.S., Joo U.S., Mook-Jung I., Huh K. Circulating beta amyloid protein

- is elevated in patients with acute ischemic stroke // *J. Neural Transm (Vienna)*. 2005; 112 (10): 1371–1379. DOI: 10.1007/s00702-004-0274-0.
10. Garcia-Alloza M., Gregory J., Kuchibhotla K.V., Fine S., Wei Y., Ayata C., Frosch M.P., Greenberg S.M., Bacs-kai B.J. Cerebrovascular lesions induce transient β -amyloid deposition // *Brain*. 2011; 134 (12): 3697–3707. DOI: 10.1093/brain/awr300.
 11. Kulesh A.A., Shestakov V.V. Postinsul'tnye kognitivnye narusheniya i vozmozhnosti terapiipreparatom tselleks [Post-stroke cognitive impairment and the possibility of treatment with cellex] // *Zh Nevrol Psikhiatr Im S.S. Korsakova – Journal of Neurology and Psychiatry named after S.S. Korsakoff*. 2016; 116 (5): 38–42. DOI: 10.17116/jnevro20161165138-42 (in Russian).
 12. Lee P.H., Bang O.Y., Hwang E.M., Lee J.S., Joo U.S., Mook-Jung I., Huh K. Circulating beta amyloid protein is elevated in patients with acute ischemic stroke // *Neural Transm (Vienna)*. 2005; 112 (10): 1371–1379. DOI: 10.1007/s00702-004-0274-0.
 13. Das S., Paul N., Hazra A., Ghosal M., Ray B.K., Bannerjee T.K., Burman P., Das S.K. Cognitive dysfunction in stroke survivors: a community – based prospective study from Kolkata, India // *J. Stroke Cerebrovasc Dis*. 2013; 22 (8): 1233–1242. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2012.03.008.
 14. Moulin S., Leys D., Schraen-Maschke S., Bombois S., Mendyk A.M., Muhr-Tailleux A., Cordonnier C. A β 1-40 and A β 1-42 plasmatic levels in stroke: influence of pre – existing cognitive status and stroke characteristics // *Curr Alzheimer Res*. 2015 Oct 27. [Epub ahead of print].
 15. Liu W., Wong A., Au L., Yang J., Wang Z., Leung E.Y., Chen S., Ho C.L., Mok V.C. Influence of Amyloid- β on Cognitive Decline After Stroke/Transient Ischemic Attack: Three-Year Longitudinal Study // *Stroke*. 2015; 46 (11): 3074–3080.
 16. Drobakha V.E., Kulesh A.A., Shestakov V.V. Fraktsionnaya anizotropiya belogo iserogoveshchestva golovного mozga v ostrom periode ishemicheskogo insul'ta kak marker nevrologicheskogo, kognitivnogo i funktsional'nogo statusa [Fractional anisotropy white and gray matter of brain in acute ischemic stroke as a marker of neurological, cognitive and functional status] // *Meditsinskaya vizualizatsiya – Medical Visualization*. 2015; 6: 8–15 (in Russian).
 17. Kulesh A.A., Shestakov V.V., Drobakha V.E., Kuklina E.M., Nekrasova I.B. Neyrovospalitel'nye, neyrodegenerativnye i strukturnye tserebral'nye markery osnovnykh klinicheskikh variantov postinsul'tnykh kognitivnykh narusheniy v ostrom periode ishemicheskogo insul'ta [Neuroinflammatory, neurodegenerative and structural brain biomarkers of the main types of post-stroke cognitive impairment in acute period of ischemic stroke] // *Vestnik Rossiyskoy Akademii Meditsinskikh Nauk – Annals of Russian Academy of Medical Sciences*. 2016; 71 (4): 304–312. DOI: 10.15690/vramn728 (in Russian).
 18. Amtul Z., Nikolova S., Gao L., Keeley R.J., Bechberger J.F., Fisher A.L., Bartha R., Munoz D.G., McDonald R.J., Naus C.C., Wojtowicz J.M., Hachinski V., Cechetto D.F. Comorbid A β toxicity and stroke: hippocampal atrophy, pathology, and cognitive deficit // *Neurobiol Aging*. 2014; 35 (7): 1605–1614. DOI: 10.1016/j.neurobiolaging.2014.01.005.
 19. Selnes P., Grambaite R., Rincon M., Bjørnerud A., Gjerstad L., Hessen E., Auning E., Johansen K., Almdahl I.S., Due-Tønnessen P., Vegge K., Bjelke B., Fladby T. Hippocampal complex atrophy in poststroke and mild cognitive impairment // *J. Cereb Blood Flow Metab*. 2015; 35 (11): 1729–1737. DOI: 10.1038/jcbfm.2015.110
 20. Delano-Wood L., Stricker N.H., Sorg S.F., Nation D.A., Jak A.J., Woods S.P., Libon D.J., Delis D.C., Frank L.R., Bondi M.W. Posterior cingulum white matter disruption and its associations with verbal memory and stroke risk in mild cognitive impairment // *J. Alzheimers Dis*. 2012; 29 (3): 589–603. DOI: 10.3233/JAD-2012-102103
 21. Thiel A., Cechetto D.F., Heiss W.D., Hachinski V., Whitehead S.N. Amyloid burden, neuroinflammation, and links to cognitive decline after ischemic stroke // *Stroke*. 2014; 45(9): 2825–2829. DOI: 10.1161/STROKEA-HA.114.004285.

Received January 14, 2017

Accepted June 30, 2017

Kulesh Aleksey A., PhD, Associate Professor, Department of Neurology, Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner, Perm, Russian Federation.

Drobakha Viktor E., Assistant, Radiology Department, Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner, Perm, Russian Federation.

Kuklina Elena M., DBSc, Principal Researcher Fellow, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation.

Shestakov Vladimir V., DM, Professor, Head of the Department of Neurology, Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner, Perm, Russian Federation.

(✉) **Kulesh Aleksey A.**, e-mail: aleksey.kulesh@gmail.com

УДК 575.224.232.5:616-055.9-07

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-87–96

Для цитирования: Латышев О.Ю., Санникова Е.С., Самсонова Л.Н., Киселёва Е.В., Окминян Г.Ф., Дондуп О.М., Касаткина Э.П. Нарушение формирования пола 45,X/46,XУ: клиничко-лабораторная характеристика пациентов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 87–96

Нарушение формирования пола 45,X/46,XУ: клиничко-лабораторная характеристика пациентов

Латышев О.Ю.¹, Санникова Е.С.¹, Самсонова Л.Н.¹, Киселёва Е.В.¹,
Окминян Г.Ф.¹, Дондуп О.М.², Касаткина Э.П.¹

¹ Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования (РМАНПО)
Россия, 125993, г. Москва, ул. Баффикадная, 2/1

² Российский национальный исследовательский медицинский университет (РНИМУ) им. Н.И. Пирогова
Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучить клиничко-лабораторную характеристику пациентов с нарушением формирования пола (НФП) 45,X/46,XУ.

Материал и методы. В исследование включены 248 пациентов с неправильным строением наружных гениталий от раннего неонатального периода до 18 лет. По результатам цитогенетического и молекулярно-цитогенетического обследований сформирована группа пациентов с НФП, обусловленного мозаицизмом 45,X/46,XУ. Проведена оценка антропометрических показателей, наружных и внутренних гениталий, гормональных показателей в мини-пубертате, нейтральном и пубертатном периодах, гистологическое исследование гонад, скрининг пороков развития.

Результаты. НФП с кариотипом 46,XУ выявлено в 48% (120/248) случаев, с кариотипом 46,XX – в 38% (93/248), НФП с патологией половых хромосом – в 14% (35/248) наблюдений. Хромосомное НФП представлено следующими вариантами: синдромы Клайнфельтера, Шерешевского – Ульриха – Тернера, химеризм, овотестикулярное, но большую часть составили пациенты с мозаицизмом 45,X/46,XУ (65%).

В группе пациентов с НФП 45,X/46,XУ медиана степени маскулинизации наружных гениталий по шкале External Masculinization Score (EMS) составила 3 [1; 5,5]. Среди пороков развития наружных гениталий в большинстве случаев (82%, 18/22) имело место сочетание крипторхизма с гипоспадией. Дериваты Мюллеровых протоков выявлены у 91% (20/22) пациентов. Большая часть пациентов (77%) адаптируется в мужском паспортном поле. Не выявлено статистически значимых различий в строении наружных и внутренних гениталий между группами пациентов, адаптируемых в мужском и женском паспортном поле.

При анализе гормональных показателей выявлена положительная корреляционная взаимосвязь между содержанием базального тестостерона в период мини-пубертата и индексом маскулинизации наружных гениталий по шкале EMS ($p = 0,002$; $r = 0,9$). В период мини-пубертата повышение уровня гонадотропных гормонов выявлено у 89% (8/9) детей, из которых сочетанное повышение лютеинизирующего гормона и фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) отмечено в 33% (3/9), изолированное повышение ФСГ в 56% (5/9) случаев. В пубертатном периоде у 75% (3/4) пациентов выявлен гипергонадотропный гипогонадизм.

✉ Латышев Олег Юрьевич, e-mail: elvkasatkina@yandex.ru.

По результатам гистологического исследования гонад отмечена гетерогенная картина. Гонады представлены различной степенью дисгенезии тестикулярной ткани: от легкой, близкой к гистологическому строению гонад при крипторхизме, до streak и овотестис.

Среди внегонадных проявлений заболевания лидируют паховые грыжи (86%), пороки сердца (77%) и почек (36%). Патологическая задержка роста диагностирована у 23% детей.

Выводы. В структуре заболевания на хромосомное НФП приходится 14% наблюдений. Группа пациентов с НФП 45,X/46,XУ гетерогенна по степени дисгенезии гонад, строению наружных и внутренних половых органов.

Ключевые слова: нарушение формирования пола, мозаицизм 45,X/46,XУ, дисгенезия гонад, гипоспадия.

ВВЕДЕНИЕ

Нарушение формирования пола (НФП) – врожденная патология, характеризующаяся несоответствием между генетическим, гонадным и фенотипическим полом. Распространенность НФП составляет 1 случай на 4 500–5 000 новорожденных [1, 2]. Согласно современной классификации, в основу которой положен цитогенетический принцип, выделяют НФП с мужским кариотипом (46,XУ), женским кариотипом (46,XX) и патологией половых хромосом [3].

В ходе реабилитации пациентов с НФП специалистами мультидисциплинарной команды решается несколько задач: выбор пола, хирургическая коррекция наружных и внутренних гениталий, заместительная гормональная терапия, психологическая поддержка пациента и членов его семьи. Кроме того, у пациентов с НФП имеет место высокий риск развития герминативноклеточных опухолей, что определяет необходимость выработки терапевтической тактики, направленной на минимизацию онкологических рисков [1, 4].

Первым шагом в решении этих задач является установление точной причины НФП. Установление варианта НФП в большинстве случаев позволяет осуществлять обоснованный выбор пола, стратифицировать риск развития опухоли гонад, сформировать терапевтическую и хирургическую тактику. На сегодняшний день частота верификации диагноза достаточно высока в группе пациентов с НФП 46,XX и патологией половых хромосом. Несмотря на расширение диагностических возможностей, в том числе использование молекулярно-генетического метода исследования, в группе пациентов с кариотипом 46,XУ уровень верификации варианта НФП остается низким [3].

На сегодняшний день разработано большое количество алгоритмов для верификации варианта НФП. Каждый из них в первую очередь предполагает определение кариотипа, что позволяет

уже на начальном этапе обследования выявить нозологический вариант НФП, обусловленного патологией половых хромосом.

Группа НФП, обусловленная патологией половых хромосом, гетерогенна и представлена такими состояниями, как синдром Кляйнфельтера, синдром Шерешевского – Ульриха – Тернера, химеризм. Одним из вариантов этой группы, представляющим интерес для исследования, является в том числе НФП с кариотипом 45,X/46,XУ. Частота встречаемости данного заболевания составляет 1 : 15 000 новорожденных [5]. Клиническая картина НФП 45,X/46,XУ гетерогенна и может варьироваться от двойственного строения гениталий и фенотипических особенностей, свойственных синдрому Шерешевского – Тернера до практически нормального мужского или женского фенотипа [6, 7].

Несмотря на то что исследование кариотипа является минимальным диагностическим критерием НФП, обусловленного патологией половых хромосом, вопросы выбора пола, заместительной терапии, гонадэктомии, генитопластики, снижения онкологического риска, психологической адаптации пациента остаются дискуссионными. Целью данного исследования явилось изучение клинических и лабораторных характеристик пациентов с нарушением формированием пола 45,X/46,XУ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включены 248 пациентов с НФП от раннего неонатального периода до 18 лет. Условия включения пациентов в исследование соответствовали критериям диагноза НФП, предложенным группой экспертов Европейской ассоциации эндокринологов совместно с Американским сообществом в рамках консенсуса 2006 г. по оказанию помощи детям с неопределенностью пола [3].

На первом этапе верификации диагноза пациентам проводилось цитогенетическое обследование методом G-окрашивания ($n = 248$) и молекулярно-цитогенетическое обследование методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) с ДНК-зондами на X- и Y-хромосомы ($n = 27$) на препаратах метафазных хромосом, которые получали из лимфоцитов периферической крови. По результатам кариологического анализа была сформирована группа из 22 пациентов с мозаицизмом 45,X/46,XY.

Дальнейшее обследование пациентов данной группы включало оценку акушерского анамнеза, антропометрических показателей (расчет SDS роста и индекса массы тела (ИМТ) проводили с помощью компьютерной программы KIGS Auxology Calculator 1.0 (Pfizer, США)), степени маскулинизации наружных гениталий (по шкале External Masculinization Score (EMS), 2000 г., [8]), объема тестикул (с помощью орхидометра Прадера, или методом эховолюмометрии [9]), стадии полового развития (по шкале Tanner [10]), строения внутренних гениталий (ультразвуковое исследование (УЗИ), лапароскопия, гистология), функционального состояния гипофизарно-гонадной системы, ультразвуковых особенностей почек и сердца.

Исследование функциональной активности гонад проводилось в период мини-пубертата ($n = 9$), в нейтральный ($n = 8$) и пубертатный ($n = 4$) периоды. Оценка функционального состояния гонад включала определение содержания в сыворотке крови гонадотропных гормонов (лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ); базального общего тестостерона (Т), анти-Мюллера гормона (АМГ), ингибина В). В качестве референсных значений ЛГ рассматривали: в мини-пубертате 2,2–4,1 мМЕ/мл, нейтральном периоде 0–2,1 МЕ/л, пубертатном периоде в зависимости от стадии полового развития по Tanner – 1,5–10 Ед/л; ФСГ – в мини-пубертате 0,7–1,2 мМЕ/мл, нейтральном периоде 0–6,5 мМЕ/мл, пубертатном периоде в зависимости от стадии полового развития по Tanner – 1,8–9,2 Ед/л; АМГ мини-пубертате и нейтральном периоде 3,8–159,8 нг/мл, пубертатном периоде 1,3–14,8 нг/мл; ингибина В в мини-пубертате и нейтральном периоде 10–352 пг/мл, пубертатном периоде 4,0–352,0 пг/мл.

С целью оценки андрогенной функции яичек пациентам в мини-пубертате и нейтральном периоде проводили пробу с хорионическим гонадотропином (ХГ) с расчетом дельты Т (ΔT). Показатель ΔT более 3,8 нмоль/л расценивали как достаточный ответ на стимуляцию ХГ.

Оценку внутренних гениталий осуществляли методом ультразвуковой визуализации ($n = 22$) и лапароскопического исследования ($n = 15$). При обнаружении дериватов Мюллера протока и дисгенетичных гонад проводилось удаление данных структур с гистологическим исследованием ($n = 10$). В одном наблюдении выполнена открытая биопсия гонады с гистологическим исследованием.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью методов вариационной статистики с использованием программ статистического анализа Biostat 1998, Statistica 7, Microsoft Excel 2010. Результаты сравнения количественных показателей, распределение которых согласовывалось с нормальным законом, представлены как среднее значение со среднеквадратичным отклонением. Результаты, распределение которых не согласовывалось с нормальным законом, представлены в виде медианы (Me) с приведением интерквартильного размаха [$Q1$; $Q3$]. Взаимосвязь количественных признаков оценивали с помощью корреляционного анализа Спирмена (r). Для сравнения двух независимых групп использовали критерий Фишера. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В основу современной классификации НФП положен цитогенетический принцип. Анализ результатов кариологического исследования показал: НФП с кариотипом 46,XY диагностировано в 48% (120/248), кариотипом 46,XX – в 38% (93/248), патологией половых хромосом – в 14% (35/248) наблюдений.

В свою очередь в группе НФП, обусловленной патологией половых хромосом, мозаицизм 45,X/46,XY выявлен у 65% (23/35) пациентов. Синдром Кляйнфельтера имел место у 23% (8/35) пациентов и был представлен следующими цитогенетическими вариантами – 47,XXY ($n = 5$); 46,XY/47,XXY ($n = 2$); 46,XX/46,XY/47,XXY ($n = 1$). Синдром Шерешевского – Ульриха – Тернера диагностирован у 6% (2/35) пациентов и представлен следующими цитогенетическими вариантами – регулярная моносомия (45,X) и изохромосома по длинному плечу X-хромосомы (45,X/46,XiXq). Редкий вариант аномалии в системе половых хромосом – химеризм (46,XX/46,XY) выявлен у 6% (2/35) пациентов.

Стандартный цитогенетический анализ лимфоцитов периферической крови позволил выявить мозаицизм 45,X/46,XY в 83% (19/23) случаев.

У 17% (4/23) пациентов первично обнаружен нормальный мужской кариотип (46,XY). Однако присутствие клинико-лабораторных признаков моносомального клона клеток определило необходимость дополнительного проведения FISH-анализа с ДНК-зондами на X- и Y-хромосомы, что в последующем позволило выявить мозаицизм в этой группе. Один пациент был первоначально включен в группу обследования из-за наличия брата-близнеца с подтвержденным диагнозом «хромосомное НФП 45,X/46,XУ». У данного пациента имел место изолированный односторонний крипторхизм и по данным стандартного цитогенетического анализа лимфоцитов периферической крови был определен кариотип 45,X/46,XУ, однако при проведении FISH-анализа установлен нормальный мужской кариотип (46,XY).

Анализ акушерского анамнеза пациентов с НФП 45,X/46,XУ показал, что средний возраст матерей на момент беременности составил $(27,3 \pm 5,77)$ года, из них – первородящие 40% (9/22) женщин. Беременность протекала без особенностей в 86% (19/22) случаев и лишь в 14% (3/22) случаев была угроза прерывания. Все дети родились в срок, за исключением одного ребенка (4%, 1/22), который родился на 34-й нед беременности. Задержку внутриутробного развития имели 14% (3/22) детей.

Анализ возраста пациента к моменту верификации диагноза продемонстрировал, что окончательный вариант НФП установлен у 64% (14/22) пациентов в возрасте до 1 мес, 9% (2/22) – до 1 года; у 18% (4/22) – до 2,5 лет и в 9% (2/22) случаях – в пубертатном периоде. Дети в соответствии с выбранным полом распределились следующим образом: мужской пол назначен в 77% (17/22), женский – 23% (5/22) случаев.

Медиана степени маскулинизации наружных гениталий по шкале EMS у пациентов с НФП 45,X/46,XУ составила 3 [1; 5,5]. Пороки развития наружных гениталий пациентов с НФП 45,X/46,XУ в большинстве случаев (82%, 18/22) были представлены сочетанием крипторхизма с гипоспадией, среди которых в 89% (16/18) случаев имела место проксимальная (мошоночная, промежностная) форма, 11% (2/18) – дистальная (головчатая) форма гипоспадии. Изолированная проксимальная гипоспадия выявлена у 18% (4/22) обследованных.

В группе, адаптируемой в мужском поле, сочетание крипторхизма с гипоспадией выявлено в 76% (13/17) случаев, а изолированная проксимальная гипоспадия в 24% (4/17). Среди пациентов, адаптируемых в женском поле, в 100% (5/5)

случаев имело место сочетание проксимальной гипоспадии с крипторхизмом. При этом статистически значимой разницы между группами не выявлено ($p = 0,73$). В группе пациентов, адаптируемых в мужском поле, медиана индекса маскулинизации наружных гениталий по EMS составила 4,5 [2,5; 6], в женском поле – 1, разница между группами не значима ($p = 0,9$).

При оценке строения внутренних половых органов методом ультразвукового сканирования и лапароскопии наличие дериватов Мюллера протока (матка, маточные трубы) было подтверждено у 91% (20/22) пациентов. При этом группы детей, разделенных по полу адаптации, значимо не различались ($p = 1,0$): у детей в мужском паспортном поле дериваты Мюллера протока выявлены в 88% (15/17), в женском – в 100% (5/5) случаев.

Анализ функционального состояния гипофизарно-гонадной системы в периоде мини-пубертата показал, что медиана ЛГ в сыворотке крови составила 2,55 мМЕд/мл [2; 4,1], ФСГ – 6,5 мМЕд/мл [2,1; 7,3], тестостерона – 4,72 нмоль/л [3,65; 7,52], АМГ – 43,85 нг/мл [40,2; 53,2] и ингибина В – 165,1 пг/мл [131; 179,5]. Повышение концентрации ФСГ установлено в 89% (8/9) случаев, ЛГ – 33% (3/9); сочетанное повышение ЛГ и ФСГ у 33% (3/9) пациентов, а изолированное увеличение ФСГ – у 56% (5/9). При этом повышение ЛГ отмечено только в комбинации с возрастанием ФСГ.

Выявлена положительная корреляционная взаимосвязь между содержанием базального Т и индексом маскулинизации наружных гениталий по шкале EMS ($p = 0,002$; $r = 0,9$) и отсутствие таковой между содержанием АМГ в сыворотке крови и индексом маскулинизации наружных гениталий по EMS ($p = 0,74$; $r = 0,069$).

Анализ функционального состояния гипофизарно-гонадной системы в нейтральном периоде показал, что медиана ЛГ в сыворотке крови составила 0,12 мМЕд/мл [0,1; 0,73], ФСГ – 2,56 мМЕд/мл [0,9; 3,55], тестостерона – 0,13 нмоль/л [0,1; 0,27], что соответствует референсным значениям для данного периода; АМГ – 26,6 нг/мл [3,22; 39,9] и ингибина В – 54,1 пг/мл [47,3; 138].

Принимая во внимание то, что секреция АМГ половыми железами сопоставима в мини-пубертате и нейтральном периоде, пациентов этих двух возрастных групп объединили для общего анализа. Медиана АМГ в крови в общей группе составила 38,9 нг/мл [15,97; 45,6]. При этом высоконормальные значения АМГ отмечены у 14%

(2/14), низкие или низконормальные значения – 86% (12/14) пациентов.

С целью уточнения андрогенной функции гонад 12 пациентам в мини-пубертате и нейтральном периоде проведен тест с ХГ. Недостаточное повышение Т (ΔT 1,44 и 2,45 нмоль/л) в ответ на стимуляцию ХГ отмечено в 17% (2/12) случаев, достаточный ответ на стимуляцию ХГ (ΔT $(11,5 \pm 7,7)$ нмоль/л) выявлен в 83% (10/12) случаев.

При сравнении показателей АМГ и ΔT в мини-пубертате и нейтральном периоде установлено, что сниженное содержание в сыворотке крови АМГ встречается чаще в сравнении с недостаточным повышением Т в ответ на стимуляцию ХГ ($p = 0,0007$). Из четырех пациентов, достигших пубертатного возраста, три пациента адаптируются в мужском поле, один – в женском поле. У двух из трех пациентов, адаптируемых в мужском паспортном поле, сформировался гипергонадотропный гипогонадизм, причем у одного парциальный (АГ 5,9 мМЕд/мл, ФСГ 31 мМЕд/мл) и у одного после гонадэктомии в 13 лет – тотальный (АГ 13,3 мМЕд/мл, ФСГ 81 мМЕд/мл). У пациентки, адаптируемой в женском паспортном поле, сформировался тотальный гипергонадотропный гипогонадизм (АГ 18 мМЕд/мл, ФСГ 110 мМЕд/мл) до проведения гонадэктомии.

Для гистологического анализа оказались доступны 10 гонад, которые были получены от восьми пациентов. При этом пяти пациентам удалена одна гонада в возрасте, близком к моменту установления диагноза, вторая гонада либо низводилась, либо изначально находилась в мошонке. Двум пациентам удалены обе гонады в отдаленном периоде после установления диагноза в подростковом возрасте. У данных пациентов в момент верификации диагноза гонады находились в состоянии крипторхизма. Одному пациенту в возрасте 14 лет в связи с поздней верификацией диагноза проводилась открытая биопсия низведенного ранее яичка.

По данным анализа результатов гистологического исследования гонад в 10% (1/10) случаев заключение неинформативно, в 40% (4/10) описание гонад соответствует дисгенетичным гонадам или streak, в 40% (4/10) описание гонад соответствует характеристике гонад, находящихся в состоянии крипторхизма, в 10% (1/10) установлено наличие как ткани яичка, так и яичника, то есть овотестис. По данным УЗИ признаки микролитиаза выявлены в 27% (6/22) случаев.

Наличие моносомального клона клеток в кариотипе данной группы пациентов определило необходимость поиска пороков развития, свой-

ственных мозаичному кариотипу 45,X/46,XY. При оценке роста детей с мозаицизмом 45,X/46,XY на момент исследования патологическая задержка выявлена у 23% (5/22) пациентов, в то время как примордиальная задержка роста была отмечена лишь у 5% (1/22) пациентов. За время наблюдения патологическая задержка роста выявлена у 21% (3/14) пациентов в периоде мини-пубертата и нейтральном, у 50% (2/4) – в пубертатном периоде.

Пороки развития почек (подковообразная почка, поликистоз, пиелозктазия, солитарная киста почки) выявлены у 36% (8/22) пациентов. Врожденные пороки сердца (коарктация аорты, двухстворчатый аортальный клапан, дефект межжелудочковой перегородки мембранозной части, гипоплазия перешейка аорты, открытое овальное окно, открытый аортальный проток) выявлены у 77% (10/13) пациентов. Паховые грыжи при рождении с одной или с двух сторон имели 86% (19/22) пациентов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование посвящено клиническим, лабораторным и гистологическим особенностям варианта НФП, обусловленного мозаицизмом 45,X/46,XY. По результатам цитогенетического и молекулярно-цитогенетического обследований 248 пациентов установлена структура НФП. С практически одинаковой частотой НФП представлено мужским (48%) и женским кариотипами (38%), реже – в 14% случаев имеет место НФП, обусловленное патологией половых хромосом. Больше половины (65%) случаев НФП, вызванного патологией половых хромосом, обусловлено мозаицизмом 45,X/46,XY. Полученные сведения о структуре НФП в целом соответствуют данным мирового регистра пациентов с НФП. Так, на октябрь 2015 г. в международной базе данных зарегистрировано 1885 пациентов с НФП, среди которых кариотип 46,XY выявлен у 65%, кариотип 46,XX – 18% и хромосомное НФП – у 17% пациентов [11].

Известно, что реабилитация и адаптация пациента с НФП в социуме во многом определяется нозологическим вариантом. В случае варианта НФП 45,X/46,XY для установления окончательного диагноза достаточным является проведение цитогенетического исследования. Однако не существует единого мнения о чувствительности и специфичности методик определения кариотипа (GTG, FISH) в случае НФП. Также остается нерешенным вопрос о материале исследования (лимфоциты периферической крови, ткань гонады, буккальный эпителий). В ходе данного

исследования всем детям первоначально проведено кариотипирование методом GTG на лимфоцитах периферической крови, по результатам которого у каждого четвертого пациента (22%) кариотип определен неверно, причем ошибки были как ложноотрицательными, так и ложноположительными. В целом среди ошибочных заключений преобладали ложноотрицательные результаты. Так, в большинстве ошибочных заключений (80%) определен нормальный мужской кариотип, и только в одном наблюдении ошибочно установлен моносомальный клон клеток.

Большинству пациентов (73%) диагноз был установлен в течение первого года жизни, причем более чем в половине случаев – в раннем неонатальном периоде, что обусловлено двойственным строением наружных гениталий и направлением пациентов к специалисту сразу после рождения. Однако у 18% пациентов диагноз установлен в нейтральном периоде жизни, так как строение наружных гениталий не рассматривалось врачами как проявление НФП, что отсрочило проведение цитогенетического исследования и установление диагноза. Более того, двум пациентам (9%) диагноз НФП был установлен в пубертатном периоде. В первом случае пациентка имела практически нормальное женское строение наружных половых органов, и поводом для обращения послужила выраженная задержка физического развития и отсутствие вторичных половых признаков в хронологическом пубертатном возрасте. В другом случае пациенту был ошибочно установлен нормальный мужской кариотип методом GTG, что определило наблюдение в группе пациентов с НФП 46,XУ, и лишь после пересмотра кариотипа методом FISH в связи с патологической задержкой роста был выявлен моносомальный клон клеток, что позволило включить пациента в группу исследования, изменить тактику ведения и прогноз.

Выбор пола у пациентов с НФП определяется в первую очередь половой дифференцировкой головного мозга. Известно, что дифференцировка головного мозга по мужскому типу происходит на 6–7-й нед гестации и зависит от содержания тестостерона. В части случаев выбор пола не вызывает сомнений, например пациенты с НФП 46,XУ с полной формой синдрома нечувствительности к андрогенам всегда адаптируются в женском поле, а пациенты с НФП 46,XУ, обусловленным дефицитом 5-альфа-редуктазы 2-го типа, – в мужском. У пациентов с НФП 45,X/46,XУ возможны различные варианты выбора гендерной принадлежности. При этом принимается во внимание совокупность таких факторов, как

степень маскулинизации наружных гениталий, возможность их оперативной коррекции в соответствии с выбранным полом, морфологическая зрелость гонад, потенциал фертильности, мнение родителей и микросоциума [1, 2]. В исследуемой когорте пациентов мужской пол был выбран у большинства пациентов (77%), что сопоставимо с данными других исследователей [1, 2, 7].

В данной выборке пациентов с НФП 45,X/46,XУ аномалии строения наружных гениталий в большинстве случаев (82%) представлены сочетанием крипторхизма с гипоспадией. В остальных случаях выявлена изолированная проксимальная гипоспадия. Медиана степени маскулинизации наружных гениталий по EMS среди всех пациентов составила 3, у адаптируемых в мужском поле – 4,5; в то время как в группе пациентов, адаптируемых в женском поле, – 1. Выявлена положительная корреляционная связь между уровнем Т в период мини-пубертата и степенью маскулинизации. Следовательно, индекс маскулинизации EMS может свидетельствовать о концентрации Т внутриутробного развития и, вероятно, о характере половой дифференцировки головного мозга. Таким образом, в случае НФП 45,X/46,XУ индекс EMS может быть использован в качестве одного из критериев при выборе гендерной принадлежности.

Интерес представляет функциональное состояние гонад у пациентов с мозаицизмом 45,X/46,XУ. Наиболее значимым представляется оценка функции гонад в период мини-пубертата: с одной стороны оценка проводится, как правило, до удаления гонад, с другой – позволяет в раннем возрасте оценить репродуктивную систему, использовать полученные сведения при выборе пола и прогнозировать работу гипофизарно-гонадной системы в пубертатном периоде.

По результатам исследования в группе пациентов с НФП 45,X/46,XУ страдает как андрогенная, так и сперматогенная функции яичек, при этом патологические изменения сперматогенной функции гонад, как правило, преобладают. Так, в период мини-пубертата отмечено повышение ФСГ практически в 90% случаев, при этом сочетание с ЛГ – в трети (33%) случаев, в то время как изолированное повышение ЛГ не отмечено ни в одном наблюдении. Более того, концентрация Т в мини-пубертате находилась у всех детей в диапазоне нормы с минимальным значением 2 нмоль/л, максимальным – 9 нмоль/л. При исследовании андрогенной функции яичек в ходе теста с ХГ снижение функционального состояния клеток Лейдига установлено только в 17% случаев. Напротив, низкие значения содержания АМГ

выявлены практически у 90% пациентов. Сравнивая вклад таких гормональных способов диагностики, как содержание АМГ в крови, результаты пробы с ХГ, можно сделать вывод, что показатель АМГ является более значимым критерием в диагностике дисгенезии тестикулярной ткани в рамках диагноза НФП 45,X/46,XY.

В ходе наблюдения четыре пациента (три мальчика) достигли пубертатного возраста, и практически у всех (75%) сформировался гипергонадотропный гипогонадизм, причем у 33% – парциальный, 77% – тотальный.

Известно, что НФП 45,X/46,XY представляет собой один из вариантов дисгенезии гонад. Степень дисгенезии гонад варьирует от практически нормальной ткани яичка с неспецифическими гистологическими признаками, характерными для гонады в состоянии крипторхизма, до овотестис [12]. Согласно современной классификации, НФП 45,X/46,XY может быть представлен двумя вариантами – смешанной дисгенезией гонад и овотестикулярным НФП. В классическом представлении смешанная дисгенезия гонад представляет собой сочетание streak, с одной стороны, и гонады различной степени дисгенезии, с другой стороны. Однако степень дисгенезии гонады и их сочетания могут быть различны. По данным гистологического исследования удаленных гонад, установлено, что с одинаковой частотой (до 40%) имела место гистологическая картина, соответствующая гонаде в состоянии крипторхизма и гонаде различной степени дисгенезии вплоть до streak. Овотестис явился наиболее редким вариантом данного состояния.

Известно, что НФП с различной степенью дисгенезии гонад представляет собой группу риска по развитию герминативноклеточных опухолей яичек. Причем вариант НФП 45,X/46,XY представляет наибольшую степень онкологического риска [3, 4]. В данном исследовании не диагностировано ни одного случая герминативноклеточной опухоли яичек. Однако у каждого третьего пациента выявлен такой предиктор герминативноклеточного рака, как тестикулярный микролитиаз.

В последние годы внимание многих специалистов у пациентов с НФП привлекают внегонадные проявления. Так, по данным крупнейшего мирового регистра пациентов с НФП, пороки развития выявлены в 26% наблюдений [13]. В случае НФП, обусловленным патологией половых хромосом, частота пороков увеличивается. Так, у пациентов с кариотипом 45,X аномалии развития встречаются в 75% случаев, при кариотипе

45,X/46,XY – в 45% случаев [13].

По результатам данного исследования, у трети (36%) пациентов выявлены пороки развития почек, у двух третей (77%) – пороки развития сердечно-сосудистой системы. Патологию роста имеет каждый пятый пациент с НФП 45,X/46,XY. При этом в части случаев (5%) задержка роста формируется во внутриутробном периоде, в нейтральном периоде распространенность задержки роста достигает уже 21%, максимальная частота (50%) отмечена в пубертатном периоде. Фенотип, характерный для синдрома Шерешевского – Ульриха – Тернера, имел всего один пациент, адаптируемый в женском паспортном поле. Паховые грыжи при рождении с одной или двух сторон имели около 90% пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В структуре НФП на патологию половых хромосом приходится 14% случаев, среди которых более половины (65%) всех случаев представлены мозаицизмом 45,X/46,XY. Из них большинство (77%) пациентов воспитываются в мужском поле. Для своевременной верификации НФП 45,X/46,XY предпочтительно использовать комбинацию цитогенетического и молекулярно-цитогенетического методов исследования. Группа пациентов с НФП 45,X/46,XY гетерогенна по степени дисгенезии гонад, строению внутренних и наружных половых органов и функциональному состоянию гонад, что следует учитывать при выборе паспортного пола такому пациенту.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ И ВКЛАД АВТОРОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи, и сообщают о вкладе авторов. Латышев О.Ю. – разработка концепции и дизайна исследования, подготовка текста статьи. Санникова Е.С. – подготовка текста статьи, статистическая обработка результатов. Самсонова Л.Н. – окончательное утверждение рукописи для публикации. Киселёва Е.В. – сбор данных, анализ и интерпретация данных. Окминян Г.Ф. – разработка дизайна исследования, анализ и интерпретация данных. Дондуп О.М. – анализ и интерпретация данных. Касаткина Э.П. – проверка критически важного интеллектуального содержания.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование одобрено локальным этическим комитетом РМАНПО (протокол № 11 от 10.11.2016).

ЛИТЕРАТУРА

1. Gonul Ocal. Current concepts in disorders of sexual development // *J. Clin. Res. Ped. Endo.* 2011; 3 (3): 105–114. doi: 10.4274/jcrpe.v3i3.22.
2. Ahmed S.F., Morrison S., Hughes I.A. Intersex and gender assignment; the third way? // *Arch. Dis. Child.* 2004; 89: 847–850. doi: 10.1136/ad.2003.035899.
3. Lee P.A., Achmed S.F., Houk C.P., Hughes I.A. Consensus Statement on Management of Intersex Disorders // *Pediatrics.* 2006; 118: e488–e500. doi: 10.1542/peds.2006-0738.
4. Латышев О.Ю., Самсонова Л.Н., Касаткина Э.П., Окминян Г.Ф., Киселёва Е.В., Тимофеева Е.С. Риск развития опухоли гонад пациентов с дисгенезией гонад и кариотипом 46,XY // *Бюл. сиб. медицины.* 2015; 14 (5): 41–46.
5. Nielsen J., Wohler M. Chromosome abnormalities found among 34,910 newborn children: results from a 13-year incidence study in Arhus, Denmark // *Hum. Genet.* 1991; May. 87 (1): 81–83. doi:10.1007/BF01213097.
6. Juliana Gabriel Ribeiro de Andrade, Gil Guerra-Júnior, Andriya TrevasMaciel-Guerra. 46,XY and 45,X/46,XY testicular dysgenesis: similar gonadal and genital phenotype, different prognosis // *Arq. Bras. De Endocrinol. Metab.* 2010; 54 (3): 331–334. doi: http://dx.doi.org/10.1590/S0004-27302010000300013.
7. Marie Lindhardt Johansen, Casper P. Hagen, Ewa Rajpert-De Meyts, Susanne Kjørgaard, Bodil L. Petersen, Niels E. Skakkebaek, Katharina M. Main, Anders Juul. 45,X/46,XY mosaicism: phenotypic characteristics, growth, and reproductive function – a retrospective longitudinal study // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2012; Aug. 97 (8): e1540–e1549. doi: https://doi.org/10.1210/jc.2012-1388.
8. Ahmed S.F., Khwaja O., Hughes I.A. The role of a clinical score in the assessment of ambiguous genitalia // *BJU International.* 2000; 85: 120–124. doi: 10.1046/j.1464-410x.2000.00354.x.
9. Prader A. Testicular size: assessment and clinical importance // *Triangle.* 1966; 7 (6): 240–243. doi: http://dx.doi.org/10.1016/1054-139X(92)90364-H.
10. Marshall W.A., Tanner J.M. Variations in the pattern of pubertal changes in boys // *Arch. Dis. Child.* 1970; 45 (13): 13–23. doi: http://doi.org/10.1136/ad.45.239.13.
11. http://www.gla.ac.uk/schools/medicine/research/child-health/i-dsdproject/surveys/
12. Farrugia M.K., Sebire N.J., Achermann J.C., Eisawi A., Duffy P.G., Mushtaq I. Clinical and gonadal features and early surgical management of 45,X/46,XY and 45,X/47,YYY chromosomal mosaicism presenting with genital anomalies // *Journal of Pediatric Urology.* 2013; 9: 139–144. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.jpurol.2011.12.012.
13. Kathryn Cox, Jillian Bryce, Jipu Jiang, Martina Rodie, Richard Sinnott, S. Faisal Ahmed et al. Novel associations in disorders of sex development: findings from the I-DSD registry // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2014; Feb. 99 (2): e348–e355. doi: 10.1210/jc.2013-2918.

Поступила в редакцию 07.10.2016

Утверждена к печати 30.06.2017

Латышев Олег Юрьевич, канд. мед. наук, доцент, кафедра детской эндокринологии, РМАНПО, г. Москва.

Санникова Екатерина Сергеевна, аспирант, кафедра детской эндокринологии, РМАНПО, г. Москва.

Самсонова Любовь Николаевна, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой детской эндокринологии, РМАНПО, г. Москва.

Киселёва Елена Валентиновна, канд. мед. наук, доцент, кафедра детской эндокринологии, РМАНПО, г. Москва.

Окминян Гоар Феликсовна, канд. мед. наук, доцент, кафедра детской эндокринологии, РМАНПО, г. Москва.

Дондуп Ольга Михайловна, канд. мед. наук, доцент, кафедра анатомии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, г. Москва.

Касаткина Эльвира Петровна, д-р мед. наук, профессор, кафедра детской эндокринологии, РМАНПО, г. Москва.

(✉) Латышев Олег Юрьевич, e-mail: elvkasatkina@yandex.ru.

УДК 575.224.232.5:616-055.9-07

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-87-96

For citation: Latyshev O.Yu., Sannikova E.S., Samsonova L.N., Kiseleva E.V., Okminyan G.F., Dondup O.M., Kasatkina E.P. Disorders of sex development 45,X/46,XY: clinical and laboratory characteristics of patients. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 87–96

Disorders of sex development 45,X/46,XY: clinical and laboratory characteristics of patients

Latyshev O.Yu.¹, Sannikova E.S.¹, Samsonova L.N.¹, Kiseleva E.V.¹,
Okminyan G.F.¹, Dondup O.M.², Kasatkina E.P.¹

¹ Russian Medical Academy of Postgraduated Education Study Department of Pediatric Endocrinology
2/1, Barrikadnaya Str., Moscow, 123995, Russian Federation

² Pirogov Russian National Research Medical University
1, Ostrovitianov Str., Moscow, 117997, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the clinical and laboratory characteristics of patients with disorders of sex development (DSD) 45,X/46,XY.

Materials and methods. The study included 248 patients with genital malformations from early neonatal period to 18 years. The group of patients with DSD 45,X/46,XY was formed according to the results of cytogenetic and molecular cytogenetic examination. Anthropometric data, external and internal genitalia, hormonal parameters in mini-pubertal, neutral and pubertal periods were assessed; histological examination of the gonads and screening of development malformations were performed.

Results. DSD of 46,XY karyotype was revealed in 48% (120/248) cases, 46,XX DSD – 38% (93/248), DSD with sex chromosome pathology – 14% (35/248) patients. Chromosome DSD was represented by Klinefelter syndrome, Shereshevsky – Ulrich – Turner syndrome, chimeric DSD, and ovotesticular DSD, but the majority of patients had mosaicism 45,X/46,XY (65%). In the group of patients with NFP 45,X/46,XY, the median degree of masculinization of the external genitalia by the scale of the external masculinization score (EMS) was 3 [1; 5,5]. Among the defects of external genitalia in most cases (82%, 18/22) there was a combination of cryptorchidism with hypospadias. Derivatives of the Mueller ducts were detected in 91% (20/22) of patients. Most patients (77%) adapt the male passport field. There were no statistically significant differences in the structure of the external and internal genitalia between the groups of patients adapted in the male and female passport fields.

The analysis of hormonal indexes revealed a positive correlation between the content of basal testosterone in the mini-pubertal period and the index of masculinization of the external genitalia by the EMS scale ($p = 0,002$; $r = 0,9$). In the period of mini-puberty an increase in the level of gonadotropic hormones was detected in 89% (8/9) of children, a combined increase of luteinizing and follicle-stimulating hormones (FSH) being observed in 33% (3/9), an isolated increase of FSH – in 56% (5/9) of cases. In the pubertal period hypergonadotropic hypogonadism was revealed in 75% (3/4) of patients.

The results of the histological study of the gonads were heterogenous. Gonads are represented by a different degree of dysgenesis of testicular tissue: from a mild, histologically-like gonad in cryptorchidism to *streak* and ovotestis.

Among the extragonadal manifestations of the disease, inguinal hernia (86%), heart defects (77%) and kidney defects (36%) are prominent. Pathological growth retardation was diagnosed in 23% of children.

Conclusion. In the structure of the disease chromosomal DSD accounts for 14% of observations. A group of patients with DSD 45,X/46,XY is heterogenous in the degree of gonadal dysgenesis, the structure of the external and internal genitalia.

Key words: disorder of sex development; mosaicism 45,X/46,XY; gonadal dysgenesis; hypospadias.

REFERENCES

1. Gonul Ocal. Current concepts in disorders of sexual development // *J. Clin. Res. Ped. Endo.* 2011; 3 (3): 105–114. doi: 10.4274/jcrpe.v3i3.22.
2. Ahmed S.F., Morrison S., Hughes I.A. Intersex and gender assignment; the third way? // *Arch. Dis. Child.* 2004; 89: 847–850. doi: 10.1136/adc.2003.035899.
3. Lee P.A., Achmed S.F., Houk C.P., Hughes I.A. Consensus Statement on Management of Intersex Disorders // *Pediatrics.* 2006; 118: e488–e500. doi: 10.1542/peds.2006-0738.
4. Latyshev O.Y., Samsonova L.N., Kasatkina E.P., Okminyan G.F., Kiseleva E.V., Timofeeva E.S. Risk razvitiya opuholi gonad pacientov s disgenезией gonad i kariotipom 46,XY [The risk for developing tumor in patients with gonadal dysgenesis 46,XY] // *Byulleten' sibirskoy mediciny – Bulletin of Siberian Medicine.* 2015; 14 (5): 41–46 (in Russian).
5. Nielsen J., Wohler M. Chromosome abnormalities found among 34,910 newborn children: results from a 13-year incidence study in Arhus, Denmark // *Hum. Genet.* 1991; May. 87 (1): 81–83. doi:10.1007/BF01213097.
6. Juliana Gabriel Ribeiro de Andrade, Gil Guerra-Júnior, Andriа TrevasMaciel-Guerra. 46,XY and 45,X/46,XY testicular dysgenesis: similar gonadal and genital phenotype, different prognosis // *Arq. Bras. De Endocrinol. Metab.* 2010; 54 (3): 331–334. doi: http://dx.doi.org/10.1590/S0004-27302010000300013.
7. Marie Lindhardt Johansen, Casper P. Hagen, Ewa Rajpert-De Meyts, Susanne Kjærsgaard, Bodil L. Petersen, Niels E. Skakkebjæk, Katharina M. Main, Anders Juul. 45,X/46,XY mosaicism: phenotypic characteristics, growth, and reproductive function – a retrospective longitudinal study // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2012; Aug. 97 (8): e1540–e1549. doi: https://doi.org/10.1210/jc.2012-1388.
8. Ahmed S.F., Khwaja O., Hughes I.A. The role of a clinical score in the assessment of ambiguous genitalia // *BJU International.* 2000; 85: 120–124. doi: 10.1046/j.1464-410x.2000.00354.x.
9. Prader A. Testicular size: assessment and clinical importance // *Triangle.* 1966; 7 (6): 240–243. doi: http://dx.doi.org/10.1016/1054-139X(92)90364-H.
10. Marshall W.A., Tanner J.M. Variations in the pattern of pubertal changes in boys // *Arch. Dis. Child.* 1970; 45 (13): 13–23. doi: http://doi.org/10.1136/adc.45.239.13.
11. http://www.gla.ac.uk/schools/medicine/research/child-health/i-dsdproject/surveys/
12. Farrugia M.K., Sebire N.J., Achermann J.C., Eisawi A., Duffy P.G., Mushtaq I. Clinical and gonadal features and early surgical management of 45,X/46,XY and 45,X/47,XXY chromosomal mosaicism presenting with genital anomalies // *Journal of Pediatric Urology.* 2013; 9: 139–144. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.jpurol.2011.12.012.
13. Kathryn Cox, Jillian Bryce, Jipu Jiang, Martina Rodie, Richard Sinnott, S. Faisal Ahmed et al. Novel associations in disorders of sex development: findings from the I-DSD registry // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2014; Feb. 99 (2): e348–e355. doi: 10.1210/jc.2013-2918.

Received October 07.2016

Accepted June 30.2017

Latyshev Oleg Yu., PhD, Associate Professor, Department of Pediatric Endocrinology, Russian Medical Academy of Postgraduated Education Study, Moscow, Russian Federation.

Sannikova Ekaterina S., Postgraduate Student, Department of Pediatric Endocrinology, Russian Medical Academy of Postgraduated Education Study, Moscow, Russian Federation.

Samsonova Lubov N., DM, Professor, Head of the Department of Pediatric Endocrinology, Russian Medical Academy of Postgraduated Education Study, Moscow, Russian Federation.

Kiseleva Elena V., PhD, Associate Professor, Department of Pediatric Endocrinology, Russian Medical Academy of Postgraduated Education Study, Moscow, Russian Federation.

Okminyan Goar F., PhD, Associate Professor, Department of Pediatric Endocrinology, Russian Medical Academy of Postgraduated Education Study, Moscow, Russian Federation.

Dondup Olga M., PhD, Associate Professor, Department of Anatomy, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation.

Kasatkina Elvira P. DM, Professor, Department of Pediatric Endocrinology, Russian Medical Academy of Postgraduated Education Study, Moscow, Russian Federation.

(✉) **Latyshev Oleg Yu.**, e-mail: elvkasatkina@yandex.ru.

УДК 616.831-005.1-005.4-076.5:577.112

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-97–106

Для цитирования: Никифорова Т.А., Доронин Б.М., Песков С.А., Марущак А.А. Значимость показателей цитокинового статуса в оценке клинического течения геморрагической трансформации ишемического инсульта. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 97–106

Значимость показателей цитокинового статуса в оценке клинического течения геморрагической трансформации ишемического инсульта

Никифорова Т.А.¹, Доронин Б.М.³, Песков С.А.^{2,3}, Марущак А.А.¹

¹ Городская клиническая больница (ГКБ) № 1
Россия, 630047, г. Новосибирск, ул. Залесского, 6

² Государственный Новосибирский областной клинический диагностический центр
Россия, 630047, г. Новосибирск, ул. Залесского, 6/7

³ Новосибирский государственный медицинский университет
Россия, 630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Определить особенности цитокинового статуса больных ишемическим инсультом с геморрагической трансформацией и его значимость в оценке клинического течения и исхода заболевания.

Материал и методы. Обследованы три группы больных: 1-я группа – 66 больных ишемическим инсультом (ИИ) без геморрагической трансформации (ГТ), средний возраст – $(63,9 \pm 1,3)$ года; 2-я группа – 27 пациентов ИИ с ГТ, средний возраст – $(65,9 \pm 2,5)$ лет; 3-я группа – 65 больных геморрагическим инсультом (ГИ), средний возраст – $(58,8 \pm 1,6)$ лет. Определение концентрации цитокинов (ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН- γ , ИЛ-1 α , ИЛ-10, ИЛ-4) сыворотки крови проводили в 1-, 2- и 10-е сут от начала инсульта. Контрольными значениями служили показатели цитокинов 55 доноров, репрезентативных по полу и возрасту.

Результаты. В группе ИИ с ГТ уровень ИЛ-1 β в 1- и 2-е сут не отличался от контрольных значений ($p > 0,05$). В сравнении с группами ИИ без ГТ и ГИ у больных ИИ с ГТ выявлено наиболее низкое содержание ИЛ-1 β и ФНО- α в 1-, 2- и 10-е сут течения заболевания и, напротив, наиболее высокие показатели ИЛ-1 α в 1- и 2-е сут и ИЛ-4 в 1- и 10-е сут ($p < 0,05$). Показатели ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-1 α , ИЛ-10 в группе ИИ с ГТ зависят от степени выраженности неврологических расстройств, патогенетического варианта инсульта, объема очага поражения. В остром периоде ИИ с ГТ установлены корреляционные связи между показателями ФНО- α и размером очага инфаркта ($r = -0,66$, $p < 0,05$); ИЛ-1 β и балльными оценками по шкале NIHSS ($r = -0,39$; $p < 0,05$) и индексу Бартел ($r = 0,5$; $p < 0,05$).

Заключение. Показатели ИЛ-1 β и ФНО- α наиболее значимы в оценке клинического течения и функционального исхода ИИ с ГТ.

Ключевые слова: геморрагическая трансформация ишемического инсульта, клиническо-неврологические особенности, цитокиновый дисбаланс.

✉ Никифорова Татьяна Александровна, e-mail: tan.post@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Результаты исследований последних лет определили основные причины, ключевые патогенетические звенья и клиничко-лабораторные предикторы геморрагической трансформации (ГТ) ишемического инсульта (ИИ). Внедрение в практику тромболитической терапии с возникающими на ее фоне постишемическими внутричерепными кровоизлияниями поставили новые вопросы в механизмах ГТ ИИ. Развитие постишемического симптомного внутричерепного кровоизлияния как осложнения ревазуляризационной терапии является состоянием, угрожающим жизни пациента, и составляет 43–85% летальности [1, 2], что объясняет актуальность исследований, посвященных данной проблеме. Особое внимание уделяется роли нейроиммунных взаимодействий в патогенезе инсульта с развитием нейровоспалительной реакции в очаге поражения. Известно, что клетки головного мозга, включая нейроны, микроглию, астроциты, а также эндотелиальные клетки способны в ответ на повреждающий фактор синтезировать медиаторы воспаления, главными из которых являются цитокины [3, 4]. Дисбаланс продукции и регуляции в системе цитокинов оказывает значимое влияние на течение инсульта [5, 6]. Однако проблема участия цитокинов в механизмах геморрагической конверсии и их прогностическое значение остается до конца не изученной.

Цели и задачи работы – определить особенности цитокинового статуса больных ишемическим инсультом с геморрагической трансформацией и изучить его взаимосвязь с клиническим течением и исходом заболевания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено обследование 158 пациентов в возрасте 23–91 года, находившихся на лечении с диагнозом острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) в 1- и 2-м неврологических отделениях «Городской клинической больницы № 1». Критерии включения в исследование – мужчины и женщины в возрасте от 18 лет и старше; верифицированный диагноз ОНМК в соответствии с МКБ-10, поступление в стационар в 1-е сут с момента развития ОНМК; добровольное согласие пациента или его законного представителя на участие в исследовании. Критерии исключения – отказ пациента (или его законного представителя) от участия в исследовании, наличие у пациента острого воспалительного, инфекционного, нейродегенеративного, аутоиммунного

заболевания, а также повторного ОНМК, черепно-мозговой травмы, острого инфаркта миокарда, опухолевого процесса, в том числе сведения о хирургических операциях и приеме препаратов иммуносупрессорного действия как минимум за 12 мес до забора крови.

Выделены три группы больных: 1-я группа – 66 больных ишемическим инсультом без геморрагической трансформации (ИИ без ГТ) – 34 мужчины (52%) и 32 женщины (48%). Средний возраст больных ИИ без ГТ составил ($63,9 \pm 1,3$) года. Вторая группа – 27 пациентов ИИ с ГТ (17 мужчин (63%) и 10 женщин (37%)). Средний возраст пациентов 2-й группы – ($65,9 \pm 2,5$) лет. В 3-ю группу включены 65 больных геморрагическим инсультом (ГИ) – 39 мужчин (60%) и 26 женщин (40%), средний возраст – ($58,8 \pm 1,6$) лет. С момента поступления все пациенты получали стандартизированную специализированную медицинскую помощь.

Обследование пациентов проводили в 1-, 2-, 10- и 18–25-е сут от начала заболевания: регистрировали жалобы больного, данные анамнеза, исследовали соматический статус (с мониторингом систолического и диастолического АД, термометрией) и неврологический статус с определением степени тяжести неврологических расстройств по шкале инсульта Национального института здоровья (National Institutes of Health Stroke Scale, по J. Biller и соавт., 1990), оценка общемозговых расстройств по шкале комы Глазго (Coma Glasgo Scale, 1974). Степень функционального исхода и выраженность нарушения жизнедеятельности оценивали по двум взаимодополняющим балльным шкалам: индексу повседневной жизненной активности Бартел (Barthel Index of Activities of Daily Living, по F. Mahoney, D. Barthel, 1965) и модифицированной шкале степени инвалидизации по Рэнкину (Rankin Scale, J. Rankin, 1957; D. Wade, 1992).

С целью дифференцированной диагностики типа ОНМК, его локализации и размера (объема) очага всем больным в 1-е сут заболевания проведена компьютерная томография (КТ) головного мозга (КТ Fillips Markoni 1, МСКТ Siemens Emotion 6). Для стандартизации размеров ИИ использована классификация Научного центра неврологии РАМН (2003). В группе больных ИИ с ГТ типы ГТ выделяли в соответствии с классификацией исследовательской группы ECASS I (European Cooperative Acute Stroke Study, 1999). Патогенетический подтип ИИ определяли по классификации TOAST (Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment, 1993).

Определение концентрации цитокинов (интерлейкин-1 β (ИЛ-1 β), ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-4, фактор некроза опухоли- α (ФНО- α), интерферон- γ (ИФН- γ), рецепторный антагонист интерлейкина-1 (ИЛ-1Ра)) сыворотки крови проводили в 1-, 2- и 10-е сут от начала инсульта методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием стандартных наборов тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Контрольными значениями служили показатели цитокинов 55 практически здоровых доноров, репрезентативных по полу и возрасту. На 10-е сут показатели цитокинов определены у 31 пациента (группа ИИ без ГТ), 10 пациентов (ИИ с ГТ); 30 больных (ГИ), у которых в динамике не зарегистрированы сопутствующие инфекционно-воспалительные заболевания.

Статистический анализ проведен с использованием программ Microsoft Office Excel 2007, Statistica v. 10.0. Проверка гипотезы о соответствии выборочных распределений теоретическому нормальному распределению Гаусса – Лапласа с использованием критерия Колмогорова – Смирнова и критерия Лиллиефорса показала, что для последующего анализа применимы преимущественно непараметрические статистические оценки и методы. Данные представлены в виде $Me \{25\%; 75\%\}$, где Me – медиана, 25% – нижние и 75% – верхние перцентили. При сравнении двух независимых выборок использовали U-критерий (Манна – Уитни), двух и более независимых выборок – критерий Краскела – Уоллиса, тест Дункана. При анализе качественных признаков использовали двусторонний точный критерий Фишера. Для определения направленности и силы связи между изучаемыми показателями применялся ранговый непараметрический корреляционный анализ по Спирмену. При распределениях, являющихся приближенно нормальными, результаты представлены как $M \pm S.E.$, где M – средняя арифметическая и $S.E.$ – стандартная ошибка средней, использован дисперсионный анализ (ANOVA) с критерием Ньюмена – Кейлса. Для всех видов статистического анализа принят критический уровень статистической значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В остром периоде заболевания у больных ИИ с ГТ в сыворотке крови показатели ФНО- α , ИФН- γ , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-1Ра, ИЛ-10, ИЛ-4 превышали контрольные значения ($p < 0,05$) (рис. 1). Однако уровень ИЛ-1 β в 1- и 2-е сут у больных ИИ с ГТ статистически значимо не отличался от значений контрольной группы ($p > 0,05$). К 10-м сут заболевания у больных ИИ с ГТ в сравнении с контрольными значениями выявлено снижение концентрации ИЛ-10 ($p > 0,05$) с возрастающими показателями ИЛ-1 β на фоне сохраняющейся гиперпродукции ИЛ-1Ра ($p < 0,05$). Данной особенностью в группах больных ИИ без ГТ и ГИ не отмечено: показатели всех исследуемых цитокинов в сыворотке крови больных указанных групп статистически значимо превышали контрольные значения.

Несмотря на отсутствие в каждой из обследованных групп статистически значимых различий по содержанию исследуемых цитокинов в динамике заболевания, у больных ИИ с ГТ в сравнении с группами ИИ без ГТ и ГИ выявлено наиболее низкое содержание провоспалительных цитокинов – ИЛ-1 β и ФНО- α в 1-, 2- и 10-е сут заболевания и, напротив, высокие показатели противовоспалительных цитокинов – ИЛ-1Ра – в 1- и 2-е сут и ИЛ-4 – в 1- и 10-е сут (табл. 1).

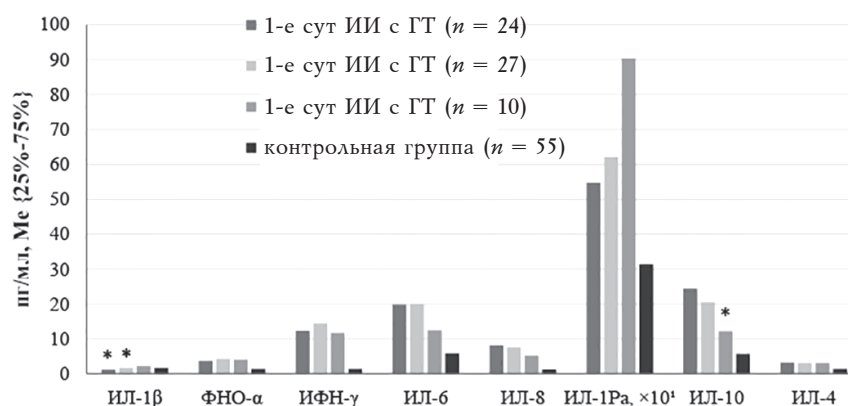


Рис. 1. Показатели цитокинов сыворотки крови больных ишемическим инсультом с геморрагической трансформацией и здоровых лиц: * $p > 0,05$ для различий между ИИ с ГТ и контрольными значениями

Fig. 1. Values of serum cytokines in patients with ischemic stroke with hemorrhagic transformation and healthy individuals: * $p > 0,05$ for differences between IS and HT and control values

Т а б л и ц а 1

Анализ сывороточных показателей цитокинов обследованных групп						
Показатель, пг/мл	ИИ без ГТ		ИИ с ГТ		ГИ	
	<i>n</i>	<i>M</i> ± <i>S.E.</i>	<i>n</i>	<i>M</i> ± <i>S.E.</i>	<i>n</i>	<i>M</i> ± <i>S.E.</i>
ИЛ-1β, 1-е сут	66	10,7 ± 3,2*/**	24	1,6 ± 0,3*	65	3,5 ± 0,5**
ФНО-α, 1-е сут	66	29,6 ± 6,3*/**	24	8,0 ± 2,7*	65	13,3 ± 2,0**
ИЛ-1Pa, 1-е сут	65	725 ± 86	23	802 ± 168***	65	513 ± 71***
ИЛ-4, 1-е сут	64	3,2 ± 0,2*	23	4,7 ± 0,9*	64	3,7 ± 0,5
ИЛ-1β, 2-е сут	66	8,0 ± 1,4*/**	27	2,1 ± 0,5*	65	4,3 ± 0,9**
ФНО-α, 2-е сут	66	26,3 ± 5,6*	27	10,3 ± 3,3*	65	16,5 ± 2,9
ИЛ-1Pa, 2-е сут	66	819 ± 93	27	892 ± 142	65	720 ± 98
ИЛ-4, 2-е сут	66	3,2 ± 0,2	27	4,1 ± 0,6	65	3,7 ± 0,3
ИЛ-1β, 10-е сут	31	9,3 ± 2,5*/**	10	3,2 ± 1,1*	30	4,8 ± 1,0**
ФНО-α, 10-е сут	31	32,0 ± 9,9*/**	10	8,3 ± 3,2*	30	11,8 ± 2,6**
ИЛ-1Pa, 10-е сут	31	836 ± 131	10	1009 ± 266	30	824 ± 165
ИЛ-4, 10-е сут	31	3,5 ± 0,4*	10	5,4 ± 1,9*/***	30	3,5 ± 0,3***

П р и м е ч а н и е. Представлены результаты анализа ANOVA и критерия Ньюмена – Кейлса. * $p < 0,05$ – для ИИ без ГТ и ИИ с ГТ; ** $p < 0,05$ для ИИ без ГТ и ГИ; *** $p < 0,05$ для ИИ с ГТ и ГИ.

Изучение взаимосвязей цитокиновой сети у больных ИИ с ГТ выявило отличительную особенность в дебюте заболевания – отсутствие статистически значимой корреляционной связи между пусковыми медиаторами воспаления ИЛ-1β и ФНО-α ($r_1 = 0,02$; $r_2 = 0,13$; $r_{10} = 0,59$; $p > 0,05$) при наличии тесного взаимодействия их антагонистов – ИЛ-10 и ИЛ-4 ($r_1 = 0,62$; $r_2 = 0,53$; $p < 0,05$; $r_{10} = 0,30$; $p > 0,05$) и ведущей иммуномодулирующей функции ИФН-γ (рис. 2).

Напротив, в группе доноров и больных ИИ без ГТ и ГИ как в 1-, 2-е сут, так и 10-е сут сохранялось равновесие между силами про- и противовоспалительных цитокинов. Так, у больных ИИ без ГТ выявлены корреляционные связи между ИЛ-1β и ФНО-α ($r_1 = 0,64$; $r_2 = 0,68$; $r_{10} = 0,65$; $p < 0,05$), между ИЛ-4 и ИЛ-10 ($r_1 = 0,32$; $r_2 = 0,66$; $r_{10} = 0,58$; $p < 0,05$); у больных ГИ – между ИЛ-1β и ФНО-α ($r_1 = 0,45$; $r_2 = 0,59$; $r_{10} = 0,44$; $p < 0,05$), ИЛ-4 и ИЛ-10 ($r_1 = 0,32$; $r_2 = 0,42$; $p < 0,05$; $r_{10} = 0,28$; $p > 0,05$), в группе доноров – ИЛ-1β и ФНО-α ($r = 0,35$; $p < 0,05$), ИЛ-1β и ИФН-γ ($r = -0,33$; $p < 0,05$), ИЛ-4 и ИЛ-10 ($r = -0,33$; $p < 0,05$).

Анализ клинических и неврологических проявлений у больных ИИ с ГТ в остром периоде выявил особенности течения заболевания в сравнении с группами ИИ без ГТ и ГИ – наличие мерцательной аритмии (в 56% случаев), в 44% – случаев ее постоянной формы, кардиоэмболического (КЭ) подтипа инсульта с формированием зоны обширного и большого инфаркта (в 44 и 22% случаев соответственно), более выраженной степени неврологических расстройств (NIHSS

14,0 {10,0; 17,0} баллов). Но ИИ с ГТ и ГИ в дебюте заболевания имеют общие клинко-неврологические проявления в отличие от ИИ без ГТ – общемозговые расстройства по ШКГ 11–14 баллов (в 48 и 40% случаях соответственно), положительные менингеальные знаки, гипертермия, худший функциональный исход (с признаками полной зависимости по индексу Бартел и IV–V степени по шкале Рэнкина), степень выраженности которого сохранялась у больных ИИ с ГТ и в раннем восстановительном периоде (индекс Бартел 42,5 {10,0; 85,0} балла) (табл. 2).

Изучение взаимосвязи клинко-неврологических особенностей с показателями цитокинов сыворотки крови пациентов обследованных групп выявило, что у всех больных с КЭ (подтип ИИ) в сравнении с лакунарным ИИ снижены показатели ИЛ-1β: в 1-е сут (1,9 {1,04; 6,3} пг/мл против 17,7 {11,3; 21,6} пг/мл, $p = 0,05$) и во 2-е сут (1,95 {1,4; 2,9} пг/мл против 21,3 {12,3; 28,2} пг/мл, $p = 0,05$ соответственно), а также ФНО-α: в 1-е сут (3 {2; 11} пг/мл против 108,2 {47,2; 188,9} пг/мл, $p = 0,03$) и во 2-е сут (4,4 {2,2; 12} пг/мл против 69,8 {43,1; 122,9} пг/мл, но $p = 0,06$ соответственно). На 10-е сут статистически значимой разницы по уровню ИЛ-1β и ФНО-α между подтипами инсульта по критерию TOAST не выявлено. Однако только у больных с КЭ ИИ с ГТ уровень ИЛ-1β в динамике заболевания оставался ниже показателя больных КЭ ИИ без ГТ: в 1-е сут – в два раза (1,1 {0,9; 1,9} пг/мл против 2,3 {1,7; 9,5} пг/мл, $p = 0,01$ соответственно); во 2-е сут – в 1,4 раза (1,7 {0,8; 1,8} пг/мл против 2,3 {1,9; 10} пг/мл,

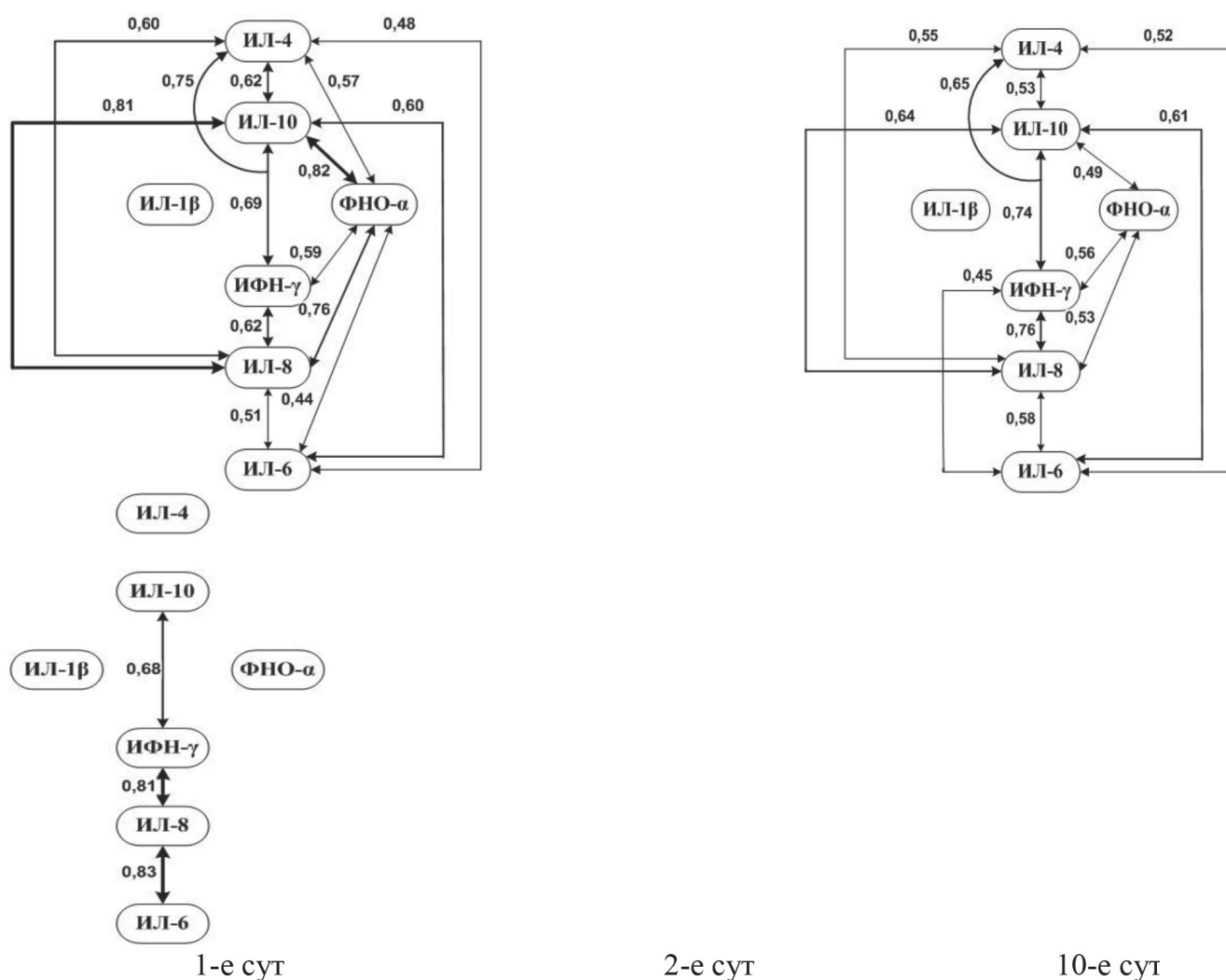


Рис. 2. Корреляционные связи цитокинов сыворотки крови у больных ИИ с ГТ в динамике заболевания

Fig. 2. Correlation of serum cytokine values in patients with IS with HT in the course of the disease

$p = 0,002$ соответственно), на 10-е сут – в восемь раз (1,7 {0,6; 2} пг/мл против 13,2 {3,22; 22,4} пг/мл, $p = 0,02$ соответственно).

Исследование показателей цитокинов сыворотки крови в зависимости от объема очага поражения выявило, что у всех больных ИИ с зоной обширного инфаркта уровень ИЛ-1 β в 1-е сут в 2,5 раза ниже показателя ИЛ-1 β больных с инфарктом больших размеров (1,5 {0,7; 2,1} пг/мл против 2,9 {1,7; 13,9} пг/мл, $p = 0,041$ соответственно) и в 4,5 раза ниже показателя больных с лакунарным очагом ИИ (1,5 {0,7; 2,1} пг/мл против 6,8 {1,9; 19,6} пг/мл, $p = 0,02$ соответственно). На 2- и 10-е сут течения ИИ статистически значимых отличий между уровнями изучаемых цитокинов в зависимости от объема очага поражения не выявлено.

Но именно у больных ИИ с ГТ с инфарктом больших размеров в 1-е сут уровень ИЛ-1 β в семь

раз ниже в сравнении с таковым показателем больных ИИ без ГТ (1,7 {1,1; 1,9} пг/мл против 12,4 {2,4; 31,8} пг/мл соответственно, $p = 0,02$). Только в группе больных ИИ с ГТ с зоной обширного инфаркта в 1-е сут отмечены низкие показатели ФНО- α в сравнении с инфарктом больших размеров (2,6 {0,5; 5,4} пг/мл против 10,6 {7,3; 16,3} пг/мл, $p = 0,03$) и, напротив, ко 2-м сут – высокие показатели ИЛ-10 в сравнении с пациентами, имеющими инфаркт средних размеров (50,8 {25,1; 77,9} пг/мл против 5,4 {3,9; 19,8} пг/мл соответственно, $p = 0,03$). На 10-е сут течения ИИ с ГТ достоверных различий по уровню цитокинов в зависимости от очага поражения не выявлено. У больных ИИ с ГТ отмечена обратная корреляционная связь между размером очага инфаркта в 1-е сут и уровнем ФНО- α на 10-е сут ($r = -0,66$; $p = 0,038$).

Т а б л и ц а 2

Сравнительный анализ клинических, неврологических данных и показателей функционального статуса больных с ОНМК			
Критерий	ИИ без ГТ (n = 66)	ИИ с ГТ (n = 27)	ГИ (n = 65)
<i>Факторы риска ОНМК</i>			
Мерцательная аритмия, чел. (%)	21 (32%)*/**	15 (56%)*/**	3 (5%)*/**
Постоянная форма мерцательной аритмии, чел. (%)	17 (26%)*	12 (44%)*	3 (5%)*/**
Пароксизмальная форма мерцательной аритмии, чел. (%)	4 (6%)*	3 (11%)*	0 (0%)*/**
Отсутствие мерцательной аритмии, чел. (%)	45 (68%)*/**	12 (44%)*/**	61 (94%)*/**
Отсутствие патологии сердца, чел. (%)	28 (42%)*	7 (26%)*	44 (68%)*/**
Артериальная гипертензия, чел. (%)	66 (100%)	26 (96%)	63 (97%)
АД систолическое при поступлении, мм рт. ст., Me {25%–75%}	170,0 {150,0–200,0}	167,5 {150,0–180,0}	180,0 {160,0–205,0}
АД диастолическое при поступлении, мм рт. ст., Me {25%–75%}	100,0 {90,0–100,0}	100,0 {90,0–100,0}	100,0 {90,0–115,0}
Церебральный атеросклероз, чел. (%)	58 (88%)*	21 (78%)	47 (72%)*
Сахар крови при поступлении, ммоль/л, Me {25%–75%}	6,4 {5,2–7,8}	6,5 {5,6–7,4}	6,4 {5,2–7,6}
Курение, чел. (%)	23 (35%)	9 (33%)	31 (48%)
Употребление алкоголя, чел. (%)	20 (30%)	11 (41%)	29 (45%)
<i>Объем очага инсульта</i>			
Объем очага, см ³ , Me {25%–75%}	9,7 {1,7–44,5}*	42,9 {9,5–180,1}*	19,5 {8,8–34,1}
Объем очага в 1-е сут, чел. (%): зона обширного инфаркта	8 (12%)*	12 (44%)*	–
инфаркт больших размеров	10 (15%)	6 (22%)	–
средний инфаркт	33 (50%)	9 (33%)	–
лакунарный инфаркт	11 (17%)*	0 (0%)*	–
<i>Оценочные шкалы</i>			
<i>1-е сут заболевания</i>			
Шкала комы Глазго, чел. (%): ясное сознание	45 (68%)*	13 (48%)	32 (49%)*
оглушение	17 (26%)*	13 (48%)*	26 (40%)
сопор	4 (6%)	1 (4%)	3 (5%)
кома	0 (0%)	0 (0%)	4 (7%)
NIHSS, балл, Me {25%–75%}	9,0 {5,0–15,0}*	14,0 {10,0–17,0}*	12,0 {7,0–18,0}
Индекс Бартел, балл, Me {25%–75%}	5,0 {0,0–40,0}*	0,0 {0,0–5,0}*	0,0 {0,0–15,0}
Индекс Бартел, чел. (%): полная зависимость	40 (61%)*	23 (85%)*	49 (75%)
выраженная зависимость	24 (36%)*	4 (15%)*	16 (25%)
<i>2-е сут заболевания</i>			
NIHSS, балл, Me {25%–75%}	9,0 {5,0–15,0}*	14,0 {9,0–17,0}*	12,0 {5,0–16,0}
Индекс Бартел, балл, Me {25%–75%}	12,5 {0,0–40,0}*	0,0 {0,0–10,0}*	5,0 {0,0–30,0}
Индекс Бартел, чел. (%): полная зависимость	37 (56%)*/**	22 (81%)*	48 (74%)*
умеренная зависимость	4 (6%)*	0 (0%)	0 (0%)*
Шкала Рэнкина, IV степень, чел. (%)	23 (35%)*	8 (30%)	27 (42%)*
<i>10-е сут заболевания</i>			
NIHSS, балл, Me {25%–75%}	6,0 {4,0–11,0}	11,0 {6,0–15,0}	10,0 {4,0–14,0}
Индекс Бартел, балл, Me {25%–75%}	55,0 {15,0–85,0}*	30,0 {0,0–50,0}*	25,0 {0,0–70,0}
Шкала Рэнкина, V степень, чел. (%)	9 (14%)*/**	10 (37%)*	21 (32%)*
<i>18–25-е сут заболевания</i>			
Индекс Бартел, балл, Me {25%–75%}	80,0 {40,0–95,0}*	42,5 {10,0–85,0}*	67,5 {15,0–85,0}
Индекс Бартел, чел. (%): полная зависимость	6 (9%)*	7 (26%)*	10 (15%)

* $p < 0,05$ – для ИИ без ГТ и ИИ с ГТ; ** $p < 0,05$ для ИИ без ГТ и ГИ; *** $p < 0,05$ для ИИ с ГТ и ГИ.

Анализ показателей цитокинов сыворотки крови больных ИИ с ГТ в зависимости от типа ГТ согласно классификации ECASS I в 1- и 2-е сут не выявил статистически значимых различий. К 10-м сут течения ИИ с ГТ у больных с ГИ-2 типа (NIHSS $14,3 \pm 4,7$ балла) уровень ФНО- α в 2,6 раза ниже показателей больных с ГИ-1 типа (NIHSS $11,8 \pm 5,4$ балла) – $2,8 \{1,9; 3,3\}$ пг/мл против $7,2 \{4,2; 16,8\}$ пг/мл, $p = 0,036$. Однако на 10-е сут у больных ИИ с ГТ и ГИ-1 типа уровень ИЛ-1 β в 2,4 раза выше показателей больных с ГИ-2 типа ($1237,3 \{1093,2; 1260,1\}$ пг/мл в сравнении с $506,4 \{322,2; 647,4\}$ пг/мл, $p = 0,038$ соответственно).

У больных ИИ с ГТ с более тяжелым течением по шкале NIHSS на 2-е сут отмечены более низкие показатели ИЛ-1 β в сыворотке крови, чем у пациентов с легкой степенью тяжести ИИ с ГТ ($1,2 \{0,6-1,7\}$ пг/мл против $1,8 \{1,1-3,2\}$ пг/мл соответственно, $p < 0,05$). Значимость показателей ИЛ-1 β в оценке клинического течения и функционального исхода ИИ с ГТ доказана наличием корреляционных связей между уровнем ИЛ-1 β и балльной оценкой по шкале NIHSS во 2-е сут ($r = -0,39$; $p < 0,05$), а также ИЛ-1 β на 2-е сут и индексом Бартел во 2-, 10- и 18-25-е сут ($r_2 = 0,45$; $r_{10} = r_{18-25} = 0,56$; $p < 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Отсутствие статистически значимых различий по содержанию в сыворотке крови цитокинов (ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН- γ , ИЛ-1 β , ИЛ-10, ИЛ-4) между 1-, 2- и 10-ми сут заболевания в каждой из обследованных групп, вероятно, указывает на общность патогенетических процессов и компенсаторное взаимодействие сил про- и противовоспалительных цитокинов как основных регуляторов нейровоспаления в условиях развития любого типа ОНМК. Однако сравнительный анализ показателей исследуемых цитокинов сыворотки крови у больных ИИ с ГТ и ИИ без ГТ, ГИ выявил следующую градацию: в 1-, 2- и 10-е сут заболевания самые низкие показатели провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ФНО- α отмечены у пациентов с ИИ с ГТ, несколько выше в группе ГИ и самые высокие у пациентов с ИИ без ГТ и, напротив, показатели провоспалительных цитокинов – ИЛ-1 β и ИЛ-4 – у пациентов ИИ с ГТ значительно превышали показатели больных ИИ без ГТ и ГИ. Результаты изучения корреляционных связей цитокинов в группе больных ИИ с ГТ в сравнении с другими типами ОНМК подтверждают наличие цитокинового дисбаланса, выраженного в дебюте заболевания не только в

дефиците провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β и ФНО- α) и гиперпродукции цитокинов противовоспалительной активности (ИЛ-1 β , ИЛ-10, ИЛ-4), но и в доминирующей. Возникает вопрос о причинах выявленного дисбаланса в системе цитокинов при развитии ИИ с ГТ. В представленной работе анализ клинических и неврологических проявлений ИИ с ГТ в сравнении с другими вариантами инсульта позволил выявить особенности его течения, которые определяют развитие цитокинового дисбаланса. Клинико-неврологическими особенностями больных ИИ с ГТ являются: мерцательная аритмия, обширный очаг поражения, более выраженная степень неврологических и общемозговых расстройств, худший функциональный исход в динамике заболевания, что согласуется с данными литературы [1]. Результаты исследования доказывают, что показатели ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-10 сыворотки крови больных ИИ с ГТ зависят от патогенетического варианта инсульта и его степени тяжести, объема очага поражения. Наличие в остром периоде ИИ с ГТ корреляционных связей между низкими показателями ФНО- α и развитием зоны обширного инфаркта, ИЛ-1 β и тяжелым течением по шкале NIHSS, ИЛ-1 β и худшим функциональным исходом по индексу Бартел подтверждают полученные результаты.

Таким образом, снижение сывороточных уровней ИЛ-1 β и ФНО- α в дебюте ИИ с ГТ на фоне тяжелого клинического течения заболевания является примером, когда дефицит провоспалительных факторов служит свидетельством срыва адаптации с развитием острого иммунодефицитного состояния в ответ на ишемию [7, 8], которое приводит к подавлению функции лимфоцитов и уменьшению их количества в органах периферической лимфатической системы, снижению естественной функции НК-клеток и смещению баланса Th1/Th2 в сторону преобладания Th2-цитокинового ответа [9, 10]. Описаны два основных механизма реализации постинсультной иммуносупрессии: (1) активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы с синтезом надпочечниками глюкокортикоидов (ГКК) и (2) стимуляция симпатoadrenalовой системы с высвобождением катехоламинов (КА), в результате чего ГКК и КА тормозят продукцию провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ФНО- α и ИФН- γ . Кроме того, КА способны к опосредованному ИЛ-10 угнетению продукции ИЛ-1 β и ФНО- α [9, 11].

Следовательно, инсульт, особенно выраженный по степени тяжести, которым является ИИ с ГТ, способен вызвать нарушение гомеостаза всех

систем организма. В результате функциональные связи цитокиновой сети отклоняются от детерминированных алгоритмов и приобретают патологический характер. Выявленный у больных ИИ с ГТ цитокиновый дисбаланс соответствует той стадии нарушения механизмов адаптации, когда наступает развитие «иммунного паралича» и компенсаторной противовоспалительной реакции с выбросом в системный кровоток каскадов противовоспалительных цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-10, которые ингибируют синтез макрофагами медиаторов провоспалительной фазы. Избыточная вследствие грубой дисрегуляции продукция медиаторов противовоспалительной фазы (ИЛ-4 и ИЛ-10) получила название «синдрома компенсаторного противовоспалительного ответа» (КАВО), одним из основных признаков которого является существенное снижение способности макрофагов или моноцитов к продукции ИЛ-1, ФНО- α и ИЛ-6 [12].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, снижение показателей ИЛ-1 β и ФНО- α в дебюте ИИ с ГТ обусловлены как особенностью патогенетических факторов (кардиоэмболическим источником инсульта), большим размером очага инсульта, тяжелым клиническим течением заболевания, так и следствием острого иммунодефицитного состояния в ответ на ишемию, что в совокупности определяет клиническую тяжесть течения ИИ с ГТ и его функциональный исход.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование одобрено этическим комитетом по биоэтическим проблемам медицинских исследова-

ований МБУЗ г. Новосибирска «ГКБ № 1» (№ 103 от 19.10. 2009).

ЛИТЕРАТУРА

1. Батищева Е.И., Кузнецов А.Н. Геморрагическая трансформация инфаркта головного мозга: клинико-радиологические варианты, факторы риска, прогностическое значение // *Неврологический журнал*. 2008;13 (5): 29–34.
2. Khatri P., Lawrence R., Broderick J.P. Intracranial Hemorrhage Associated With Revascularization Therapies // *Stroke*. 2007; 38: 431–440.
3. Малашиха Ю.А., Надареишвили З.Г., Малашиха В.Ю. Мозг как орган иммунитета // *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 1999; 9: 62–65.
4. An-Gallie Ceulemans. Tine Zgavc, Ron Koosman et al. The dual role of the neuroinflammatory response after ischemic stroke: modulatory effects of hypothermia // *J. Neuroinflammation*. 2010: 7–74.
5. Жданов Г.Н., Герасимова М.М. Изучение содержания провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови больных в остром периоде ишемического инсульта // *Цитокины и воспаление*. 2006; 5 (1): 27–30.
6. Vila N., Castillo J., Dávalos A. et al. Levels of anti-inflammatory cytokines and neurological worsening in acute ischemic stroke // *Stroke*. 2003; 34 (3): 671–675.
7. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М.: Медицина, 2001: 328.
8. Prass K., Meisel C., Höflich C. et al. Stroke-induced immunodeficiency promotes spontaneous bacterial infections and is mediated by sympathetic activation reversal by poststroke T helper cell type 1-like immunostimulation // *J. Exp. Med*. 2003; 198 (5): 725–736.
9. Galea J., Brough D. The role of inflammation and interleukin-1 in acute cerebrovascular disease // *J. Inflamm. Res*. 2013; 6: 121–128.
10. Offner H., Vandenbark A.A., Hurn P.D. Effect of experimental stroke on peripheral immunity: CNS ischemia induces profound immunosuppression // *Neuroscience*. 2009; 158 (3): 1098–1111.
11. Абрамов В.В. Интеграция иммунной и нервной систем. Новосибирск: Наука, Сиб. отделение, 1991: 168.
12. Макарова В.И., Макаров А.И. Роль цитокинов в реализации воспалительной реакции // *Экология человека*. 2008; 5: 31–35.

Поступила в редакцию 25.08.2016

Утверждена к печати 30.06.2017

Никифорова Татьяна Александровна, врач-невролог, ГКБ № 1, г. Новосибирск.

Доронин Борис Матвеевич, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой неврологии, Новосибирский государственный медицинский университет, г. Новосибирск.

Песков Сергей Александрович, д-р мед. наук, профессор, кафедра гигиены и экологии, Новосибирский государственный медицинский университет; руководитель лабораторной службы, Государственный Новосибирский областной клинический диагностический центр, г. Новосибирск.

Марущак Анастасия Андреевна, канд. мед. наук, зав. 2-го неврологического отделения для больных с нарушением мозгового кровообращения, ГКБ № 1, г. Новосибирск.

(✉) Никифорова Татьяна Александровна, e-mail: tan.post@mail.ru.

УДК 616.831-005.1-005.4-076.5:577.112

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-97-106

For citation: Nikiforova T.A., Doronin B.M., Peskov S.A., Maruschak A.A. Significance of indexes of cytokine status in evaluation of clinical course of hemorrhagic transformation of ischemic stroke. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 97–106

Significance of indexes of cytokine status in evaluation of clinical course of hemorrhagic transformation of ischemic stroke

Nikiforova T.A.¹, Doronin B.M.³, Peskov S.A.^{2,3}, Maruschak A.A.¹

¹ City Clinical Hospital № 1
6, Zaleski Str., Novosibirsk, 630047, Russian Federation

² Regional Diagnostic Center
6, Zaleski Str., Novosibirsk, 630047, Russian Federation

³ Novosibirsk State Medical University
52, Krasniy Av., Novosibirsk, 630091, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To determine the features of cytokine status in ischemic stroke patients with hemorrhagic transformation and its importance in the evaluation of the clinical course and outcome of the disease.

Materials and methods. Three groups of patients were examined: 1st group – 66 patients with ischemic stroke without hemorrhagic transformation (IS w/o HT), mean age $63,9 \pm 1,3$ years; 2nd group – 27 patients with ischemic stroke with hemorrhagic transformation (IS with HT), mean age $65,9 \pm 2,5$ years; 3rd group – 65 patients with hemorrhagic stroke (HS), mean age $58,8 \pm 1,6$ years. Determination of cytokine concentration (IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8, IFN- γ , IL-1Ra, IL-10, IL-4) in blood serum was performed on the 1st, 2nd and 10th day of the stroke onset. The control group consisted of 55 – age and sex matched healthy donors.

Results. In the group with IS with HT the level of IL-1 β on the 1st and 2nd day did not differ from the control values ($p > 0,05$). In patients with IS with HT the lowest levels of IL-1 β and TNF- α were determined on the 1st, 2nd and 10th day of the stroke onset. On the contrary, the highest levels of IL-1Pa were determined on 1st, 2nd day and IL-4 on the 1st, and 10th day ($p < 0,05$). Blood plasma levels of IL-1 β , TNF- α , IL-1Pa, IL-10 in the group of IS with HT depend on the level of neurological disability, pathogenic subtype of stroke and the volume of lesion. Correlations between the level of TNF- α and volume of lesion ($r = -0,66$, $p < 0,05$), level of IL-1 β and NIHSS score ($r = 0,39$, $p < 0,05$), level of IL-1 β and Barthel index ($r = 0,5$, $p < 0,05$) in acute period of IS with HT were established.

Conclusion. Levels of IL-1 β and TNF- α are most significant in evaluation of the clinical course and functional outcome of IS with HT.

Key words: hemorrhagic transformation of ischemic stroke, clinical and neurological features, cytokine imbalance.

REFERENCES

1. Batishcheva E.I., Kuznetsov A.N. Gemorragicheskaya transformatsiya infarcta golovnogo mozga: kliniko-nevrologicheskaie variant, factory riska, prognosticheskoe znachenie [Hemorrhagic transformation of brain infarction: clinico-radiological options, risk factors, and prognostic value] // *Neurologicheskii zhurnal – Neurological Journal*. 2008; 5: 29–34 (in Russian).
2. Khatri P., Lawrence R., Broderick J.P. Intracranial Hemorrhage Associated With Revascularization Therapies // *Stroke*. 2007; 38 (2): 431–440. doi: 10.1161/01.str.0000254524.23708.c9.

3. Malashkhiya Yu.A., Nodareishvili Z.G., Malashkhiya V.Yu. Mozg kak organ immuniteta [The brain as an organ of immunity] // *Zhurnal neurologii i psikiatrii imeni S.S. Korsakova – Journal of Neurology and Psychiatry S.S. Korsakov*. 1999; 9: 62–65 (in Russian).
4. An-Galle Ceulemans. Tine Zgavc, Ron Kooijman et al. The dual role of the neuroinflammatory response after ischemic stroke: modulatory effects of hypothermia // *Neuroinflammation*. 2010; 7–74. doi: 10.1186/1742-2094-7-74.
5. Zhdanov G.N., Gerasimova M.M. Izuchenie sodержaniya provospalitel'nykh i protivovospalitel'nykh tsitokinov v syvorotke krovi bol'nyh v ostrom periode ischemicheskogo insulta [The study of the content of proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in blood serum of patients in acute period of ischemic stroke] // *Tsitokiny i vospalenie – Cytokines and inflammation*. 2006, 1: 27–30 (in Russian).
6. Vila N., Castillo J., Dóvalos A. et al. Levels of anti-inflammatory cytokines and neurological worsening in acute ischemic stroke // *Stroke*. 2003; 34 (3): 671–675. doi:10.1161.
7. Gusev E.I., Skvortsova V.I. Ischemia golovnogogo mozga [Ischemia of the brain]. Moscow, Meditsina Publ., 2001: 328 (in Russian).
8. Prass K., Meisel C., Höflich C. et al. Stroke-induced immunodeficiency promotes spontaneous bacterial infection and is mediated by sympathetic activation reversal by poststroke T helper cell type 1-like immunostimulation // *Journal of Experimental Medicine*. 2003; 198 (5): 725–736. doi: 10.1084/jem.20021098.
9. Galea J., Brough D. The role of inflammation and interleukin-1 in acute cerebrovascular disease // *Journal of Inflammation Research*. 2013; 6: 121–128. doi: 10.2147/jir.s35629.
10. Offner H., Vandenbark A.A., Hurn P.D. Effect of experimental stroke on peripheral immunity: CNS ischemia induces profound immunosuppression // *Neuroscience*. 2009; 158 (3): 1098–1111. doi: 10.1016/j.neuroscience.2008.05.033.
11. Abramov V.I. Integratsiya immunnykh i nervnoy system [Integration of the immune and nervous systems]. Novosibirsk: Nauka, Sib. otdelenie Publ., 1991: 168 (in Russian).
12. Makarova V.I., Makarov A.I. Rol' tsitokinov v realizatsii vospalitel'noy reaktsii [The role of cytokines in realization of inflammatory response] // *Ekologiya cheloveka – Human Ecology*. 2008; 5: 31–35 (in Russian).

Received August 25.2016

Accepted June 30.2017

Nikiforova Tatiana A., Neurologist, City Clinical Hospital № 1, Novosibirsk, Russian Federation.

Doronin Boris M., DM, Professor, Department Chair of Neurology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation.

Peskov Sergey A., DM, Professor of the Department of Hygiene and Bionomics, Novosibirsk State Medical University; Principal of the Laboratory Services, Novosibirsk Regional Diagnostic Center, Novosibirsk, Russian Federation.

Maruschak Anastasia A., PhD, Head of the Department of 2-nd Neurological Department, City Clinical Hospital № 1, Novosibirsk, Russian Federation.

(✉) **Nikiforova Tatiana A.**, e-mail: tan.post@mail.ru.

УДК 616.441-089.168.1-053.2

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-107–118

Для цитирования: Рогова О.С., Самсонова Л.Н., Окминян Г.Ф., Киселёва Е.В., Латышев О.Ю., Касаткина Э.П., Пыков М.И., Окулов А.Б., Мираков К.К. Исходы оперативного лечения патологии щитовидной железы у детей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 107–118

Исходы оперативного лечения патологии щитовидной железы у детей

Рогова О.С.¹, Самсонова Л.Н.¹, Окминян Г.Ф.¹, Киселёва Е.В.¹, Латышев О.Ю.¹,
Касаткина Э.П.¹, Пыков М.И.¹, Окулов А.Б.¹, Мираков К.К.²

¹ Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования (РМАНПО)
Россия, 125993, г. Москва, ул. Баффикидная, 2/1, стр. 1

² Детская городская клиническая больница (ДГКБ) им. З.А. Башилевой ДЗМ
Россия, 125993, Москва, ул. Героев Панфиловцев, 28

РЕЗЮМЕ

Введение. В последние годы отмечается тенденция к росту доли узлового зоба и болезни Грейвса в структуре патологии щитовидной железы у детей, что определяет необходимость выбора рациональной тактики лечения этих заболеваний. Оптимального способа лечения данной патологии щитовидной железы на сегодняшний день не существует, но одним из методов лечения является хирургический. Остается дискуссионным вопрос хирургии щитовидной железы в связи с определением показаний и выбора оптимального объема оперативного вмешательства у детей, так как возможны послеоперационные осложнения.

Цель исследования. Изучить исходы оперативного лечения патологии щитовидной железы у детей в зависимости от объема операции.

Материал и методы. В статье приводятся сведения о результатах обследования 77 детей, оперированных в период 2002–2016 гг. по поводу болезни Грейвса, одноузлового и многоузлового зоба. Обследование включало определение значения ионизированного кальция в сыворотке крови, оценку функционального состояния гипоталамико-гипофизарно-гипоталамической системы: исследовался сывороточный уровень тиреотропного гормона, свободного (св.) тироксина, св. трийодтиронина, проводилось ультразвуковое исследование щитовидной железы, осмотр оториноларинголога.

Результаты. Установлено, что частота неблагоприятных исходов оперативного лечения среди детей с узловым зобом составила 27%. Осложнения одинаково часто встречались как после органосохраняющих операций, так и после тиреоидэктомии, но отличались по своей структуре. Частота послеоперационных осложнений (послеоперационный гипопаратиреоз, парез голосовых складок) после тиреоидэктомии, выполненной по поводу узлового зоба, составила 27%. У детей с узловым зобом после тиреоидэктомии гипопаратиреоз возникал чаще, чем парез голосовых складок. Симптоматическая гипокальциемия отмечалась чаще, чем бессимптомная, и в абсолютном большинстве случаев гипопаратиреоз носил транзиторный характер.

Среди детей с одноузловым зобом, которым проведена органосохраняющая операция на щитовидной железе таких послеоперационных осложнений, как гипопаратиреоз, парез голосовых складок, не выявлено. Неблагоприятные исходы (рецидив заболевания, послеоперационный гипотиреоз) одинаково часто встречались как после гемитиреоидэктомии, так и после энуклеации узла. Но риск развития рецидива узлового зоба достоверно чаще возникал у детей после проведенной энуклеации узла, чем после гемитиреоидэктомии, а послеоперационный гипотиреоз чаще возникал у детей с узловым зобом после гемитиреоидэктомии, чем после энуклеации узла.

✉ Самсонова Любовь Николаевна, e-mail: elvkasatkina@yandex.ru.

Частота неблагоприятных исходов оперативного лечения болезни Грейвса (послеоперационный гипопаратиреоз и парез голосовых складок) у детей составила 14%. Все осложнения возникли только после тиреоидэктомии.

При сравнении неблагоприятных исходов тиреоидэктомии осложнения одинаково часто встречались как при узловом зобе, так и при болезни Грейвса. Но стойкие нарушения функции в виде перманентного гипопаратиреоза и перманентного пареза голосовых складок чаще встречались при болезни Грейвса, чем при узловом зобе. Полученные результаты позволяют сделать вывод о гетерогенности структуры исходов оперативного лечения, которая зависит от объема оперативного лечения.

Ключевые слова: узловой зоб у детей, болезнь Грейвса у детей, энуклеация узла щитовидной железы, гемитиреоидэктомия, субтотальная тиреоидэктомия, тиреоидэктомия, гипокальциемия, парез голосовых складок, послеоперационные осложнения, послеоперационный гипотиреоз, рецидив заболевания.

ВВЕДЕНИЕ

Патология щитовидной железы в детском возрасте разнообразна и в том числе включает нозологические формы, которые могут потребовать оперативного лечения. К такой патологии щитовидной железы в первую очередь относят узловой зоб и болезнь Грейвса. Узловой зоб у детей встречается в 0,05–5,1%, при этом на долю рака щитовидной железы приходится 9,2–70% всех случаев узловой патологии щитовидной железы [1–13]. Заболеваемость болезнью Грейвса составляет 1 на 100 000 детского населения в год, и на ее долю приходится 10–15% всех заболеваний щитовидной железы у пациентов до 18 лет [14, 15]. В последние годы отмечается тенденция к росту доли узлового зоба и болезни Грейвса в структуре патологии щитовидной железы у детей, что определяет необходимость выбора рациональной тактики лечения этих заболеваний [5, 13, 16, 17]. Оптимального способа лечения данной патологии щитовидной железы на сегодняшний день не существует, но одним из методов лечения является хирургический.

В настоящее время одним из дискуссионных вопросов хирургии щитовидной железы остается определение показаний и выбор оптимального объема оперативного вмешательства, что объясняется возможными послеоперационными осложнениями хирургического лечения заболеваний щитовидной железы у детей [14].

На сегодняшний день обсуждаются такие показания к оперативному лечению узлового зоба у детей, как злокачественная опухоль или подозрение на нее, фолликулярная неоплазия, атипия неопределенного значения по данным повторного цитоморфологического исследования пунктата узла щитовидной железы, наличие компрессионного синдрома, функциональной автономии узла, косметического дефекта [18–20].

Наиболее частыми показаниями к оперативному лечению болезни Грейвса являются: отсутствие стойкой клинко-гормональной и иммунологической компенсации, наличие серьезных побочных эффектов от лечения тиамазолом, узлообразование [21].

Трудно преувеличить значение щитовидной железы для роста и развития ребенка, и это побуждает многих хирургов отдавать предпочтение щадящим оперативным вмешательствам на щитовидной железе у детей с узловым зобом [22]. Так, достаточно часто при аденомах и солитарных коллоидных узлах у детей предпочтение отдают экономным резекциям щитовидной железы [22]. Операция направлена исключительно на удаление узла (энуклеация узла) щитовидной железы либо на резецирование доли в пределах неизменных (здоровых) тканей. Возникает закономерный вопрос: насколько хирург визуально может отличить здоровую ткань от измененной и, следовательно, избежать рецидива заболевания [20]. Так, по данным М. Akkari, рецидив узлового зоба у детей после частичной резекции щитовидной железы возникает в 27,8% случаев [23].

Другие хирурги отдают предпочтение гемитиреоидэктомии – удалению пораженной узлом доли щитовидной железы вместе с перешейком, которая может быть выполнена как экстрафасциально, так и субфасциально. Но даже после гемитиреоидэктомии в послеоперационном периоде может возникнуть гипотиреоз [19, 20]. Так, по данным М. Akkari, послеоперационный гипотиреоз после гемитиреоидэктомии, выполненной по поводу одноузлового зоба у детей, возникает в 5,5% случаев [23].

В то же время при многоузловом зобе или болезни Грейвса проводится субтотальное удаление щитовидной железы или тиреоидэктомия с целью снижения риска рецидива заболевания и потребности в проведении повторной опе-

рации [24–31]. Тотальная тиреоидэктомия выполняется как экстра-, так и субфасциально. К преимуществу экстрафасциальной тиреоидэктомии относится возможность интраоперационно осуществлять визуальный контроль за возвратными гортанными нервами и околощитовидными железами, что позволяет свести частоту осложнений к минимуму [20]. По данным литературы частота возникновения послеоперационных осложнений у детей после тиреоидэктомии составляет 10,5–11,5% [17, 25, 27, 28, 32, 33].

Одним из самых частых осложнений тиреоидэктомии является послеоперационный гипопаратиреоз, который возникает вследствие удаления или повреждения паращитовидных желез. В результате повреждения паращитовидных желез происходит резкое снижение продукции паратормона, что приводит к снижению содержания кальция и повышению фосфора в сыворотке крови, что, в свою очередь, ведет к нарушению проницаемости клеточных мембран, повышению нервно-мышечной возбудимости и судорожной готовности. Гипокальциемия чаще проявляется тетанией, отрицательно влияет на сердечную деятельность и может привести к аритмии [19].

По данным разных авторов, послеоперационная гипокальциемия у детей встречается в 23,5–56% случаев после проведенной тиреоидэктомии, стойкий послеоперационный гипопаратиреоз (более 6 мес) – в 5,5–25% случаев [30, 34–36].

Осложнения при тиреоидэктомии, связанные с повреждением гортанных нервов, встречаются, по данным различных авторов, в 1–18,8% случаев [34, 36, 37] и проявляются нарушением дыхания, глотания, фонации (от легкой осиплости голоса до полной афонии). Наиболее серьезные последствия при тиреоидэктомии наблюдаются при травмах наружной ветви верхнего гортанного и возвратного гортанного нервов. Наружная ветвь гортанного нерва иннервирует нижний констриктор глотки и единственную из мышц гортани *m. cricothyreoideus*. Поскольку этот нерв иннервирует слизистую надгортанника, то при его повреждении наступает временная анестезия этого участка, и надгортанник не перекрывает полностью вход в гортань при проглатывании пищи, что ведет к поперхиванию при ее приеме. Кроме того, при повреждении ветвей верхнего гортанного нерва может измениться подвижность *m. cricothyreoideus*, что проявляется легкой осиплостью голоса, изменением его тембра.

Наиболее тяжелым осложнением является повреждение возвратного гортанного нерва, который иннервирует мышцы гортани, слизистую

оболочку гортани и трахеи от голосовых складок до второго-третьего колец трахеи. Особое значение имеет повреждение двигательных ветвей данного нерва, которые определяют подвижность голосовых складок. Повреждение возвратного нерва во время тиреоидэктомии может произойти в следующих ситуациях: при перевязке нижней щитовидной артерии, особенно при прохождении нерва кпереди от артерии; при резекции перешейка, когда глубоко выделяют доли со стороны трахеи (при этом чаще повреждается правый возвратный нерв); при освобождении заднебокового края железы вблизи трахеи. [19].

При двустороннем повреждении возвратного нерва обе складки находятся в парамедиальном или медиальном положении, в результате чего возникает препятствие для поступления воздуха в трахею на уровне гортани. При одностороннем повреждении нерва голосовая складка на стороне поражения может быть максимально приведена (аддукционный паралич). В этом случае клинических проявлений пареза может не наблюдаться, поскольку имеющаяся щель между складками достаточна для прохождения воздуха при дыхании, а сохраненная подвижность противоположной складки обеспечивает нормальную фонацию. Другим вариантом фиксации голосовой складки при повреждении возвратного нерва может быть максимально отведенное ее положение (абдукционный паралич). В этом случае нарушения дыхания не будет, но будет наблюдаться значительное изменение фонации.

Однако не всегда механическое повреждение нервов хирургом при мобилизации щитовидной железы может послужить непосредственной причиной паралича мышц гортани. Паралич может быть связан с интубацией трахеи во время проведения эндотрахеального наркоза. Причиной развития такого паралича может быть смещение во время травматической интубации щитовидного хряща по отношению к перстневидному, что ведет к травме нерва. Чрезмерное перераздувание манжеты интубационной трубки ведет к травматическому повреждению нерва в месте вхождения его в гортань. Повреждение возвратного нерва чаще может произойти в результате подвывиха черпаловидного хряща. Чрезмерное перерастяжение шеи во время операции может привести к травматическому растяжению возвратного нерва.

При болезни Грейвса операцией выбора является субтотальная тиреоидэктомия, которая выполняется как субфасциально, так и экстрафасциально. При субфасциальной резекции щитовидной железы (методика О.В. Николаева)

сохраняют тиреоидную ткань в виде двух претрахеальных пластин. При экстрафасциальном удалении щитовидной железы (методика Е.С. Драчинской) оставляют один из верхних полюсов доли. Однако после субтотальной тиреоидэктомии, выполненной по поводу болезни Грейвса, может возникнуть рецидив заболевания. Так, по данным J. Sherman et al., рецидив болезни Грейвса после субтотальной тиреоидэктомии возникает в 4% случаев [37]. Исходя из вышесказанного, любое хирургическое вмешательство на щитовидной железе может повлечь за собой определенные последствия.

Цель исследования – изучить исходы оперативного лечения патологии щитовидной железы у детей в зависимости от объема операции. Дизайн исследования: открытое, контролируемое, когортное, ретроспективное.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследованы 77 детей, из них 56 девочек (средний возраст $14,9 \pm 2,5$ лет) и 21 мальчик (средний возраст $14,4 \pm 3$ лет), которым в 2002–2016 гг. было проведено оперативное вмешательство по поводу болезни Грейвса ($n = 21$), одноузловой ($n = 33$) и многоузловой ($n = 23$) зоба.

В раннем послеоперационном периоде оценивались жалобы пациентов, результаты физического обследования, содержание ионизированного кальция в сыворотке крови, данные электрокардиографии (ЭКГ) и осмотра оториноларинголога. В качестве биохимического маркера послеоперационной гипокальциемии принимали значения ионизированного кальция в сыворотке крови менее 1,1 ммоль/л.

Всем пациентам ($n = 30$), перенесшим гемитиреоидэктомию и энуклеацию узла щитовидной железы (ЩЖ), проводилось ультразвуковое исследование (УЗИ) щитовидной железы по традиционной методике на аппарате Esaote My Lab 70 (Италия) датчиком до 18 МГц. Оценка функционального состояния гипофизарно-тиреоидной системы включала определение содержания в сыворотке крови тиреотропного гормона (ТТГ), свободного (св.) тироксина (Т4), св. трийодтиронина (Т3) электрохемилюминесцентным методом на приборе Roche Elecsys 1010 (Швейцария). Референсные значения св. Т4 – 9–20 пмоль/л, св. Т3 – 4,4–9,3 пмоль/л, ТТГ 0,4–4,3 мЕд/мл.

Статистическая обработка материала выполнена с применением программы StatSoft Statistica 7 (2004) и включала традиционные методы вариационной статистики. Количественные показатели представлены в виде средних арифме-

тических значений и стандартных отклонений ($M \pm SD$) или медианы и интерквартильного размаха ($Me [25; 75]$). Оценка статистической значимости различий абсолютных величин для рядов с нормальным распределением вариантов выполнена по t-критерию Стьюдента, между независимыми выборками – с помощью критерия Манна – Уитни. Статистическая значимость различий относительных величин оценивалась по значению хи-квадрат. Статистически значимыми считались различия при величине $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У всех пациентов с узловым зобом показанием к оперативному лечению было наличие косметического дефекта ($n = 56$). Так, по данным УЗИ Me объема узла составила 5,9 [2,8; 12,7] см³, диаметра узла – 3 [1,9; 3,4] см. При этом 57% (32/56) пациентов высказывали жалобы, патогномичные компрессионному синдрому (кашель, неприятные ощущения при глотании). Но в то же время в данной группе Me (объема узла 6,7 [4,2; 12,8] см³, диаметра узла 3 [2,1; 3,4] см) достоверно не отличались от тех пациентов, у кого эти симптомы отсутствовали ($p > 0,05$). Как косметический дефект без функциональной автономии (52%, 29/56, пациентов), так и косметический дефект с функциональной автономией узла ЩЖ (48% (27/56) пациентов, $p > 0,05$) встречались с одинаковой частотой. При этом косметический дефект с компенсированной функциональной автономией встречался чаще (36% (20/56) пациентов), чем косметический дефект с декомпенсированной функциональной автономией узла ЩЖ (12% (7/56) пациентов, $p = 0,000$). Но показатели Me объема узла (5,6 [2,8; 12,4] см³, vs 11,7 [5,5; 12,1] см³, $p > 0,05$) и диаметра узла (2,7 [1,9; 3,6] см, vs 3,3 [2,6; 4,2] см, $p > 0,05$) в этих группах достоверно не различались.

Анализ показаний к оперативному лечению в зависимости от форм узловой патологии показал, что у пациентов с одноузловым зобом изолированный косметический дефект встречался чаще, чем у пациентов с многоузловым зобом ($p = 0,034$), у которых чаще косметический дефект сочетался с компенсированной формой функциональной автономии узла ($p = 0,001$), что можно объяснить патогенетическими механизмами формирования функциональной автономии при многоузловом зобе в условиях природного дефицита йода (табл. 1).

Анализ объема хирургического лечения в зависимости от формы узлового зоба показал, что у детей, так же как и у взрослых, тиреоидэктомия

чаще выполнялась при многоузловом зобе (100% (23/23) случаев), чем при одноузловом зобе (9% (3/33) случаев, $p = 0,000$). При одноузловом зобе чаще выполнялись органосохраняющие операции, при этом с одинаковой частотой как гемитиреоидэктомия (55% (18/33) случаев), так и энуклеация узла щитовидной железы (36% (12/33) случаев, $p > 0,05$) (табл. 2).

Частота неблагоприятных исходов оперативно-го лечения среди детей с узловым зобом составила 27% (15/56, 10 девочек в возрасте $(15,3 \pm 1,7)$ лет и пять мальчиков в возрасте $(12,1 \pm 4,1)$ лет). Неблагоприятные исходы одинаково часто встречались как после органосохраняющих операций, так и после тиреоидэктомии ($p > 0,05$), но отличались по своей структуре (табл. 3).

Т а б л и ц а 1

Показания к оперативному лечению детей с одно- и многоузловым зобом			
Показатель	Одноузловой зоб, абс (%)	Многоузловой зоб, абс (%)	p
Косметический дефект без функциональной автономии узла ($n = 29$)	21 (64)	8 (35)	0,034
Сочетание косметического дефекта и компенсированной функциональной автономии узла ($n = 20$)	6 (18)	14 (61)	0,001
Сочетание косметического дефекта и декомпенсированной функциональной автономии узла ($n = 7$)	6 (18)	1 (4)	$> 0,05$
Всего ($n = 56$)	33 (100)	23 (100)	–

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 2–5: абс – абсолютное значение.

Т а б л и ц а 2

Объем хирургического лечения в зависимости от формы узлового зоба у детей			
Показатель	Одноузловой зоб, абс (%)	Многоузловой зоб, абс (%)	p
Тиреоидэктомия ($n = 26$)	3 (9)	23 (100)	0,000
Гемитиреоидэктомия ($n = 18$)	18 (55)	–	0,000
Энуклеация узла ЩЖ ($n = 12$)	12 (36)	–	0,001
Всего ($n = 56$)	33 (100)	23 (100)	–

Т а б л и ц а 3

Исходы оперативного лечения детей с узловым зобом			
Показатель	Органосохраняющие операции, абс (%)	Тиреоидэктомия, абс (%)	p
Отсутствие осложнений ($n = 41$)	22 (73)	19 (73)	$> 0,05$
Неблагоприятные исходы ($n = 15$)	8 (27)	7 (27)	$> 0,05$
Всего ($n = 56$)	30 (100)	26 (100)	–

Частота послеоперационных осложнений после тиреоидэктомии, выполненной по поводу узлового зоба, составила 27% (7/26, пять девочек, средний возраст $(15,2 \pm 2,2)$ лет и два мальчика в возрасте 17,7 и 8,5 лет). Осложнения были представлены послеоперационным гипопаратиреозом, парезом голосовых складок.

У детей с узловым зобом после тиреоидэктомии гипопаратиреоз возникал чаще, чем парез голосовых складок ($p = 0,006$). Так, послеоперационный гипопаратиреоз диагностирован у 23% пациентов (6/26, $p = 0,006$, четыре девочки, средний возраст $(16,1 \pm 1,2)$ лет, и два мальчика в возрасте 8,5 и 17,7 лет), у которых гипокальциемия возникла в 1-е сут после тиреоидэктомии и потребовала назначения препаратов кальция (Ме суточной дозы 2,7 [1,5; 3,8] г) в комплексе с активными формами витамина D_3 (Ме суточной дозы 0,95 [0,7; 2,4] мкг). Симптоматическая

гипокальциемия (парестезии, симптом Хвостека, Труссо) отмечалась чаще (83% (5/6) пациентов), чем бессимптомная (17% (1/6) пациентов, $p = 0,019$). Среди детей с симптоматической гипокальциемией у 80% (4/5) пациентов по данным ЭКГ зафиксировано удлинение интервала QT (Ме 0,02 [0,01; 0,035] с).

Статистически значимой разницы в суммарном объеме щитовидной железы среди пациентов с послеоперационной гипокальциемией (Ме объема щитовидной железы 16,99 [9,84; 24,63] см³) и нормокальциемией (Ме объема щитовидной железы 18,95 [15,56; 24,83] см³) не выявлено ($p > 0,05$). С одинаковой частотой по клиническим проявлениям ($p > 0,05$) послеоперационный гипопаратиреоз встречался у мальчиков и девочек.

Гипопаратиреоз носил перманентный характер (более 6 мес) лишь у 17% (1/6) пациентов,

в абсолютном большинстве случаев у 83% (5/6, $p = 0,019$) пациентов – транзиторный, продолжительностью 7–30 дней (Me 10 [10; 18] дней).

Парез голосовых складок диагностирован у 4% (1/26, девочка в возрасте 11,7 лет). У этой пациентки с 1-х сут послеоперационного периода отмечались осиплость голоса, отсутствие кашлевого толчка. На фоне фонопедического лечения (дыхательная, голосовая, артикуляционная гимнастика) функция голосовых складок восстановилась через 3 мес (рис. 1).

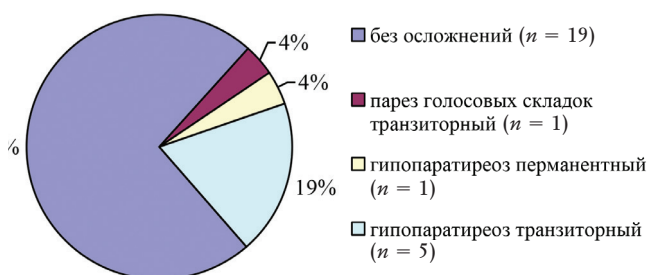


Рис. 1. Осложнения тиреоидэктомии у детей с узловым зобом (n = 26)

Fig. 1. Complications of thyroidectomy in children with nodular goiter (n = 26)

Среди детей с одноузловым зобом, которым проведена органосохраняющая операция на щитовидной железе – энуклеация узла (n = 12), таких послеоперационных осложнений, как гипопаратиреоз, парез голосовых складок, нарушения функции щитовидной железы (Me ТТГ 2,62 [1,81; 3,05] мкЕд/мл, средние значения св. Т4 (12,24 ± 1,31) пмоль/л, св. Т3 (4,76 ± 0,38) пмоль/л) не выявлено. Рецидив заболевания диагностирован у 25% пациентов (3/12, соотношение девочки/мальчики – 2/1) через 8 [5,6; 9,5] лет после оперативного лечения. Данные пациенты оперированы по поводу узлового коллоидного зоба.

Среди детей, оперированных по поводу фолликулярной аденомы, рецидива аденомы не было, но у 20% (1/5) пациентов через 10,1 лет выявлено узловое образование, которое по данным цитоморфологического исследования представлено коллоидным узлом. В настоящее время показаний для оперативного лечения новых узловых образований у данных пациентов нет.

Среди детей с одноузловым зобом, которым проведена гемитиреоидэктомия (n = 18), таких послеоперационных осложнений, как гипопаратиреоз, парез голосовых складок, рецидива заболевания не было. Неблагоприятные исходы встречались так же часто, как и после энуклеации узла

($p > 0,05$), но были представлены лишь стойким послеоперационным гипотиреозом у 28% пациентов (5/18, соотношение девочки/мальчики – 3/2) через 4 [3; 6] мес после проведенной гемитиреоидэктомии. Все случаи снижения функции щитовидной железы представлены субклиническим гипотиреозом (Me ТТГ 5,73 [5,64; 7,9] мкЕд/мл, средние значения св. Т4 (14,88 ± 3,12) пмоль/л, св. Т3 (5,28 ± 0,72) пмоль/л).

Таким образом, риск развития рецидива узлового зоба достоверно чаще возникал у детей после проведенной энуклеации узла, чем после гемитиреоидэктомии ($p = 0,025$), а послеоперационный гипотиреоз чаще возникал у детей с узловым зобом после гемитиреоидэктомии, чем после энуклеации узла ($p = 0,046$) (табл. 4).

Т а б л и ц а 4

Исходы органосохраняющих операций у детей с узловым зобом			
Показатель	Энуклеация узла ЩЖ, абс (%)	Гемитиреоидэктомия, абс (%)	p
Отсутствие осложнений (n = 22)	9 (75)	13 (72)	> 0,05
Неблагоприятные исходы (n = 8): рецидив заболевания (n = 3) послеоперационный гипотиреоз (n = 5)	3 (25)	5 (28)	> 0,05
	3 (25)	–	0,025
	–	5 (28)	0,046
Всего (n = 30)	12 (100)	18 (100)	–

При болезни Грейвса показаниями к оперативному лечению в абсолютном большинстве случаев было отсутствие стойкой клинико-гормональной и иммунологической компенсации заболевания в 85% (18/21, $p = 0,000$) случаев, и лишь в 10% (2/21) случаев наличие узлов, в 5% (1/21) случаев – загрудинное расположение зоба (рис. 2).

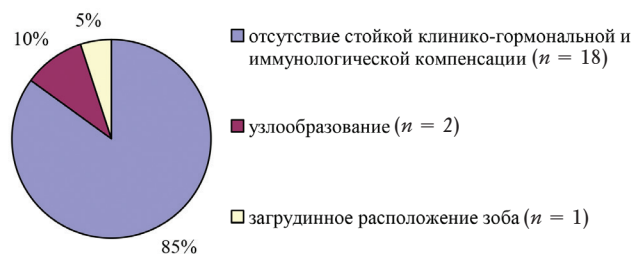


Рис. 2. Показания к оперативному лечению детей с болезнью Грейвса (n = 21)

Fig. 2. Indications for the surgical treatment of children with Graves' disease (n = 21)

Анализ объема оперативного лечения на щитовидной железе у детей с болезнью Грейвса показал, что, в отличие от взрослой популяции, с одинаковой частотой выполнялись как тиреоидэктомия – у 38% (8/21) пациентов (соотношение девочки/мальчики – 5/3), так и субтотальная субфасциальная резекция ЩЖ – у 62% (13/21, $p > 0,05$) пациентов (соотношение девочки/мальчики – 10/3).

Частота неблагоприятных исходов оперативного лечения болезни Грейвса у детей составила 14% (3/21, 1 девочка в возрасте 15,6 лет и 2 мальчика в возрасте 14,3 и 17,9 лет). Осложнения были представлены послеоперационным гипопаратиреозом и парезом голосовых складок. Все осложнения возникли только после тиреоидэктомии ($p = 0,017$).

Так, послеоперационный гипопаратиреоз диагностирован у 13% пациентов (1/8, девочка в возрасте 15,6 лет), который возник в 1-е сут после тиреоидэктомии, потребовавший назначения препаратов кальция (суточная доза 1 г) в комплексе с активными формами витамина D_3 (суточная доза 10 мкг), и носил стойкий характер.

Парез голосовых складок диагностирован у 13% пациентов (1/8, мальчик в возрасте 14,3 лет). У данного пациента с 1-х сут послеоперационного периода отмечались осиплость голоса, отсутствие кашлевого толчка. Парез голосовых складок носил перманентный характер. Нарушение голоса в виде шепотной речи, неполное смыкание голосовых складок и асимметрия голосовой щели сохранялись спустя 3 года после тиреоидэктомии.

Сочетание послеоперационного гипопаратиреоза и пареза голосовых складок диагностировано у 13% пациентов (1/8, мальчик в возрасте 17,9 лет). Послеоперационный гипопаратиреоз у данного пациента носил перманентный, а парез голосовых складок – транзиторный характер.

При проведении сравнительного анализа неблагоприятных исходов тиреоидэктомии осложнения одинаково часто встречались как при узловом зобе, так и при болезни Грейвса ($p > 0,05$), но стойкие нарушения функции в виде перманентного гипопаратиреоза и перманентного пареза голосовых складок чаще встречались при болезни Грейвса, чем при узловом зобе ($p = 0,01$) (табл. 5).

Т а б л и ц а 5

Исходы тиреоидэктомии при узловом зобе ($n = 26$) и болезни Грейвса ($n = 8$)			
Исходы оперативного лечения	Тиреоидэктомия при узловом зобе, абс (%)	Тиреоидэктомия при болезни Грейвса, абс (%)	p
Отсутствие осложнений ($n = 24$)	19 (73%)	5 (61%)	$> 0,05$
Стойкие нарушения функции ($n = 4$):	1 (4%)	3 (39%)	0,01
парез голосовых складок перманентный ($n = 1$)	–	1 (13%)	$> 0,05$
гипопаратиреоз перманентный ($n = 3$)	1 (4)	2 (26)	$> 0,05$
Транзиторные нарушения функции ($n = 7$):	6 (23)	1 (13)	$> 0,05$
парез голосовых складок транзиторный ($n = 2$)	1 (4)	1 (13)	$> 0,05$
гипопаратиреоз транзиторный ($n = 5$)	5 (19)	–	$> 0,05$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования показали, что каждый четвертый пациент после оперативного лечения патологии ЩЖ имел неблагоприятные исходы, структура которых гетерогенна и зависела от объема хирургического вмешательства. Высокий риск развития рецидива узлового зоба у детей после энуклеации узла щитовидной железы при одноузловом зобе определяет необходимость проведения гемитиреоидэктомии. С целью своевременной диагностики послеоперационного гипотиреоза необходимо оценивать функцию щитовидной железы не позднее, чем через 3 мес после гемитиреоидэктомии.

При проведении тиреоидэктомии необходимо на дооперационном этапе осуществлять поиск предикторов послеоперационного гипопаратиреоза, а на послеоперационном этапе, начиная

с 1-х сут, проводить контроль уровня кальция и паратгормона в сыворотке крови.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ И ВКЛАД АВТОРОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи, и сообщают о вкладе авторов. Рогова О.С. – проведение практической части исследования, анализ и интерпретация данных, написание рукописи статьи. Самсонова Л.Н. – разработка концепции и дизайна, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Окминян Г.Ф. – проведение практической части исследования, проверка критически важного интеллектуального содержания. Киселева Е.В. – проведение практической части исследования, проверка критически важного

интеллектуального содержания. Латышев О.Ю. – проведение практической части исследования, проверка критически важного интеллектуального содержания. Касаткина Э.П. – проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Пыков М.И. – проведение практической части исследования, разработка концепции и дизайна, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Окулов А.Б. – проведение практической части исследования, разработка концепции и дизайна, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Мираков К.К. – проведение практической части исследования, проверка критически важного интеллектуального содержания.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование одобрено локальным этическим Комитетом по этике научных исследований Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования (протокол № 2 от 03.03.2014).

ЛИТЕРАТУРА

1. Aghini-Lombardi F., Antonangeli L., Martino E., Vitti P., Maccherini D., Leoli F., Rago T., Grasso L., Valeriano R., Balestrieri A., Pinchera A. The spectrum of thyroid disorders in an iodine-deficient community: the Pescopagano survey // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999; Feb. 84 (2): 561–566. DOI: 10.1210/jcem.84.2.5508.
2. Altincik A., Demir K., Abaci A., Bober E., Buyugebiz A. Fine-needle aspiration biopsy in the diagnosis and follow-up of thyroid nodules in childhood // *JCRPE.* 2010; 2: 78–80.
3. Buryk M.A., Monaco S.E., Witchel S.F., Mehta D.K., Gurtunca N., Nikiforov Y.E., Simins J.P. Preoperative cytology with molecular analysis to help guide surgery for pediatric thyroid nodules // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 2013; Oct. 77 (10): 1697–1700. DOI: 10/1016/j.ijporl.2013.07.029.
4. De Luca F., Aversa T., Alessi L., Cama V., Costanzo D., Genovese C., Scuderi V., Vadala R., Zoccali G. Thyroid nodules in childhood: indications for biopsy and surgery // *Italian Journal of Pediatrics.* 2014; 40: 48.
5. Dinanuer C.A., Breuer C., Rivkees S.A. Differentiated thyroid cancer in children: diagnosis and management // *Curr. Opin. Oncol.* 2008; 20: 59–65.
6. Gupta A., Ly S., Castroneves L.A., Frates M.C., Benson C.B., Feldman H.A., Wassner A.J., Smith J.R., Marqusee E., Alexander E.K., Barletta J., Doubilet P.M., Peters H.E., Webb S., Modi B.P., Paltiel H.J., Kozakewich H., Cibas E.S., Moore F.D., Shamberger R.C., Larsen R.P., Huang S.T. A standardized assessment of thyroid nodules in children confirms higher cancer prevalence than in adults // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013; Aug. 98 (8): 3238–3245. DOI: 10.1210/jc.2013-1796.
7. Hoperia V., Larin A., Jensen K., Bauer A., Vasko V. Thyroid fine needle aspiration biopsies in children: study of cytological-histological correlation and immunostaining with thyroid peroxidase monoclonal antibodies // *Int. J. Pediatr. Endocrinol.* 2010; 2010. DOI: 10.1155/2010/690108.
8. Kaur J., Srinivasan R., Arora S.K., Rajwanshi A., Saikia U.N., Dutta P., Gupta N., Nijhawan R., Dey P. Fine-needle aspiration in the evaluation of thyroid lesions in children // *Diagn. Cytopathol.* 2012; May. 40 (Suppl. 1): E33–37. DOI: 10.1002/dc.21568.
9. Khozeimeh N., Gingalewski C. Thyroid nodules in children: a single institution's experience // *J. Oncol.* 2011; 2011: 974125. DOI: 10.1155/2011/974125.
10. Lai S.W., Roberts D.J., Rabi D.M., Winston K.Y. Diagnostic accuracy of fine needle aspiration biopsy for detection of malignancy in pediatric thyroid nodules: protocol for a systematic review and meta-analysis // *Systematic Reviews.* 2015; 4: 120. DOI: 10.1186/s13643-015-0109-0.
11. Mirshemirani A., Roshanzamir F., Tabari A.K., Ghorobi J., Salehpour S., Gorji F.A. Thyroid nodules in childhood: a single institute experience // *Iran. J. Pediatr.* 2010; Mar. 20 (1): 91–96.
12. Monaco S.E., Pantanowitz L., Khalbuss W.E., Benkovich V.A., Ozolek J., Nikiforova M.N., Simons J.P., Nikiforov Y.E. Cytomorphological and molecular genetic findings in pediatric thyroid fine-needle aspiration // *Cancer Cytopathology.* 2012; 120 (5): 342–350. DOI: 10.1002/cncy.21199.
13. Niedziela M. Pathogenesis, diagnosis and management of thyroid nodules in children // *Endocr. Relat. Cancer.* 2006; 13: 427–453. DOI: 10.1677/erc.1.00882.
14. Breuer C., Tuggle C., Solomon D., Sosa J. Pediatric Thyroid Disease: When in surgery necessary, and who should be operating on our children? // *J. Clin. Res. Pediatr. Endocrinol.* 2013; 5 (Suppl. 1): 79–85. DOI: 10.4274/Jcrpe.817.
15. Matsuda A., Matsuda T., Shibata A., Katanoda K., Sobue T., Nishimoto H. Japan Cancer Surveillance Research Group Cancer incidence and incidence rates in Japan in 2007: a study of 21 population-based cancer registries for the Monitoring of Cancer Incidence in Japan (MCIJ) project. Jpn // *J. Clin. Oncol.* 2013; 43: 328–336.
16. Corrias A., Mussa A. Thyroid nodules in pediatrics: which ones can be left alone, which ones must be investigated, when and how // *J. Clin. Res. Pediatr. Endocrinol.* 2013; 5 (Suppl. 1): 57–69. DOI: 10.4274/Jcrpe.853.
17. Hogan A.R., Zhuge Y., Perez E.A., Koniaris L.G., Lew J.I., Sola J.E. The incidence of pediatric thyroid cancer is increasing and is higher in girls than in boys and may have an adverse outcome // *Journal of Surgery Research.* 2009; 156: 167–172.

18. Дедов И.И., Трошина Е.А., Юшков П.В., Александрова Г.Ф. Диагностика и лечение узлового зоба. Методические рекомендации. М., 2001: 69.
19. Петров В.Г., Нелаева А.А., Машкин А.М., Александрова Е.А., Зайцев Е.Ю. Современные аспекты тактики диагностики и хирургического лечения узлового зоба. Тюмень: Академия, 2003: 104.
20. Фадеев В.В., Ванушко В.Э. Послеоперационный гипотиреоз и профилактика рецидива заболеваний щитовидной железы. М.: Издательский дом Видар-М, 2011: 72.
21. Федеральные клинические рекомендации (протоколы) по ведению детей с эндокринными заболеваниями / под ред. И.И. Дедова, В.А. Петерковой. М.: Практика, 2014: 442.
22. Мираков К.К. Тактика хирургического лечения доброкачественных узловых поражений щитовидной железы у детей: автореф. дис. ...канд. мед. наук. М., 2006: 25.
23. Akkari M., Schmitt D., Jeandel C., Raingeard I., Blanchet C., Cartier C., Garrel R., Guerrier B., Makeieff M., Mondain M. Nodular recurrence and hypothyroidism following partial thyroidectomy for benign nodular thyroid disease in children and adolescents // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 2014; Oct. 78 (10): 1742–1746. DOI: 10.1016/j.ijporl.2014.07.037.
24. Bargren A.E., Meyer-Rochow G.Y., Delbridge L.W., Sidhu S.B., Chen H. Outcomes of surgically managed pediatric thyroid cancer // *J. Surg. Res.* 2009; 156 (1): 70.
25. Burke J.F., Sippel R.S., Chen H. Evolution of pediatric thyroid surgery at a tertiary medical center // *J. Surg. Res.* 2012; Oct. 177 (2): 268–274. DOI: 10.1016/j.jss.2012.06.044.
26. Chiapponi C., Stocker U., Mussack T., Gallwas J., Hallfeldt K., Ladurner R. The surgical treatment of Graves' disease in children and adolescents // *World. J. Surg.* 2011; Nov. 35 (11): 2428–2431. DOI: 10.1007/s00268-011-1238-9.
27. Efremidou E.I., Papageorgiou M.S., Liratzopoulos N., Manolas K.J. The efficacy and safety of total thyroidectomy in the management of benign thyroid disease: a review of 932 cases // *Can. J. Surg.* 2009; 52 (1): 39–44.
28. Ho T.W., Shaheen A.A., Dixon E., Harvey A. Utilization of thyroidectomy for benign disease in the United States: a 15-year population-based study // *Am. J. Surg.* 2011; May. 201 (5): 570–574. DOI: 10/1016/j.amjsurg.2010.12.006.
29. Mallick U.K. The revised American thyroid association management guidelines 2009 for patients with differentiated thyroid cancer: an evidence-based risk-adapted approach // *Clin. Oncol. (R. Coll. Radiol.).* 2010; Aug. 22 (6): 472–474. DOI: 10.1016/j.clon.2010.05.001.
30. Raval M.V., Browne M., Chin A.C., Zimmerman D., Angelos P., Reynolds M. Total thyroidectomy for benign disease in the pediatric patient-feasible and safe // *Journal of Pediatric Surgery.* 2009; Aug. 44 (8): 1529–1533. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2008.11.032.
31. Wilhelm S.M., McHenry C.R. Total thyroidectomy is superior to subtotal thyroidectomy for management of Graves' disease in the United States // *World. J. Surg.* 2010; 34(6): 1261–1264.
32. Scholz S., Smith J.R., Chaignaud B., Shamberger R.C., Huanq S.A. Thyroid surgery at Children's Hospital Boston: a 35-year single-institution experience // *J. Pediatr. Surg.* 2011; Mar. 46 (3): 437–442. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2010.09.009.
33. Sosa J.A., Bowman H.M., Tielsch J.M., Powe N.R., Gordon T.A., Udelsman R. The importance of surgeon experience for clinical and economic outcomes from thyroidectomy // *Ann. Surg.* 1998; Sep. 228 (3): 320–330.
34. Akkari M., Makeieff M., Jeandel C., Raingeard I., Cartier C., Garrel R., Guerrier B., Blanchet C., Mondain M. Thyroid surgery in children and adolescents: A series of 65 cases // *European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck diseases.* 2014; 131(5): 293–297.
35. Freire A.V., Ropelato M.G., Ballerini M.G., Acha O., Bergada I., de Papendieck L.G., Chiesa A. Predicting hypocalcemia after thyroidectomy in children // *J. Surgery.* 2014; Jul. 156 (1): 130–136. DOI: 10.1016/j.surg.2014.02.016.
36. Karnak I., Ardicli B., Ekinci S., Ciftci A.O., Orhan D., Kale G., Tanyel F.C., Senocak M.E. Papillary thyroid carcinoma does not have standard course in children // *Pediatr. Surg. Int.* 2011; Sep. 27 (9): 931–936. DOI: 10.1007/s00383-011-2932-2.
37. Sherman J., Thompson G.B., Lteif A., Schwenk W.F. 2nd, van Heerden J., Farley D.R., Kumar S., Zimmerman D., Churchward M., Grant C.S. Surgical management of Graves disease in childhood and adolescence: an institutional experience // *Journal Surgery.* 2006; Dec. 140 (6): 1056–1061. DOI: 10/1016/j.surg.2006.07.040.

Поступила в редакцию 18.11.2016

Утверждена к печати 30.06.2017

Рогова Ольга Сергеевна, аспирант, кафедра детской эндокринологии, РМАНПО, г. Москва.

Самсонова Любовь Николаевна, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой детской эндокринологии, РМАНПО, г. Москва.

Окминян Гоар Феликсовна, канд мед. наук, доцент, кафедра детской эндокринологии, РМАНПО, г. Москва.

Киселёва Елена Валентиновна, канд мед. наук, доцент, кафедра детской эндокринологии, РМАНПО, г. Москва.

Латышев Олег Юрьевич, канд мед. наук, доцент, кафедра детской эндокринологии, РМАНПО, г. Москва.

Касаткина Эльвира Петровна, д-р мед. наук, профессор, кафедра детской эндокринологии, РМАНПО, г. Москва.

Пыков Михаил Иванович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой лучевой диагностики детского возраста, РМАНПО, г. Москва.

Окулов Алексей Борисович, д-р мед. наук, профессор, кафедра детской хирургии, РМАНПО, г. Москва.

Мираков Кирилл Константинович, канд мед. наук, врач детский хирург, ДГКБ им. З.А. Башляевой ДЗМ, г. Москва.

(✉) Самсонова Любовь Николаевна, e-mail: elvkasatkina@yandex.ru

УДК 616.441-089.168.1-053.2

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-107-118

For citation: Rogova O.S., Samsonova L.N., Okminyan G.F., Kiseleva E.V., Latyshev O.Yu., Kasatkina E.P., Pykov M.I., Okulov A.B., Mirakov K.K. Outcomes of surgical treatment of thyroid disease in children. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 107–118

Outcomes of surgical treatment of thyroid disease in children

Rogova O.S.¹, Samsonova L.N.¹, Okminyan G.F.¹, Kiseleva E.V.¹, Latyshev O.Yu.¹, Kasatkina E.P.¹, Pykov M.I.¹, Okulov A.B.¹, Mirakov K.K.²

¹ Russian Medical Academy of Postgraduated Professional Education
2/1, Barrikadnaya Str., Moscow, 123995, Russian Federation

² Children's City Clinical Hospital named after Z.A. Bashlyaeva
28, Heroes Panfilov Str., Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Background. In recent years there has been a tendency of increase in the proportion of nodular goiter and Graves' disease in thyroid pathology in children, which necessitates a choice of rational tactics for treatment of these diseases. At present there is no optimal method of treatment for thyroid gland pathology, but one of the methods is surgery. Thyroid surgery due to the determination of the indications and choice of the optimal volume of the surgical intervention continues to be under debate as postoperative complications of surgical treatment of thyroid diseases in children are possible.

Aim: to study the outcomes of surgical treatment for thyroid pathology in children, depending on the volume of operation.

Materials and methods. This article presents the results of a survey of 77 children operated on in the period of 2002–2016 for Graves' disease, single-node goiter, and multinodular goiter. The examination included the determination of the levels of ionized calcium and TSH, FT4, FT3 in the blood serum, the evaluation of the functional state of the pituitary-thyroid system, thyroid ultrasound examination, and examination by an otolaryngologist.

Results. The incidence of adverse outcomes of surgical treatment in children with nodular goiter was 27%. Adverse outcomes were observed equally often after organ-preserving operations and after thyroidectomy, but they were of different structure. The frequency of postoperative complications after thyroidectomy performed on the nodular goiter was 27%. Complications presented as postsurgical hypoparathyroidism and vocal cord paresis. In children with nodular goiter, after thyroidectomy hypoparathyroidism occurred more frequently than paresis of the vocal folds. Symptomatic hypocalcemia was observed more frequently than the asymptomatic variant, and in most cases hypoparathyroidism was transient. Among children with a single-node goiter who underwent organ-preserving surgery on the thyroid gland postoperative complications such as hypoparathyroidism and paresis of the vocal folds were not identified. Adverse outcomes (disease recurrence, postoperative hypothyroidism) were observed equally often after hemithyroidectomy and node enucleation. But the risk of recurrence of nodular goiter was significantly more common in children after node enucleation than after hemithyroidectomy and postsurgical hypothyroidism was more common in children with nodular goiter after hemithyroidectomy than after node enucleation. The frequency of adverse outcomes of surgical treatment of Graves' disease in children was 14%. Complications were presented by post-surgical hypoparathyroidism and vocal cord paresis. All complications occurred only after thyroidectomy. When compared adverse outcomes of thyroidectomy were equally common in both nodular goiter and Graves' disease, but persistent dysfunction in the form of permanent hypoparathyroidism and permanent vocal cord paresis were more common in Graves' disease than in nodular goiter.

Conclusion. The results obtained demonstrate the heterogeneity of surgical treatment outcomes structure which depends on the surgical intervention volume.

Key words: nodular goiter in children, Graves' disease in children, thyroid nodule enucleation, hemithyroidectomy, subtotal thyroidectomy, thyroidectomy, hypocalcaemia, vocal cord dysfunctions, postoperative complications, postoperative hypothyroidism, recurrence of the disease.

REFERENCES

1. Aghini-Lombardi F., Antonangeli L., Martino E., Vitti P., Maccherini D., Leoli F., Rago T., Grasso L., Valeriano R., Balestrieri A., Pinchera A. The spectrum of thyroid disorders in an iodine-deficient community: the Pescopagano survey // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999; Feb. 84 (2): 561–566. DOI: 10.1210/jcem.84.2.5508.
2. Altincik A., Demir K., Abaci A., Bober E., Buyugebiz A. Fine-needle aspiration biopsy in the diagnosis and follow-up of thyroid nodules in childhood // *JCRPE.* 2010; 2: 78–80.
3. Buryk M.A., Monaco S.E., Witchel S.F., Mehta D.K., Gurtunca N., Nikiforov Y.E., Simons J.P. Preoperative cytology with molecular analysis to help guide surgery for pediatric thyroid nodules // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 2013; Oct. 77 (10): 1697–1700. DOI: 10/1016/j.ijporl.2013.07.029.
4. De Luca F., Aversa T., Alessi L., Cama V., Costanzo D., Genovese C., Scuderi V., Vadala R., Zoccali G. Thyroid nodules in childhood: indications for biopsy and surgery // *Italian Journal of Pediatrics.* 2014; 40: 48.
5. Dinauer C.A., Breuer C., Rivkees S.A. Differentiated thyroid cancer in children: diagnosis and management // *Curr. Opin. Oncol.* 2008; 20: 59–65.
6. Gupta A., Ly S., Castroneves L.A., Frates M.C., Benson C.B., Feldman H.A., Wassner A.J., Smith J.R., Marqusee E., Alexander E.K., Barletta J., Doubilet P.M., Peters H.E., Webb S., Modi B.P., Paltiel H.J., Kozakewich H., Cibas E.S., Moore F.D., Shamberger R.C., Larsen R.P., Huang S.T. A standardized assessment of thyroid nodules in children confirms higher cancer prevalence than in adults // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013; Aug. 98 (8): 3238–3245. DOI: 10.1210/jc.2013-1796.
7. Hoperia V., Larin A., Jensen K., Bauer A., Vasko V. Thyroid fine needle aspiration biopsies in children: study of cytological-histological correlation and immunostaining with thyroid peroxidase monoclonal antibodies // *Int. J. Pediatr. Endocrinol.* 2010; 2010. DOI: 10.1155/2010/690108.
8. Kaur J., Srinivasan R., Arora S.K., Rajwanshi A., Saikia U.N., Dutta P., Gupta N., Nijhawan R., Dey P. Fine-needle aspiration in the evaluation of thyroid lesions in children // *Diagn. Cytopathol.* 2012; May. 40 (Suppl. 1): E33–37. DOI: 10.1002/dc.21568.
9. Khozeimeh N., Gingalewski C. Thyroid nodules in children: a single institution's experience // *J. Oncol.* 2011; 2011: 974125. DOI: 10.1155/2011/974125.
10. Lai S.W., Roberts D.J., Rabi D.M., Winston K.Y. Diagnostic accuracy of fine needle aspiration biopsy for detection of malignancy in pediatric thyroid nodules: protocol for a systematic review and meta-analysis // *Systematic Reviews.* 2015; 4: 120. DOI: 10.1186/s13643-015-0109-0.
11. Mirshemirani A., Roshanzamir F., Tabari A.K., Ghorobi J., Salehpour S., Gorji F.A. Thyroid nodules in childhood: a single institute experience // *Iran. J. Pediatr.* 2010; Mar. 20 (1): 91–96.
12. Monaco S.E., Pantanowitz L., Khalbuss W.E., Benkovich V.A., Ozolek J., Nikiforova M.N., Simons J.P., Nikiforov Y.E. Cytomorphological and molecular genetic findings in pediatric thyroid fine-needle aspiration // *Cancer Cytopathology.* 2012; 120 (5): 342–350. DOI: 10.1002/cncy.21199.
13. Niedziela M. Pathogenesis, diagnosis and management of thyroid nodules in children // *Endocr. Relat. Cancer.* 2006; 13: 427–453. DOI: 10.1677/erc.1.00882.
14. Breuer C., Tuggle C., Solomon D., Sosa J. Pediatric Thyroid Disease: When in surgery necessary, and who should be operating on our children? // *J. Clin. Res. Pediatr. Endocrinol.* 2013; 5 (Suppl. 1): 79–85. DOI: 10.4274/Jcrpe.817.
15. Matsuda A., Matsuda T., Shibata A., Katanoda K., Sobue T., Nishimoto H. Japan Cancer Surveillance Research Group Cancer incidence and incidence rates in Japan in 2007: a study of 21 population-based cancer registries for the Monitoring of Cancer Incidence in Japan (MCIJ) project. Jpn // *J. Clin. Oncol.* 2013; 43: 328–336.
16. Corrias A., Mussa A. Thyroid nodules in pediatrics: which ones can be left alone, which ones must be investigated, when and how // *J. Clin. Res. Pediatr. Endocrinol.* 2013; 5 (Suppl. 1): 57–69. DOI: 10.4274/Jcrpe.853.
17. Hogan A.R., Zhuge Y., Perez E.A., Koniaris L.G., Lew J.I., Sola J.E. The incidence of pediatric thyroid cancer is increasing and is higher in girls than in boys and may have an adverse outcome // *Journal of Surgery Research.* 2009; 156: 167–172.
18. Dedov I.I., Troshina E.A., Yushkov P.V., Aleksandrova G.F. Diagnostika i lecheniye uzlovogo zoba. Metodicheskiye rekomendatsii. [Diagnosis and treatment of nodular goiter. Guidelines]. Moscow, 2001: 69 (in Russian).
19. Petrov V.G., Nelayeva A.A., Mashkin A.M., Aleksandrova E.A., Zaytsev E.Yu. Sovremennyye aspekty takтики diagnostiki i khirurgicheskogo lecheniya uzlovogo zoba. [Modern aspects of diagnosis and tactics of surgical treatment of nodular goiter]. Tyumen': Akademiya Publ., 2003: 104 (in Russian).
20. Fadeyev V.V., Vanushko V.E. Posleoperatsionnyy gipotireoz i profilaktika retsidiva zabolevaniy shchitovidnoy zhelezy. [Postoperative hypothyroidism and prevention of relapse of thyroid diseases]. Moscow, Izdatel'skiy dom Vidar-M Publ., 2011: 72 (in Russian).
21. Federal'nyye klinicheskiye rekomendatsii (protokoly) po vedeniyu detey s endokrinnyimi zabolevaniyami. [Federal'nye clinical guidelines (protocols) on the management of children with endocrine disorders] / pod red. I.I. Dedova, V.A. Peterkovoy. Moscow: Praktika Publ., 2014: 442. (in Russian).
22. Mirakov K.K. Taktika khirurgicheskogo lecheniya do-brokachestvennykh uzlovykh porazheniy shchitovidnoy zhelezy u detey. Avtoref. dis. kand. med.nauk. [Surgical treatment of benign nodular thyroid lesions in children. Author. Diss. Cand. med. sci.]. Moscow, 2006: 25 (in Russian).

23. Akkari M., Schmitt D., Jeandel C., Raingeard I., Blanchet C., Cartier C., Garrel R., Guerrier B., Makeieff M., Mondain M. Nodular recurrence and hypothyroidism following partial thyroidectomy for benign nodular thyroid disease in children and adolescents // *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 2014; Oct. 78 (10): 1742–1746. DOI: 10.1016/j.ijporl.2014.07.037.
24. Bargren A.E., Meyer-Rochow G.Y., Delbridge L.W., Sidhu S.B., Chen H. Outcomes of surgically managed pediatric thyroid cancer // *J Surg Res.* 2009; 156 (1): 70.
25. Burke J.F., Sippel R.S., Chen H. Evolution of pediatric thyroid surgery at a tertiary medical center // *J. Surg. Res.* 2012; Oct. 177 (2): 268–274. DOI: 10.1016/j.jss.2012.06.044.
26. Chiapponi C., Stocker U., Mussack T., Gallwas J., Hallfeldt K., Ladurner R. The surgical treatment of Graves' disease in children and adolescents // *World. J. Surg.* 2011; Nov. 35 (11): 2428–2431. DOI: 10.1007/s00268-011-1238-9.
27. Efremidou E.I., Papageorgiou M.S., Liratzopoulos N., Manolas K.J. The efficacy and safety of total thyroidectomy in the management of benign thyroid disease: a review of 932 cases // *Can. J. Surg.* 2009; 52 (1): 39–44.
28. Ho T.W., Shaheen A.A., Dixon E., Harvey A. Utilization of thyroidectomy for benign disease in the United States: a 15-year population-based study // *Am. J. Surg.* 2011; May. 201 (5): 570–574. DOI: 10.1016/j.amjsurg.2010.12.006.
29. Mallick U.K. The revised American thyroid association management guidelines 2009 for patients with differentiated thyroid cancer: an evidence-based risk-adapted approach // *Clin. Oncol. (R. Coll. Radiol.).* 2010; Aug. 22 (6): 472–474. DOI: 10.1016/j.clon.2010.05.001.
30. Raval M.V., Browne M., Chin A.C., Zimmerman D., Angelos P., Reynolds M. Total thyroidectomy for benign disease in the pediatric patient-feasible and safe // *Journal of Pediatric Surgery.* 2009; Aug. 44 (8): 1529–1533. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2008.11.032.
31. Wilhelm S.M., McHenry C.R. Total thyroidectomy is superior to subtotal thyroidectomy for management of Graves' disease in the United States // *World. J. Surg.* 2010; 34(6): 1261–1264.
32. Scholz S., Smith J.R., Chaignaud B., Shamberger R.C., Huanq S.A. Thyroid surgery at Children's Hospital Boston: a 35-year single-institution experience // *J. Pediatr. Surg.* 2011; Mar. 46 (3): 437–442. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2010.09.009.
33. Sosa J.A., Bowman H.M., Tielsch J.M., Powe N.R., Gordon T.A., Udelsman R. The importance of surgeon experience for clinical and economic outcomes from thyroidectomy // *Ann. Surg.* 1998; Sep. 228 (3): 320–330.
34. Akkari M., Makeieff M., Jeandel C., Raingeard I., Cartier C., Garrel R., Guerrier B., Blanchet C., Mondain M. Thyroid surgery in children and adolescents: A series of 65 cases // *European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck diseases.* 2014; 131(5): 293–297.
35. Freire A.V., Ropelato M.G., Ballerini M.G., Acha O., Bergada I., de Papendieck L.G., Chiesa A. Predicting hypocalcemia after thyroidectomy in children // *J. Surgery.* 2014; Jul. 156 (1): 130–136. DOI: 10.1016/j.surg.2014.02.016.
36. Karnak I., Ardicli B., Ekinci S., Ciftci A.O., Orhan D., Kale G., Tanyel F.C., Senocak M.E. Papillary thyroid carcinoma does not have standard course in children // *Pediatr. Surg. Int.* 2011; Sep. 27 (9): 931–936. DOI: 10.1007/s00383-011-2932-2.
37. Sherman J., Thompson G.B., Lteif A., Schwenk W.F. 2nd, van Heerden J., Farley D.R., Kumar S., Zimmerman D., Churchward M., Grant C.S. Surgical management of Graves disease in childhood and adolescence: an institutional experience // *Journal Surgery.* 2006; Dec. 140 (6): 1056–1061. DOI: 10.1016/j.surg.2006.07.040.

Received November 18.2016

Accepted June 30.2017

Rogova Olga S., Postgraduate Student, Department of Pediatric Endocrinology, Russian Medical Academy of Postgraduated Education Study, Moscow, Russian Federation.

Samsonova Lubov N., DM, Professor, Head of the Department of Pediatric Endocrinology, Russian Medical Academy of Postgraduated Education Study, Moscow, Russian Federation.

Okminyan Goar F., PhD, Associate Professor, Department of Pediatric Endocrinology, Russian Medical Academy of Postgraduated Education Study, Moscow, Russian Federation.

Kiseleva Elena V., PhD, Associate Professor, Department of Pediatric Endocrinology, Russian Medical Academy of Postgraduated Education Study, Moscow, Russian Federation.

Latyshev Oleg Yu., PhD, Associate Professor, Department of Pediatric Endocrinology, Russian Medical Academy of Postgraduated Education Study, Moscow, Russian Federation.

Kasatkina Elvira P., DM, Professor, Department of Pediatric Endocrinology, Russian Medical Academy of Postgraduated Education Study, Moscow, Russian Federation.

Pykov Mikhail I., DM, Professor, Head of the Department of Pediatric Radiation Diagnosis, Russian Medical Academy of Postgraduated Education Study, Moscow, Russian Federation.

Okulov Aleksey B., DM, Professor, Department of Pediatric Surgery, Russian Medical Academy of Postgraduated Education Study, Moscow, Russian Federation.

Mirakov Kirill K., PhD, Pediatric Surgeon, Children's City Clinical Hospital named after Z.A. Bashlyaeva, Moscow, Russian Federation.

(✉) **Samsonova Lubov N.**, e-mail: elvkasatkina@yandex.ru.

УДК 616.381-002-021.4-085.22-007.274

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-119-126

Для цитирования: Скальский С.В., Соколова Т.Ф., Сычев Д.А., Турок Н.Е. Влияние верапамила на формирование спаек при асептическом воспалении брюшины. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 119–126

Влияние верапамила на формирование спаек при асептическом воспалении брюшины

Скальский С.В.¹, Соколова Т.Ф.¹, Сычев Д.А.², Турок Н.Е.¹

¹ Омский государственный медицинский университет (ОмГМА)
Россия, 644099, г. Омск, ул. Ленина, 12

² Российская медицинская академия непрерывного последипломного образования (РМАНПО)
Россия, 125993, г. Москва, ул. Баффикидная, 2/1

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Экспериментальное исследование новых свойств верапамила в регуляции образования соединительной ткани.

Материал и методы. Исследование проведено при асептическом воспалении брюшины на целостном организме и в культуре клеток при моделировании гемоперитонеума у крыс. Установлена оптимальная доза (0,1 мг/кг массы тела) для внутрибрюшинного введения верапамила, не вызывающая значимых и достоверных изменений кардио- и гемодинамики.

Результаты. Выявлено, что верапамил, введенный крысам внутрибрюшинно в дозе 0,1 мг/кг массы тела, оказывает выраженный фармакологический эффект в отношении избыточной продукции соединительной ткани при гемоперитонеуме.

Выводы. В экспериментах *in vivo* и *in vitro* доказана возможность лекарственной модуляции пролиферативной и коллагенсинтезирующей функций фибробластов путем регуляции кальциевого обмена данных клеток верапамилом.

Ключевые слова: верапамил, гемоперитонеум, фибробласты, оксипролин.

ВВЕДЕНИЕ

Спаечная болезнь брюшины остается одной из сложных и до конца не решенных проблем абдоминальной хирургии. Значимость ее возрастает в связи с постоянным ростом числа и объема операций на органах брюшной полости [1]. Несмотря на изобилие предложенных к настоящему времени средств и рекомендаций для предотвращения послеоперационного спайкообразования, надежного и действенного средства пока не найдено [2]. Большинство применяемых в настоящее время методов профилактики спайкообразования недостаточно эффек-

тивны [3]. Одним из перспективных направлений решения этой проблемы является использование лекарственных средств, обладающих общим воздействием на патогенетические звенья спаечного процесса и, прежде всего, на функциональную активность фибробластов. Возможным инструментом воздействия на функцию фибробластов могут быть блокаторы медленных кальциевых каналов (БМКК). Известно, что местное и внутрисуставное применение верапамила в эксперименте уменьшает образование послеоперационных эпидуральных и внутрисуставных спаек путем ингибирования пролиферации фибробластов [4, 5]. По данным мета-анализа, верапамил эффективен в профилактике и лечении келоидных и гипертрофических рубцов. Его эффективность

✉ Скальский Сергей Викторович, e-mail: sergscalskiy@mail.ru.

сравнима с инъекциями кортикостероидов, а безопасность выше [6].

Влияние верапамила на функции фибробластов является патогенетическим обоснованием для проведения исследований новых свойств БМКК верапамила по регуляции образования соединительной ткани при асептическом воспалении брюшины. Цель данной работы – экспериментальное исследование новых свойств БМКК верапамила в регуляции образования соединительной ткани при асептическом воспалении брюшины с помощью изучения механизмов спайкообразования и целенаправленного применения верапамила в целостном организме и культуре клеток на модели гемоперитонеума для коррекции нарушений, вызванных патологическим процессом, в дозе, при которой кардио- и гемодинамические эффекты препарата не проявляются.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования проведены на 143 белых самцах крыс линии Вистар массой 220–240 г из питомника Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск). Животные содержались в стандартных условиях вивария, на обычном рационе при свободном доступе к воде и пище, в условиях нормального температурного и светового режимов. Эвтаназию животных и забор материала осуществляли под эфирным наркозом путем декапитации крыс.

В основу экспериментального изучения новых свойств верапамила по предотвращению чрезмерного образования соединительной ткани при развитии спаечного процесса легли определение дозы, при которой основные фармакологические свойства верапамила не проявлялись, а также экспериментальное моделирование внутрибрюшинных спаек, исследование влияния верапамила (0,1 мг/кг) на процесс спайкообразования в условиях *in vivo* и пролиферативную активность фибробластов (*in vitro*). Проведено три серии экспериментов, обозначенных А, В и С. В экспериментах серии А определяли режимы дозирования верапамила, исходя из необходимости минимизировать кардио- и гемодинамические эффекты препарата. Использовали водный раствор верапамила в концентрации 0,25% в ампулах по 2 мл (ОАО «Биосинтез», г. Пенза). На 66 крысах изучали влияние различных доз верапамила на системную гемодинамику и функции миокарда при внутрибрюшинном (в/б) введении препарата. Регистрацию параметров гемодинамики производили до введения верапамила и

через 15 мин, 2 и 4 ч после инъекции. В соответствии с ОСТ 42-511-99 «Правила проведения качественных клинических испытаний в Российской Федерации» от 29.12.98 года авторами был выбран следующий диапазон исследуемых доз: 0,4 мг/кг массы тела животного (группа 1-А), 0,2 мг/кг (группа 2-А), 0,1 мг/кг (группа 3-А). Изучение дозозависимого влияния верапамила на уровни систолического, диастолического и среднего артериального давления, периферическое сосудистое сопротивление и показатели сердечного выброса проводили на полифизиографе МАИТ – 01 «Данко» (ООО «Медицинские системы», г. Ростов-на-Дону) с электроманометрическим, электрокардиографическим и реографическим блоками.

Животным серии В моделировали спаечный процесс в брюшной полости путем забора крови (мл) в количестве 1% массы тела (г) с соблюдением правил асептики из дорсальной хвостовой вены крысы и далее в течение не более чем 20 с однократного инъекционного введения аутокрови в брюшинную полость через прокол в каудальной трети белой линии живота (патент РФ на изобретение № 2260854 «Способ моделирования внутрибрюшинных спаек», 2005). Крысы серии В были разделены на две группы. В группе 1-В животным проводили моделирование асептического перитонеального спайкообразования с последующей (на 10-е сут после введения аутокрови) оценкой морфологических характеристик перитонеальных спаек, биохимического и цитологического состава перитонеальной жидкости. Вторая группа серии В являлась основной группой сравнения при проведении профилактики спайкообразования верапамилем. Крысам группы 2-В интраперитонеально одновременно с аутокровью вводили 0,25%-й водный раствор верапамила (ОАО «Биосинтез», г. Пенза) в дозе 0,1 мг/кг массы тела. Эффективность изучаемого метода профилактики спайкообразования оценивали через 10 сут. Контрольную группу составили 20 сопоставимых по полу и возрасту здоровых крыс, получавших 0,9%-й раствор NaCl тем же способом и в том же объеме.

Макроморфологическое исследование включало оценку выраженности спаечного процесса в брюшной полости (распространенность процесса, локализация спаек, их форма). Морфологические изменения со стороны брюшины и органов брюшной полости оценивались визуально, протоколировались и фотографировались. Спайки извлекались и подвергались гистологическому исследованию по общепринятым методикам, ис-

пользуемым при световой микроскопии, с окрашенной гематоксилином и эозином, а также пикрофуксином по Ван Гизону. В экспериментах серии С проведена оценка верапамила в качестве регулятора функции активированных перитонеальных фибробластов при индукции фибропластических процессов в первичной культуре клеток. Крысам, согласно разработанного способа, воспроизводили гемоперитонеум. Спустя 10 сут, сразу после эвтаназии животного, брюшную полость промывали 10 мл среды RPMI-1640 с антибиотиками и 10%-м раствором гепарина через прокол в каудальной трети белой линии живота. Образцы перитонеальных смывов центрифугировали при 800–1000 об/мин в течение 10 мин для осаждения клеточных элементов, которые затем трижды отмывали средой RPMI-1640 (Sigma, США) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки, 2% глутамина, 100 ЕД/мл пенициллина и 100 ЕД/мл стрептомицина.

Количество клеток в среде определяли методом подсчета в камере Горяева и доводили концентрацию клеток до 2×10^6 /мл. Также подсчитывали число жизнеспособных клеток при окраске трипановым синим. Полученные суспензии содержали 89–95% живых клеток. Затем суспензию клеток делили на два одинаковых пула и помещали в чашки Петри диаметром 40 мм с покровными стеклами, покрытыми синтетическим аналогом внеклеточного матрикса поли-D-лизинном. Клетки культивировали в среде RPMI-1640 с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки, глутамина, пенициллина и стрептомицина. В первой чашке клетки культивировали в ростовой среде без добавления лекарственных средств (группа 1-С). В суспензии клеток второго пула добавляли 0,1 мг/мл верапамила (группа 2-С). Использовали раствор верапамила в концентрации 0,25% в ампулах по 2 мл (ОАО «Биосинтез», г. Пенза, Россия). В качестве контрольного использовали пул клеток, полученный от интактных крыс. Клетки инкубировали 24 ч при 37 °С и в атмосфере 5%-го CO_2 . По окончании культивирования среду сливали, центрифугировали (1 500 об/мин, 10 мин), супернатант разливали по порциям и хранили при –20 °С до момента использования в течение 1 нед. Покровные стекла промывали в растворе Хенкса, фиксировали, окрашивали по Романовскому – Гимза. Пролиферативную активность фибробластов оценивали по количеству клеток с морфологическими признаками митоза. Оценку митотической активности фибробластов проводили путем определения митотического индекса по формуле:

$n/N \times 100\%$, где n – число клеток, вступивших в митоз, N – общее количество клеток. Микроскопию мазков проводили с помощью бинокулярного светового микроскопа (Carl Zeiss, Германия) при иммерсионном увеличении $\times 1000$ (окуляр $\times 10$, объектив $\times 100$). Степень стимуляции коллагеногенеза фибробластами оценивали по количеству белковосвязанного оксипролина. В супернатантах клеточных культур и перитонеальной жидкости содержание оксипролина определяли по методике П.Н. Шараева. Содержимое свободного и суммарного оксипролина рассчитывали по калибровочной кривой и выражали в микромолях на 1 л, по их разности находили количество белковосвязанного оксипролина. Достоверность различий оценивали в рамках программы Statistica 6.0. Анализ характера распределения полученных данных осуществляли построением гистограмм с последующей проверкой на нормальность по критерию Шапиро – Уилка. При обработке результатов вычислялись средние и стандартные отклонения массивов данных. При сравнении характеристик массивов использовали параметрический критерий (Стьюдента). Корреляционный анализ проводили с применением рангового коэффициента корреляции Спирмена. Нулевая гипотеза о равенстве показателей центральных тенденций отвергалась при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Учитывая, что традиционной областью применения БМКК является кардиология, а наличие выраженного кардио- либо ангиотропного действия верапамила минимизировало бы значимость предполагаемого его влияния на формирование соединительной ткани и делало бы проблематичным клиническое использование верапамила для предотвращения избыточного спайкообразования, было изучено влияние убывающих доз верапамила (0,4; 0,2; 0,1 мг/кг массы тела животного) на системную кардио- и гемодинамику белых крыс при интраперитонеальном введении препарата. В результате исследований выявлено, что наиболее отчетливое влияние на гемодинамику оказывал верапамил, вводимый внутривентрально в дозе 0,4 мг/кг массы тела животного в течение первых 2 ч наблюдения (группа 1-А, табл. 1). При этом регистрировали достоверное снижение частоты сердечных сокращений (ЧСС) через 15 мин и 2 ч после введения верапамила. Кардио-депрессивный эффект верапамила в указанной дозе проявлялся также уменьшением сердечного выброса: ударный объем (УО) был статистически

значимо снижен через 15 мин; 2 и 4 ч после интраперитонеального введения препарата. Сочетание отрицательного хроно- и инотропного эффектов препарата вызвало закономерное снижение

минутного объема кровообращения (МОК) через 15 мин; 2 и 4 ч после введения верапамила, степень снижения которого была существенно выше, чем УО и ЧСС в отдельности.

Т а б л и ц а 1

Влияние верапамила на кардио- и гемодинамику у крыс при интраперитонеальном введении, $M \pm m$			
Показатель	Группа животных (доза верапамила, мг/кг массы тела животного)		
	1-А (0,4)	2-А (0,2)	3-А (0,1)
ЧСС исходное	401,6 $\pm$ 5,1	342,1 $\pm$ 7	401,5 $\pm$ 5,1
ЧСС через 15 мин	317,8 $\pm$ 10,0*	302,6 $\pm$ 8,6*	393,3 $\pm$ 4,4
ЧСС через 2 ч	329,6 $\pm$ 4,2*	340,8 $\pm$ 5,1	394,2 $\pm$ 4,7
ЧСС через 4 ч	390,4 $\pm$ 3,4	338,0 $\pm$ 2,9	399,7 $\pm$ 4,5
АД систолическое исходное	130,8 $\pm$ 2,7	126,0 $\pm$ 2,8	130,8 $\pm$ 2,7
АД систолическое через 15 мин	110,8 $\pm$ 2,3*	127,1 $\pm$ 2,7	129,0 $\pm$ 2,3
АД систолическое через 2 ч	117,3 $\pm$ 2,2*	119,3 $\pm$ 2,4	129,0 $\pm$ 1,5
АД систолическое через 4 ч	122,1 $\pm$ 2,4*	123,1 $\pm$ 2,9	129,1 $\pm$ 2,1
АД диастолическое исходное	100,8 $\pm$ 3,3	99,1 $\pm$ 3,0	100,8 $\pm$ 3,3
АД диастолическое через 15 мин	89,3 $\pm$ 4,1*	103,2 $\pm$ 4,3	99,5 $\pm$ 2,0
АД диастолическое через 2 ч	90,7 $\pm$ 3,3*	104,7 $\pm$ 3,8	98,8 $\pm$ 1,3
АД диастолическое через 4 ч	94,6 $\pm$ 1,3*	102,1 $\pm$ 1,5	99,2 $\pm$ 1,1
АД среднее исходное	110,8 $\pm$ 2,8	123,0 $\pm$ 2,6	110,8 $\pm$ 2,9
АД среднее через 15 мин	96,5 $\pm$ 2,9*	126,0 $\pm$ 2,5	109,3 $\pm$ 1,5
АД среднее через 2 ч	99,6 $\pm$ 2,1*	127,1 $\pm$ 1,8	108,8 $\pm$ 1,3
АД среднее через 4 ч	103,7 $\pm$ 1,4*	125,3 $\pm$ 1,3	109,2 $\pm$ 1,1
УО исходное	0,12 $\pm$ 0,005	0,12 $\pm$ 0,005	0,11 $\pm$ 0,005
УО через 15 мин	0,09 $\pm$ 0,005*	0,11 $\pm$ 0,005	0,11 $\pm$ 0,005
УО через 2 ч	0,10 $\pm$ 0,004*	0,12 $\pm$ 0,003	0,11 $\pm$ 0,002
УО через 4 ч	0,11 $\pm$ 0,005*	0,11 $\pm$ 0,006	0,11 $\pm$ 0,005
МОК исходное	46,8 $\pm$ 2,3	45,9 $\pm$ 2,6	46,8 $\pm$ 2,3
МОК через 15 мин	28,8 $\pm$ 1,9*	39,1 $\pm$ 2,0*	45,0 $\pm$ 2,1
МОК через 2 ч	32,1 $\pm$ 1,4*	40,9 $\pm$ 1,3	44,7 $\pm$ 0,8
МОК через 4 ч	41,8 $\pm$ 2,2*	43,8 $\pm$ 2,5	45,8 $\pm$ 2,4
ОПСС исходное	0,27 $\pm$ 0,02	0,28 $\pm$ 0,01	0,27 $\pm$ 0,01
ОПСС через 15 мин	0,18 $\pm$ 0,01*	0,24 $\pm$ 0,01*	0,26 $\pm$ 0,01
ОПСС через 2 ч	0,19 $\pm$ 0,01*	0,25 $\pm$ 0,02	0,27 $\pm$ 0,02
ОПСС через 4 ч	0,25 $\pm$ 0,01	0,25 $\pm$ 0,01	0,28 $\pm$ 0,004

Примечание. АД – артериальное давление, ОПСС – общее периферическое сопротивление сосудов.

* различие показателей с исходными значениями, $p < 0,05$.

Ангиотропное действие верапамила в дозе 0,4 мг/кг массы тела животного оказалось так же выраженным в значительной степени. Так, по данным реовазографии, показатель ОПСС был снижен через 15 мин, 2 и 4 ч после введения верапамила. Таким образом, наличие выраженного влияния верапамила на сердечно-сосудистую систему в дозе 0,4 мг/кг массы тела животного свидетельствует о том, что для достижения поставленной цели данная доза оказалась избыточной. Верапамил в дозе 0,2 мг/кг массы тела животного также оказывал влияние на кардио- и гемодинамику, выраженность которого была существенно ниже, чем при дозе 0,4 мг/кг, и регистрировалось

только в течение первых 2 ч эксперимента (группа 2-А, см. табл. 1). Однако наличие кардио- и гемодинамических эффектов верапамила в дозе 0,2 мг/кг массы тела животного свидетельствовало о том, что данная доза для достижения поставленной цели была так же избыточной.

И лишь при введении верапамила в дозе 0,1 мг/кг массы тела животного показатели, характеризующие работу сердца и состояние кровообращения, оставались сопоставимыми с исходными данными в течение всего срока наблюдения (группа 3-А, см. табл. 1). Ни один из регистрируемых показателей кардио- и гемодинамики при введении данной дозы верапамила не

изменился. Так, опираясь на данные собственных исследований, был сделан вывод, что оптимальной для изучения влияния верапамила на процессы спайкообразования в брюшной полости является доза 0,1 мг/кг массы тела животного, не вызывавшая при внутрибрюшинном введении значимых и достоверных изменений кардио- и гемодинамики. Как показали исследования, внутрибрюшинное введение верапамила в дозе 0,1 мг/кг массы тела животного отчетливо влияло на процесс перитонеального спайкообразования. Без профилактического введения верапамила моделирование гемоперитонеума у крыс группы 1-В закономерно приводило к образованию в брюшной полости крыс соединительнотканых спаек со средним количеством $8,2 \pm 1,8$ на одно животное через 10 сут после введения аутокрови. Спайки локализовались преимущественно в нижнем этаже брюшной полости (64,6%, 254/393) и были представлены висцерально-париетальными (с вовлечением брюшной стенки) 24,4% (62/254) и висцеро-висцеральными 75,6% (192/254). Макроскопически спайки могли быть разделены на тяжевые (16,9%, 43/254), плоскостные (7,9%, 20/254), пленчатые (44,1%, 112/254), паутинные (4,7%, 12/254) и смешанные (26,4%, 67/254). Микроскопически все эти спайки были представлены волокнистой соединительной тканью, степень зрелости которой зависела от сроков наблюдения. Так, к 7–10-м сут фибриновые наложения и рыхлая соединительная ткань с хаотичным расположением коллагеновых волокон

и отсутствием врастания капилляров организовывались до плотной волокнистой соединительной ткани, представленной толстыми пучками упорядоченных коллагеновых волокон с небольшим врастанием капилляров. Отмечалась и динамика изменения клеточного состава. На 7–8-е сут наблюдалось большое количество лимфоцитов, гистиоцитов, фибробластов, единичные гигантские многоядерные клетки; на поверхности спаек имелось небольшое количество мезотелиоцитов. К 9-м сут начинали преобладать фибробласты; лимфоциты, плазмоциты обнаруживались в небольшом количестве; встречались единичные фиброциты и гигантские многоядерные клетки; поверхность спаек была частично покрыта мезотелиоцитами. На 10-е сут клеточный состав был представлен фиброцитами, фибробластами (ФБ); встречались единичные плазматические и тучные клетки; 2/3 поверхности спаек было покрыто мезотелиоцитами. Профилактическое внутрибрюшинное введение верапамила в группе 2-В крыс достоверно снижало общее количество спаек до $0,22 \pm 0,04$ (против $8,2 \pm 1,8$ в группе 1-В, $p < 0,05$) с преобладанием висцеро-париетальной локализации. Сформированная спайка к этому времени была тоньше, нежнее и с меньшим количеством клеточных элементов.

Профилактическое введение верапамила животным определило достоверное снижение содержания белковосвязанного оксипролина в перитонеальной жидкости к 10-м сут после моделирования аутогемоперитонеума (табл. 2).

Т а б л и ц а 2

Количество белковосвязанного оксипролина в перитонеальной жидкости и культуре клеток крыс с гемоперитонеумом, уровень пролиферации фибробластов, $M \pm m$			
Группа	Оксипролин, мкмоль/л		Митотический индекс
	в перитонеальной жидкости	в культуре клеток	
Контроль (интактные, (неактивированные ФБ)	–	$6,5 \pm 0,4$	$2,3 \pm 0,2$
1-В и 1-С (активированные ФБ)	$7,5 \pm 0,6$	$26,7 \pm 1,7^*$	$12,3 \pm 0,4^*$
2-В и 2-С (ФБ + верапамил)	$5,4 \pm 0,3^{**}(72,0\%)$	$8,9 \pm 0,2^{**}(33,3\%)$	$5,1 \pm 0,1^{**}(41,5\%)$

Примечание. () – доля от уровня показателей 1-С группы, %. * достоверность различий показателей группы 1-С и контроля, ** достоверность различий показателей группы 1-С и 2-С, $p < 0,05$.

Была установлена прямая и тесная корреляционная связь между количеством спаек и содержанием исследуемого биохимического субстрата в перитонеальной жидкости. Плотность этой корреляции прослеживалась как в группе животных без профилактического введения лекарственных средств (группа 1-С, $r = 0,92$; $p < 0,05$), так и при воздействии верапамила (группа 2-С, $r = 0,76$; $p < 0,05$). Более низкий коэффициент корреляции между исследуемыми биохимическими пока-

зателями и числом перитонеальных спаек у животных, подвергшихся воздействию верапамила, можно объяснить дискретностью показателя, характеризующего интенсивность спайкообразования (число спаек, а не их масса, площадь), и потому преобладанием его нулевых (незначимых) значений у большинства экспериментальных животных данной группы. Таким образом, в условиях представленного опыта уровень белковосвязанного оксипролина в перитонеальной

жидкости крыс характеризовал выраженность анаболической активности фибробластов и ее снижение под действием верапамила.

При моделировании гемоперитонеума, сопровождающегося повышенным спайкообразованием, в культуре активированных *in vivo* фибробластов (группа 1-С) через 24 ч экспозиции клеток в питательной среде без добавления лекарственных средств наблюдалось усиление образования белковосвязанного оксипролина, уровень которого в четыре раза превышал показатели контроля (см. табл. 2). Верапамил, введенный в культуру перитонеальных клеток (2-С группа), уменьшал гиперпродукцию коллагена активированными фибробластами. Количество белковосвязанного оксипролина, синтезируемого фибробластами в культуральной жидкости с верапамилом, было на 66,7% ниже, чем в культуре клеток без добавления лекарственных средств (33,3% от уровня показателей группы 1-С, см. табл. 2). Повышение коллагенсинтетической функции активированными фибробластами сочеталось с высокой пролиферативной активностью фибробластов группы 1-С. Через 24 ч культивирования митотический индекс превышал аналогичные показатели в группе контроля в 5,3 раза (табл. 2). Выявлено наличие тесной положительной связи с коэффициентом корреляции 0,91 ($p < 0,05$) между показателем пролиферации фибробластов и числом соединительнотканых спаек в брюшной полости крыс на 10-е сут после моделирования аутогемоперитонеума. Введение верапамила в культуру клеток (группа 2-С) предотвращало чрезмерную активацию фибробластов: митотическая активность клеток снизилась на 58,5%, составляя 41,5% от уровня показателей группы 1-С (см. табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

Очевидно, что число перитонеальных спаек в условиях данного эксперимента явилось своеобразной характеристикой реактивности брюшины и ее изменений под действием верапамила. Отсутствие спаек у большинства животных в основной экспериментальной группе (группа 2-В) характеризовало снижение реактивности брюшины при воздействии на нее верапамила. Это подтвердило и исследование в перитонеальной жидкости крыс, перенесших гемоперитонеум, белковосвязанного оксипролина.

Таким образом, в условиях представленного опыта уровень белковосвязанного оксипролина в перитонеальной жидкости крыс характеризовал выраженность анаболической активности фибро-

бластов и ее снижение под действием верапамила. Полученные данные согласуются с результатами зарубежных исследований влияния верапамила на профилактику спайкообразования в эксперименте [4, 6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Доза верапамила 0,1 мг/кг массы тела при внутрибрюшинном введении не вызывает значимых изменений кардио- и гемодинамики и является оптимальной для профилактики спайкообразования.

Внутрибрюшинное введение верапамила (0,1 мг/кг) крысам при моделировании гемоперитонеума снижает содержание белковосвязанного оксипролина в перитонеальной жидкости и коррелирует с уменьшением количества спаек в брюшной полости крыс.

Верапамил (0,1 мг/мл) в культуре клеток тормозит чрезмерную при гемоперитонеуме митотическую и коллагенсинтетическую активность перитонеальных фибробластов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ОмГМА (протокол № 12 от 6 мая 2005 г.).

ЛИТЕРАТУРА/ REFERENCES

1. Ward B. C., Panitch A. Abdominal adhesions: current and novel therapies // *Journal of Surgical Research*. 2011; 165 (1): 91–111. Doi 10.1016/j.jss.2009.09.015. Тpub 2009 oct 2.
2. Randall D., Fenner, J., Gillott, R. Broek R., Strik C., Spencer P., Dev Bardhan K.A. Novel Diagnostic Aid for Detection of Intra-Abdominal Adhesions to the Anterior Abdominal Wall Using Dynamic Magnetic Resonance Imaging // *Gastroenterology Research and Practice*. 2016; 2523768. ISSN 1687-6121. Doi.10.1155/2016/2523768.
3. Awonuga A.O., Fletcher N.M., Saed G.M., Diamond M.P. Postoperative Adhesion Development Following Cesarean and Open Intra-Abdominal Gynecological Operations A Review // *Reproductive Sciences*. 2011; 18 (12): 1166–1185.
4. Li Y., Ma X., Yu P., Wang S. Intra-articular adhesion reduction after knee surgery in rabbits by calcium channel blockers // *Medical Science Monitor*. 2014; 20: 2466–2471.

5. Li Z., Jin Z. Comparative effect and safety of verapamil in keloid and hypertrophic scar treatment: a meta-analysis // *Ther Clin Risk Manag.* 2016; 12: 1635–1641. Doi: 10.2147/TCRM.S118748 PMID: PMC5108599.
6. Wang Z., Wang Y., Xie P., Liu W., Zhang S. Calcium channel blockers in reduction of epidural fibrosis and dural adhesions in laminectomy rats // *European Journal of Orthopaedic Surgery & Traumatology.* 2014; 24 (1): 293–298. Doi:10.1007/s00590-013-1395-7.

Поступила в редакцию 07.04.2017

Утверждена к печати 30.06.2017

Скальский Сергей Викторович, канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии, ОмГМУ, г. Омск.

Соколова Татьяна Федоровна, д-р мед. наук, ассистент, кафедра фармакологии с курсом клинической фармакологии, ОмГМУ, г. Омск.

Сычев Дмитрий Алексеевич, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой клинической фармакологии и терапии, РМАНПО, г. Москва.

Турок Надежда Ефимовна, канд. биол. наук, ст. лаборант, кафедра фармакологии с курсом клинической фармакологии, ОмГМУ, г. Омск.

(✉) Скальский Сергей Викторович, e-mail: sergscalskiy@mail.ru.

УДК 616.381-002-021.4-085.22-007.274

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-119–126

For citation: Skalskiy S.V., Sokolova T.F., Sychev D.A., Turok N.E. Effect of Verapamil on the formation of adhesions in aseptic peritonitis. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2017; 16 (3): 119–126

Effect of Verapamil on the formation of adhesions in aseptic peritonitis

Skalskiy S.V.¹, Sokolova T.F.¹, Sychev D.A.², Turok N.E.¹

¹ Omsk State Medical University

12, Lenina Str., Omsk, 644099, Russian Federation

² Russian Medical Academy of Postgraduated Education Study

2/1, Barrikadnaya Str., Moscow, 123995, Russian Federation

ABSTRACT

Objective. An experimental study of verapamil new properties, such as the regulation of the connective tissue formation.

Materials and methods. The study was conducted in an aseptic inflammation of the peritoneum both on the body and cell culture in simulating haemoperitoneum in rats. The optimal dose (0,1 mg/kg body weight) for intraperitoneal verapamil administration was fixed, which did not provoke significant and reliable changes in cardio- and hemodynamics.

Results. It was revealed that verapamil injected intraperitoneally at a dose of 0,1 mg/kg demonstrates a pronounced pharmacological effect against excessive production of the connective tissue in hemoperitoneum.

Conclusion. It was proved (in vivo and in vitro) the possibility of drug-induced modulating of the proliferative drug and collagen-producing fibroblast functions by regulating the calcium metabolism in these cells with verapamil.

Key words: Verapamil, hemoperitoneum, fibroblasts, hydroxyproline.

Received April 04.2017

Accepted June 30.2017

Skalskiy Sergey V., PhD, Associate Professor, Head of the Department of Pharmacology including Clinical Pharmacology Course, Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation.

Sokolova Tatyana F., DM, Professor, Department of Pharmacology including Clinical Pharmacology Course, Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation.

Sychev Dmitriy A., DM, Professor, Head of the Department of Clinical Pharmacology, Russian Medical Academy of Postgraduated Education Study, Moscow, Russian Federation.

Turok Nadezhda E., PhD, Assistant, Department of Pharmacology including Clinical Pharmacology Course, Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation.

(✉) **Skalskiy Sergey V.**, e-mail: sergscalskiy@mail.ru.

УДК 616.12-008-085.33-06

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-127-136

Для цитирования: Тепляков А.Т., Шилов С.Н., Попова А.А., Гракова Е.В., Березикова Е.Н., Неупокоева М.Н., Молоков А.В., Копьева К.В., Калюжин В.В. Состояние сердечно-сосудистой системы у больных с антрациклиновой кардиомиопатией. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 127–136

Состояние сердечно-сосудистой системы у больных с антрациклиновой кардиомиопатией

Тепляков А.Т.¹, Шилов С.Н.², Попова А.А.², Гракова Е.В.¹, Березикова Е.Н.²,
Неупокоева М.Н.², Молоков А.В.², Копьева К.В.¹, Калюжин В.В.³

¹ Научно-исследовательский институт кардиологии (НИИ кардиологии) Томского национального исследовательского медицинского центра (НИМЦ) Российской академии наук (РАН)
Россия, 634012, Томск, ул. Киевская, 111а

² Новосибирский государственный медицинский университет (НГМУ)
Россия, 630091, Новосибирск, Красный пр., 52

³ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, Томск, Московский тракт, 2

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучение частоты развития ранних и поздних кардиотоксических эффектов у женщин, получающих антрациклиновые антибиотики в составе схем химиотерапевтического лечения рака молочной железы, а также связи антрациклиновой кардиомиопатии с дисфункцией эндотелия и воспалением.

Материал и методы. В 12-месячное когортное исследование включены 148 женщин с раком молочной железы, получавших антрациклиновые антибиотики в составе схем химиотерапевтического лечения. Эхокардиография и ультразвуковое исследование плечевой артерии выполнялись у всех больных до начала курса химиотерапии, после 1-го курса терапии, включавшей антрациклины, и через год после включения в исследование. По итогам обследования пациентки были разделены на две группы: 1-я группа – 34 больных с развитием дисфункции сердца первого типа, связанной с противоопухолевой химиотерапией, 2-я группа – 114 пациенток с сохраненной фракцией выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ). В сыворотке крови после окончания противоопухолевой полихимиотерапии определяли содержание провоспалительных цитокинов (фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) и интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β)) методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Результаты. К концу первого года комбинированного лечения, включавшего антрациклины, у 23% больных раком молочной железы обнаружили депрессию глобальной систолической функции левого желудочка (снижение ФВ на 10% и более от исходного уровня), которая ассоциировалась с изменением его геометрии (увеличение полости и уменьшение относительной толщины стенок). Динамика структурно-функциональных параметров ЛЖ была связана с суммарной дозой доксорубицина и ассоциировалась со снижением прироста диаметра плечевой артерии в пробе с реактивной гиперемией, с одной стороны, а также с увеличением концентрации в сыворотке крови провоспалительных цитокинов (ФНО- α и ИЛ-1 β) – с другой.

Выводы. Частота развития поздней дисфункции сердца первого типа, связанной с противоопухолевой химиотерапией рака молочной железы, составляет 23%. Кардиоваскулярные повреждения, возникшие

при химиотерапии антрациклинами, носят дозозависимый характер и сопровождаются развитием вазомоторной дисфункции эндотелия плечевой артерии. Профицит провоспалительных цитокинов (ФНО- α и ИЛ-1 β) в сыворотке крови пациенток, у которых в отделенном периоде противоопухолевой химиотерапии развилась депрессия глобальной систолической функции левого желудочка, по-видимому, отражает роль системной воспалительной реакции в механизмах развития антрациклиновой кардиомиопатии.

Ключевые слова: антрациклины, химиотерапия, кардиотоксичность, кардиомиопатия.

ВВЕДЕНИЕ

Данные государственной статистической отчетности свидетельствуют о неуклонном увеличении заболеваемости злокачественными новообразованиями в России [1]. При этом рак молочной железы (РМЖ) является самым распространенным онкологическим заболеванием у женщин, представляя собой серьезную проблему для системы здравоохранения. Поэтому эффективное лечение РМЖ находится в числе приоритетных социально значимых проблем общества.

Противоопухолевая химиотерапия наряду с хирургической и лучевой терапией является важнейшим компонентом лечения РМЖ, позволяющая добиться полного излечения и значительно снизить смертность больных. Препараты антрациклинового ряда (доксорубицин, эпирубицин, рубомицин и др.) наиболее эффективны для лечения РМЖ и входят в большинство стандартных схем химиотерапевтического воздействия на клетки опухоли [2]. Вместе с тем широкое клиническое использование антрациклинов лимитируется их кумулятивным и дозозависимым кардиотоксическим действием, которое может привести как к бессимптомной систолической дисфункции левого желудочка, так и к манифестной сердечной недостаточности (СН), сопровождающихся снижением качества жизни и крайне неблагоприятным прогнозом с высокой отдаленной летальностью [3, 4]. Антрациклиновая кардиотоксичность проявляется весьма разнообразными симптомами: от относительно безопасных аритмий сердца до потенциально опасных состояний (внезапная остановка сердца, фатальный и нефатальный инфаркт миокарда, кардиомиопатия, СН, резистентная к медикаментозной терапии). Последние варьируют в зависимости от цитостатического агента, кумулятивной дозы, используемого режима, а также возраста пациента, наличия сопутствующего метаболического синдрома и ожирения, артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца и другой коморбидной патологии [5–8].

Многие исследователи признают важность раннего выявления химиотерапевтической кар-

диотоксичности, поскольку кардиомиопатия, вызванная приемом антрациклинов, ассоциируется с худшим прогнозом по сравнению с кардиомиопатиями другой этиологии [5, 6, 9–11]. Раннее выявление кардиотоксического действия химиопрепаратов представляется исключительно важным с практической точки зрения, так как позволяет своевременно менять дозировку и (или) скорость введения препарата, использовать цитостатические агенты, сопоставимые по эффективности, но менее токсичные, применять не только новые комбинации лекарственной терапии, но и успешно использовать новые технические средства, облегчающие состояние пациентов в критических ситуациях, например, искусственный левый желудочек, сердечную ресинхронизирующую терапию, имплантируемые кардиовертеры-дефибрилляторы для предотвращения внезапной сердечной смерти [12].

В связи с трудностями ранней диагностики кардиотоксичности применяются и изучаются различные методы оценки состояния сердца. На сегодняшний день диагностика антрациклиновой кардиомиопатии основана на серийном определении значения фракции выброса (ФВ) левого желудочка (ЛЖ) по данным эхокардиографии (ЭхоКГ) [5, 13]. При этом не до конца определено значение вариабельности ФВ ЛЖ во время химиотерапии и после завершения таковой для долгосрочного прогноза.

В качестве возможного механизма кардиотоксичности химиотерапии была предложена гипотеза, обосновывающая повышенный выброс Ca^{2+} из эндоплазматического ретикула кардиомиоцитов с избыточной продукцией свободных радикалов и локальным высвобождением провоспалительных цитокинов из макрофагов, индуцирующих апоптоз кардиомиоцитов. Существует ряд других гипотез антрациклиновой кардиотоксичности [14–16]. Особое внимание уделяется механизмам кардиоваскулярных повреждений, которые ассоциированы с дисфункцией эндотелия. Об этом косвенно свидетельствуют установленные корреляционные связи между ростом экспрессии биомаркеров эндотелиальной дисфункции и сни-

жением сократительной способности миокарда [17]. Отмеченные выше ожидающие своего решения вопросы механизмов развития, точной ранней диагностики, а также первичной и вторичной профилактики антрациклиновой кардиомиопатии диктуют необходимость дальнейших углубленных исследований в этом направлении.

Целью исследования являлось изучение частоты развития ранних и поздних кардиотоксических эффектов у женщин, получающих антрациклиновые антибиотики в составе схем химиотерапевтического лечения рака молочной железы, а также связи антрациклиновой кардиомиопатии с дисфункцией эндотелия и воспалением.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В 12-месячное когортное исследование включены 148 женщин с РМЖ, получавших антрациклиновые антибиотики в составе схем химиотерапевтического лечения. Пациентки, участвовавшие в данном исследовании, не имели доказанной патологии со стороны сердечно-сосудистой системы до начала противоопухолевого лечения. Отсутствие кардиологической патологии подтверждалось данными анамнеза, а также электрокардиографии и ЭхоКГ.

До включения в исследование у всех пациентов было получено письменное информированное согласие на участие в исследовании. На каждого больного заполнялась соответствующая клиническая карта. Наличие любого из нижеперечисленных заболеваний служило критерием исключения из исследования: ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, пороки сердца и кардиомиопатии любой этиологии, предшествующие онкологическому заболеванию.

Всем больным до начала курса химиотерапии, в ходе лечения антрациклинами и через 12 мес терапии таковыми проводилось исследование ЭхоКГ-показателей и функции эндотелия. После 1-го курса полихимиотерапии (ПХТ) оценивались клинические признаки развития острой кардиотоксичности (развитие транзиторной дисфункции левого желудочка, наджелудочковой аритмии, неспецифических изменений при электрокардиографии, симптомов СН). В сыворотке крови через 12 мес после окончания противоопухолевой полихимиотерапии определяли концентрации провоспалительных цитокинов – фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) и интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β) методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Функцию эндотелия оценивали по методике D.S. Celermajer и соавт. [18]: диаметр плече-

вой артерии измеряли в состоянии покоя, после декомпрессии (эндотелийзависимая дилатация (ЭЗД)) и после приема нитроглицерина для сублингвального применения (эндотелийнезависимая дилатация (ЭНЗД)). Нормальной реакцией плечевой артерии считали ее расширение на фоне реактивной гиперемии на 10% и более от исходного диаметра. Меньшая степень вазодилатации или вазоконстрикции считалась патологической реакцией.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета статистических программ Statistica v. 7.0 (StatSoft, Inc., США). Статистический анализ результатов работы предварялся проверкой непрерывных переменных на нормальность распределения с помощью графического представления выборок на фоне кривой Гаусса, а также критерия Шапиро – Уилка. Количественные непрерывные данные представлены в виде средней и стандартного отклонения $M \pm SD$. Проверку гипотезы о равенстве дисперсий осуществляли с помощью теста Левена. В связи с тем, что в большинстве случаев гипотеза о равенстве дисперсий была отвергнута ($p < 0,05$), статистическую значимость различий между независимыми количественными переменными оценивали с помощью U-критерия Манна – Уитни. Для повторных измерений применяли непараметрический дисперсионный (ANOVA) анализ Фридмана с апостериорным (post-hoc) анализом, при котором использовали критерий Вилкоксона с поправкой Бонферрони. Для проведения корреляционного анализа был использован коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По итогам наблюдения пациенты были разделены на две группы. Первая группа – 34 больных (23% из всех включенных в исследование женщин с РМЖ, получавших терапию антрациклинами) с развитием дисфункции сердца первого типа, связанной с противоопухолевой химиотерапией (диагностирована в соответствии с рекомендациями Американского эхокардиографического общества и Европейской ассоциации сердечно-сосудистой визуализации [12]). Вторая группа – 114 пациенток (77%) с сохраненной ФВ ЛЖ.

После первого курса ПХТ изучаемые ЭхоКГ-показатели не претерпевали статистически значимых изменений ни в одной группе пациентов, что не позволяет обсуждать острую

кардиотоксичность противоопухолевой химиотерапии. Что касается хронической кардиотоксичности у пациентов 1-й группы, то, как и следовало ожидать, депрессия глобальной систолической

функции левого желудочка ассоциировалась с изменением его геометрии, которое характеризовалось увеличением полости и уменьшением относительной толщины стенок (табл. 1).

Т а б л и ц а 1

Динамика ЭхоКГ-показателей в исследованных группах, $M \pm SD$						
Показатель	Исходно		После 1-го курса ПХТ		Через 12 мес после завершения ПХТ	
	Группа 1	Группа 2	Группа 1	Группа 2	Группа 1	Группа 2
КДР, мм	43,3 $\pm$ 1,17	42,5 $\pm$ 0,98	43,8 $\pm$ 1,48	42,3 $\pm$ 1,37	48,4 $\pm$ 1,42*	43 $\pm$ 1,12
КСР, мм	29,2 $\pm$ 0,87	29,4 $\pm$ 1,50	29 $\pm$ 1,21	29,2 $\pm$ 1,50	35,4 $\pm$ 1,65*	29,7 $\pm$ 1,34
ЛП, мм	31,3 $\pm$ 1,19	29,8 $\pm$ 0,91	31,2 $\pm$ 1,58	29,7 $\pm$ 1,23	32,0 $\pm$ 1,21	29,5 $\pm$ 1,05
МЖП, мм	9,2 $\pm$ 0,23	9,0 $\pm$ 0,50	9,2 $\pm$ 0,29	9,0 $\pm$ 0,35	9,4 $\pm$ 0,21	9,1 $\pm$ 0,46
ЗСЛЖ, мм	9,4 $\pm$ 0,14	9,3 $\pm$ 0,36	9,4 $\pm$ 0,18	9,3 $\pm$ 0,20	9,7 $\pm$ 0,24	9,3 $\pm$ 0,19
ФВ ЛЖ, %	67,8 $\pm$ 2,17	68,2 $\pm$ 3,93	65,4 $\pm$ 2,30	67,6 $\pm$ 3,05	58,8 $\pm$ 2,43*	67,5 $\pm$ 3,61

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 2: КДР – конечный диастолический размер, КСР – конечный систолический размер, ЛП – левое предсердие, МЖП – межжелудочковая перегородка, ЗСЛЖ – задняя стенка левого желудочка. * различие с исходным значением показателя статистически значимо ($p < 0,025$).

Результаты корреляционного анализа указывают на то, что хронический кардиотоксический эффект доксорубина носит дозозависимый характер (табл. 2).

Т а б л и ц а 2

Корреляционная взаимосвязь ЭхоКГ-показателей с суммарной дозой доксорубина		
Показатель	Суммарная доза доксорубина	
	r	p
КДР	0,19	0,031
КСР	0,17	0,041
ФВ ЛЖ	-0,32	0,01
ЛП	0,04	0,18
МЖП	0,06	0,12
ЗСЛЖ	0,09	0,07

П р и м е ч а н и е. p – статистическая значимость коэффициента корреляции.

К концу исследования у пациентов с антрациклиновой кардиомиопатией отмечено изменение тонуса плечевой артерии, а также развитие депрессии функционального сосудистого резерва (табл. 3). Так, прирост диаметра плечевой артерии в пробе с реактивной гиперемией у больных 1-й группы составил 7,3%, что на 39,6% меньше данного показателя во 2-й группе. Прирост диаметра плечевой артерии в пробе с нитроглицерином в группе пациентов с развившейся патологией сердца составил 14,3%, что было на 25,5% меньше данного показателя во 2-й группе.

Известно, что функция эндотелия нарушается при различных патологических процессах, сопровождающихся нарушением метаболизма, а также цитокиновой агрессией.

Т а б л и ц а 3

Динамика показателей состояния вазодилатации плечевой артерии, $M \pm SD$				
Показатель	Исходно		Через 12 мес после завершения ПХТ	
	Группа 1	Группа 2	Группа 1	Группа 2
Диаметр ПА, мм	4,9 $\pm$ 0,4	4,9 $\pm$ 0,3	3,6 $\pm$ 0,1*#	4,7 $\pm$ 0,1
ЭЗД, %	12,2 $\pm$ 0,5	12,8 $\pm$ 0,7	7,3 $\pm$ 0,3*#	12,1 $\pm$ 0,5
ЭНЗД, %	20,1 $\pm$ 0,7	20,3 $\pm$ 0,6	14,3 $\pm$ 0,3*#	19,2 $\pm$ 0,8

П р и м е ч а н и е. ПА – плечевая артерия. * статистическая значимость различий с исходным значением показателя ($p < 0,05$), # статистическая значимость различий со значением показателя во 2-й группе ($p < 0,05$).

При этом депрессия образования оксида азота негативно сказывается не только на функциональном состоянии сосудов, но и сердца. В сердце оксид азота, выделяемый эндотелиальными клетками, через повышение внутриклеточной концентрации цГМФ обеспечивает контрактильную функцию миокарда, усиливая релаксацию желудочков и увеличивая диастолическую растя-

жимость [19–20]. Показано, что оксид азота, который образуется внутри кардиомиоцитов, является чрезвычайно важным в осуществлении β -адренергического инотропного и хронотропного ответов [21–22].

При сравнительном анализе уровней ФНО- α и ИЛ-1 β в сыворотке крови установлено, что концентрация обоих провоспалительных цитокинов

у пациенток 1-й группы оказалась статистически значимо выше (на 50,0% и 46,6% соответственно), чем у больных 2-й группы (табл. 4).

Т а б л и ц а 4

Концентрация провоспалительных цитокинов в сыворотке крови у пациенток 1- и 2-й групп через 12 мес после начала ПХТ, $M \pm SD$			
Показатель	Группа 1	Группа 2	p
ФНО- α , пг/мл	$4,8 \pm 0,4$	$2,4 \pm 0,1$	0,0153
ИЛ-1 β , пг/мл	$14,3 \pm 0,5$	$7,6 \pm 0,3$	0,0019

По-видимому, профицит провоспалительных цитокинов (ФНО- α и ИЛ-1 β) отражает роль системной воспалительной реакции в механизмах развития антрациклиновой кардиомиопатии. Уровень цитокиновой агрессии не только подтверждает воспалительный механизм развития антрациклиновой кардиомиопатии, но и отражает активность воспалительной реакции по мере прогрессирования заболевания. Полученные данные позволяют отнести ФНО- α и ИЛ-1 β к важным биомаркерам развития антрациклиновой кардиомиопатии. Однако роль данных цитокинов в качестве предикторов риска развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий при ПХТ рака молочной железы у женщин, на наш взгляд, еще окончательно не определена.

С учетом полученных данных в качестве средств первичной и вторичной профилактики антрациклиновой кардиомиопатии теоретически обосновано применение препаратов, способных предупредить развитие патологического ремоделирования левого желудочка, увеличить функциональный сосудистый резерв, а также снизить уровень цитокиновой агрессии. В частности для этой цели подходит неселективный β -адреноблокатор карведилол, который помимо нейрогуморальной разгрузки сердца позволяет достигнуть вазодилатирующего эффекта и оказывает модулирующее влияние на систему активацию цитокинов и окислительный стресс [23–25]. В ряде пилотных исследований карведилол продемонстрировал эффективность у больных, получающих противоопухолевые антибиотики антрациклинового ряда [26–27].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Частота развития поздней дисфункции сердца первого типа, связанной с противоопухолевой химиотерапией рака молочной железы, составляет 23%. Кардиоваскулярные повреждения, возникшие при химиотерапии антрациклинами, носят дозозависимый характер и сопровождаются развитием вазомоторной дисфункции эндотелия

плечевой артерии. Профицит провоспалительных цитокинов (ФНО- α и ИЛ-1 β) в сыворотке крови пациенток, у которых в отделенном периоде противоопухолевой химиотерапии развилась депрессия глобальной систолической функции левого желудочка, по-видимому, отражает роль системной воспалительной реакции в механизмах развития антрациклиновой кардиомиопатии.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ И ВКЛАД АВТОРОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи, и сообщают о вкладе авторов. Тепляков А.Т. – разработка концепции и дизайна, обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Шилов С.Н. – разработка концепции и дизайна, обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Попова А.А. – разработка концепции и дизайна, обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Гракова Е.В. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Березикова Е.Н. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Неупокоева М.Н., Молоков А.В., Копьева К.В. – сбор, анализ и интерпретация данных. Калюжин В.В. – проверка критически важного содержания.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование одобрено этическим комитетом по биомедицинской этике НИИ кардиологии Томского НИМЦ РАН (протокол № 143 от 16.03.2016 г.).

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017: 250.

2. O'Shaughnessy J., Twelves C., Aapro M. Treatment for anthracycline pretreated metastatic breast cancer // *Oncologist*. 2002; 7 (Suppl. 6): 4–12. DOI: 10.1634/theoncologist.7-suppl_6-4.
3. Hershman D.L., McBride R.B., Eisenberger A., Tsai W.Y., Grann V.R., Jacobson J.S. Doxorubicin, cardiac risk factors, and cardiac toxicity in elderly patients with diffuse B-cell non-Hodgkin's lymphoma // *Clinical Oncology*. 2008; 26: 3159–3165. DOI: 10.1200/JCO.2007.14.1242.
4. Cardinale D., Colombo A., Lamantia G., Colombo N., Civelli M., De Giacomi G., Rubino M., Veglia F., Fiorentini C., Cipolla C.M. Anthracycline-induced cardiomyopathy: clinical relevance and response to pharmacologic therapy // *Journal of the American College of Cardiology*. 2010; 55: 213–220. doi: 10.1016/j.jacc.2009.03.095.
5. Овчинников А.Г., Вицня М.В., Агеев Ф.Т. Роль кардиолога в ведении больных, получающих антрациклины. Раннее выявление и профилактика антрациклиновой кардиомиопатии // *Журнал Сердечная недостаточность*. 2015; 16 (6): 396–404. DOI: 10.18087/rhjf.2015.6.2159.
6. Васюк А.Ю., Школьник Е.А., Несветов В.В., Школьник А.А., Селезнева М.Г. Кардиоонкология: современные аспекты диагностики сердечно-сосудистых осложнений при противоопухолевой терапии // *Журнал Сердечная недостаточность*. 2016; 17 (6): 383–387. doi: 10.18087/rhjf.2016.6.2327.
7. Ewer M.S., Ewer S.M. Cardiotoxicity of anticancer treatments // *Nature Reviews Cardiology*. 2015; 12: 620. DOI: 10.1038/nrcardio.2010.121
8. Suter T.M., Ewer M.S. Cancer drugs and the heart: importance and management // *European Heart Journal*. 2013; 34: 1102–1111. DOI: 10.1093/eurheartj/ehs181.
9. Ganame J., Claus P., Eyskens B., Uyttebroeck A., Renard M., D'hooge J., Gewillig M., Bijnsens B., Sutherland G.R., Mertens L. Acute cardiac functional and morphological changes after Anthracycline infusions in children // *American Journal of Cardiology*. 2007; 99 (7): 974–977. DOI: 10.1016/j.amjcard.2006.10.063
10. Cardinale D., Colombo A., Bacchiani G., Tedeschi I., Meroni C.A., Veglia F., Civelli M., Lamantia G., Colombo N., Curigliano G., Fiorentini C., Cipolla C.M. Early detection of anthracycline cardiotoxicity and improvement with heart failure therapy // *Circulation*. 2015; 131 (22): 1981–1988. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013777.
11. Albin A., Pennesi G., Donatelli F., Cammarota R., De Flora S., Noonan D.M. Cardiotoxicity of anticancer drugs: the need for cardio-oncology and cardio-oncological prevention // *Journal of the National Cancer Institute*. 2010; 102: 14–25. DOI: 10.1093/jnci/djp440.
12. Plana J.C., Galderisi M., Barac A., Ewer M.S., Ky B., Scherrer-Crosbie M., Ganame J., Sebag I.A., Agler D.A., Badano L.P., Banchs J., Cardinale D., Carver J., Cerqueira M., DeCara J.M., Edvardsen T., Flamm S.D., Force T., Griffin B.P., Jerusalem G., Liu J.E., Magalhaes A., Marwick T., Sanchez L.Y., Sicari R., Villarraga H.R., Lancellotti P. Expert consensus for multimodality imaging evaluation of adult patients during and after cancer therapy: a report from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging // *European Heart Journal – Cardiovascular Imaging*. 2014; 15: 1063–1093. DOI: 10.1016/j.echo.2014.07.012.
13. Селиверстова Д.В., Евсина О.В. Кардиотоксичность химиотерапии // *Сердце: журнал для практикующих врачей*. 2016; 15 (1): 50–57. DOI: 10.18087/rhjf.2016.1.2115.
14. Lim C.C., Zuppinger C., Guo X., Kuster G.M., Helmes M., Eppenberger H.M., Suter T.M., Liao R., Sawyer D.B. Anthracyclines induce calpain-dependent titin proteolysis and necrosis in cardiomyocytes // *The Journal of Biological Chemistry*. 2004; 279: 8290–8299. DOI: 10.1074/jbc.M308033200.
15. Zhang S., Liu X., Bawa-Khalife T., Lu L.S., Lyu Y.L., Liu L.F., Yeh E.T. Identification of the molecular basis of doxorubicin-induced cardiotoxicity // *Nature Medicine*. 2012; 18: 1639–1642. DOI:10.1038/nm.2919.
16. Sawyer D.B., Peng X., Chen B., Pentassuglia L., Lim C.C. Mechanisms of anthracycline cardiac injury: can we identify strategies for cardioprotection? // *Progress in Cardiovascular Diseases*. 2010; 53: 105–113. doi: 10.1016/j.pcad.2010.06.007.
17. Радюкова И.М., Нечаева Г.И., Кореннова О.Ю., Друк И.В., Меркулов В.Н., Качур И.Г., Цыганков И.В., Гальцова А.Г. Эндотелиальная дисфункция как патогенетический фактор повреждения внутренних органов при полихимиотерапии рака молочной // *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2012; 27 (1): 85–89.
18. Celermajer D.S., Sorensen K.E., Gooch V.M., Spiegelhalter D.J., Miller O.I., Sullivan I.D., Lloyd J.K., Deanfield J.E. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis // *Lancet*. 1992; 340: 1111–1115. doi: 10.1016/0140-6736(92)93147-F.
19. Cotton J.M., Kearney M.T., Shah A.M. Nitric oxide and myocardial function in heart failure: friend or foe? // *Heart*. 2002; 88 (6): 564–566.
20. Von Haehling S., Anker S.D., Bassenge E. Statins and the role of nitric oxide in chronic heart // *Heart Failure Reviews*. 2003; 8 (1): 99–106. DOI: 10.1023/A:1022103222857.
21. Gealekman O., Abassi Z., Rubinstein I., Winaver J., Binah O. Role of myocardial inducible nitric oxide synthase in contractile dysfunction and beta-adrenergic hyporesponsiveness in rats with experimental volume-overload heart failure // *Circulation*. 2002; 15 (2): 236–243. DOI: 10.1161/hc0202.102015.
22. Paolocci N., Katori T., Champion H.C. Positive inotropic and lusitropic effects of HNO/NO- in failing hearts: independence from beta-adrenergic signaling // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2003; 100 (9): 5537–5542. DOI: 10.1073/pnas.0937302100.
23. Тепляков А.Т., Дибиров М.М., Болотская А.А., Степачева Т.А., Пушникова Е.Ю., Караман Н.В., Малахов

- вич Е.В., Мамчур С.Е. Модулирующее влияние карведилола на активацию цитокинов и регресс сердечной недостаточности у больных с постинфарктной дисфункцией сердца // *Кардиология*. 2004; 44 (9): 50–57.
24. Тепляков А.Т., Попов С.В., Калюжин В.В., Гарганеева А.А., Курлов И.О., Нилогов В.Л., Рыбальченко Е.В., Шилов С.И. Оценка влияния карведилола, атенолола и их комбинации с фозиноприлом на вариабельность ритма сердца, клинико-функциональный статус и качество жизни больных с постинфарктной дисфункцией левого желудочка // *Терапевтический архив*. 2004; 76 (9): 62–65.
25. Spallarossa P., Garibaldi S., Altieri P., Fabbi P., Manca V., Nasti S., Rossettin P., Ghigliotti G., Ballestrero A., Patrone F., Barsotti A., Brunelli C. Carvedilol prevents doxorubicin-induced free radical release and apoptosis in cardiomyocytes in vitro // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2004; 37: 837–846. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2004.05.024.
26. Kalay N., Basar E., Ozdogru I., Er O., Cetinkaya Y., Dogan A., Inanc T., Oguzhan A., Eryol N.K., Topsakal R., Ergin A. Protective effects of carvedilol against anthracycline-induced cardiomyopathy // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006; 48 (11): 2258–2262. DOI: 10.1016/j.jacc.2006.07.052.
27. Bosch X., Rovira M., Sitges M., Domenech A., Ortiz-Perez J.T., de Caralt T.M., Morales-Ruiz M., Perea R.J., Monzo M., Esteve J. Enalapril and carvedilol for preventing chemotherapy-induced left ventricular systolic dysfunction in patients with malignant hemopathies: the OVERCOME trial (prevention of left ventricular dysfunction with enalapril and carvedilol in patients submitted to intensive chemotherapy for the treatment of malignant hemopathies) // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2013; 61: 2355–2362. DOI: 10.1016/j.jacc.2013.02.072.
28. Elitok A., Oz F., Cizgici A.Y., Kilic L., Ciftci R., Sen F., Bugra Z., Mercanoglu F., Oncul A., Oflaz H. Effect of carvedilol on silent anthracycline-induced cardiotoxicity assessed by strain imaging: A prospective randomized controlled study with 6-month follow-up // *Cardiol. J.* 2014; 21: 509–515. DOI: 10.5603/CJ.a2013.0150/
29. Zhang J., Cui X., Yan Y., Li M., Yang Y., Wang J., Zhang J. Research progress of cardioprotective agents for prevention of anthracycline cardiotoxicity // *Am. J. Transl. Res.* 2016; 8 (7): 2862–2875.

Поступила в редакцию 14.04.2017

Утверждена к печати 30.06.2017

Тепляков Александр Трофимович, д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения сердечной недостаточности НИИ кардиологии Томского НИМЦ РАН, г. Томск. ORCID iD 0000-0003-0721-0038.

Шилов Сергей Николаевич, д-р мед. наук, доцент кафедры патологической физиологии и клинической патофизиологии НГМУ, г. Новосибирск. ORCID iD 0000-0002-7777-6419.

Попова Анна Александровна, д-р мед. наук, зав. кафедрой поликлинической терапии и общей врачебной практики, НГМУ, г. Новосибирск. ORCID iD 0000-0003-2645-162X.

Гракова Елена Викторовна, д-р мед. наук, ст. науч. сотрудник, отделение сердечной недостаточности, НИИ кардиологии Томского НИМЦ РАН, г. Томск. ORCID iD 0000-0003-4019-3735.

Березикова Екатерина Николаевна, д-р мед. наук, доцент кафедры поликлинической терапии и общей врачебной практики, НГМУ, г. Новосибирск. ORCID iD 0000-0002-9630-0213.

Неупокоева Мария Николаевна, ассистент, кафедра поликлинической терапии и общей врачебной практики, НГМУ, г. Новосибирск. ORCID iD 0000-0003-3102-8156.

Молоков Алексей Валентинович, ассистент, кафедра поликлинической терапии и общей врачебной практики, НГМУ, г. Новосибирск. ORCID iD 0000-0001-8718-2801.

Копьева Кристина Васильевна, аспирант, отделение сердечной недостаточности, НИИ кардиологии Томского НИМЦ РАН, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-2285-6438.

Калюжин Вадим Витальевич, д-р мед. наук, профессор, и.о. зав. кафедрой госпитальной терапии с курсом физической реабилитации и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-9640-2028.

(✉) Шилов Сергей Николаевич, e-mail: newsib54@gmail.com.

УДК 616.12-008-085.33-06

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-127-136

For citation: Teplyakov A.T., Shilov S.N., Popova A.A., Grakova E.V., Berezikova E.N., Neupokoeva M.N., Molokov A.V., Kopeva K.V., Kalyuzhin V.V. The cardiovascular system in patients with anthracycline cardiomyopathy. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 127–136

The cardiovascular system in patients with anthracycline cardiomyopathy

Teplyakov A.T.¹, Shilov S.N.², Popova A.A.², Grakova E.V.¹, Berezikova E.N.²,
Neupokoeva M.N.², Molokov A.V.², Kopeva K.V.¹, Kalyuzhin V.V.³

¹ Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMCC), Russian Academy of Science (RAS) 111A, Kievskaya Str., Tomsk, 634012, Russian Federation

² *Novosibirsk State Medical University
52, Krasnyi Av., Novosibirsk, 630091, Russian Federation*

³ *Siberian State Medical University
2, Moskow Trakt, 634055, Tomsk, Russian Federation*

ABSTRACT

Aim. The purpose of this study was to examine the incidence of early and late cardiotoxicity in women receiving anthracycline antibiotics during breast cancer chemotherapy treatment as well as possible links of anthracycline-induced cardiomyopathy with endothelial dysfunction and inflammation.

Materials and methods. A 12-month cohort study included 148 women with breast cancer who received anthracycline antibiotics as a part of chemotherapy regimens. Echocardiography and ultrasound examination of the brachial artery were performed in all patients before chemotherapy, after the first round of therapy, and one year after inclusion in the study. Patients were divided into two groups based on the results of a preliminary examination. Group 1 consisted of 34 patients who had developed dysfunction from the 1st type associated with antitumor chemotherapy, and group 2 was comprised of 114 patients with preserved LVEF. Serum concentrations of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β) were determined after the end of antineoplastic chemotherapy by ELISA.

Results. After one year of combined treatment with anthracyclines, 23% of breast cancer patients had a depression of global systolic function in the left ventricle (reduction of the ejection fraction by 10% or more from baseline), which was associated with a change in geometry (an increase in the cavity and a decrease in the relative thickness of the walls). On the one hand, the changes in the structural and functional parameters of the left ventricle were connected with the total dose of doxorubicin and associated with a decrease in the growth of the brachial artery diameter in the reactive hyperemia test. On the other hand, the changes were associated with an increase in serum concentration of proinflammatory cytokines TNF- α and IL-1 β .

Conclusions. The incidence of late dysfunction of the first type associated with antitumor chemotherapy for breast cancer is 23%. Cardiovascular injuries caused by chemotherapy with anthracyclines are dose-dependent and are accompanied by the development of vasomotor dysfunction of the endothelium of the brachial artery. Excess anti-inflammatory cytokines (TNF- α and IL-1 β) in the sera of patients who developed a depression of global left ventricular systolic function in a separated period of antitumor chemotherapy seems to reflect the role of systemic inflammation in the mechanisms of anthracycline-induced cardiomyopathy development.

Key words: anthracyclines, chemotherapy, cardiotoxicity, cardiomyopathy.

REFERENCES

1. Zlokachestvennyye novoobrazovaniya v Rossii v 2015 godu (zabolevaemost' i smertnost') [Malignant neoplasms in Russia in 2015 (morbidity and mortality)] / ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, G.V. Petrova. M.: MNIOI im. P.A. Gercena - filial FGBU «NMIRC» Ministry of Health of Russia Publ., 2017: 250 (in Russian).
2. O'Shaughnessy J., Twelves C., Aapro M. Treatment for anthracyclinepretreated metastatic breast cancer // *Oncologist*. 2002; 7 (Suppl. 6): 4–12. DOI: 10.1634/theoncologist.7-suppl_6-4.
3. Hershman D.L., McBride R.B., Eisenberger A., Tsai W.Y., Grann V.R., Jacobson J.S. Doxorubicin, cardiac risk factors, and cardiac toxicity in elderly patients with diffuse B-cell non-Hodgkin's lymphoma // *Journal of Clinical Oncology*. 2008; 26: 3159–3165. DOI: 10.1200/JCO.2007.14.1242.
4. Cardinale D., Colombo A., Lamantia G., Colombo N., Civelli M., De Giacomi G., Rubino M., Veglia F., Fiorentini C., Cipolla C.M. Anthracycline-induced cardiomyopathy: clinical relevance and response to pharmacologic therapy // *Journal of the American College of Cardiology*. 2010; 55: 213–220. doi: 10.1016/j.jacc.2009.03.095.
5. Ovchinnikov A.G., Vichenja M.V., Ageev F.T. Rol' kardiologa v vedenii bol'nyh, poluchajushih antracikliny. Rannee vyjavlenie i profilaktika antraciklinovoj kardiomiopatii [Role of a cardiologist in management of patients receiving anthracyclines. Early detection and prevention of anthracycline-induced cardiomyopathy] // *Zhurnal Serdechnaja nedostatochnost'*. 2015; 16 (6): 396–404. doi: 10.18087/rhfj.2015.6.2159 (in Russian).
6. Vasjuk A.Ju., Shkol'nik E.L., Nesvetov V.V., Shkol'nik L.D., Selezneva M.G. Kardionkologija: sovremennye aspekty diagnostiki serdechno-sosudistyh oslozhnenij pri pro-

- tivoopuholevoj terapii [Cardio-oncology: Current aspects in diagnostics for cardiovascular complications of antitumor therapy] // *Zhurnal Serdechnaja nedostatochnost'*. 2016; 17 (6): 383–387. doi: 10.18087/rhfj.2016.6.2327 (in Russian).
7. Ewer M.S., Ewer S.M. Cardiotoxicity of anticancer treatments // *Nature Reviews Cardiology*. 2015; 12: 620. doi: 10.1038/nrcardio.2010.121.
 8. Suter T.M., Ewer M.S. Cancer drugs and the heart: importance and management // *European Heart Journal*. 2013; 34: 1102–1111. doi: 10.1093/eurheartj/ehs181.
 9. Ganame J., Claus P., Eyskens B., Uyttebroeck A., Renard M., D'hooge J., Gewillig M., Bijnsens B., Sutherland G.R., Mertens L. Acute cardiac functional and morphological changes after Anthracycline infusions in children // *American Journal of Cardiology*. 2007; 99 (7): 974–977. DOI: 10.1016/j.amjcard.2006.10.063
 10. Cardinale D., Colombo A., Bacchiani G., Tedeschi I., Meroni C.A., Veglia F., Civelli M., Lamantia G., Colombo N., Curigliano G., Fiorentini C., Cipolla C.M. Early detection of anthracycline cardiotoxicity and improvement with heart failure therapy // *Circulation*. 2015; 131 (22): 1981–1988. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013777.
 11. Albin A., Pennesi G., Donatelli F., Cammarota R., De Flora S., Noonan D.M. Cardiotoxicity of anticancer drugs: the need for cardio-oncology and cardio-oncological prevention // *Journal of the National Cancer Institute*. 2010; 102: 14–25. DOI: 10.1093/jnci/djp440.
 12. Plana J.C., Galderisi M., Barac A., Ewer M.S., Ky B., Scherrer-Crosbie M., Ganame J., Sebag I.A., Agler D.A., Badano L.P., Banchs J., Cardinale D., Carver J., Cerqueira M., DeCara J.M., Edvardsen T., Flamm S.D., Force T., Griffin B.P., Jerusalem G., Liu J.E., Magalhaes A., Marwick T., Sanchez L.Y., Sicari R., Villarraga H.R., Lancellotti P. Expert consensus for multimodality imaging evaluation of adult patients during and after cancer therapy: a report from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging // *European Heart Journal – Cardiovascular Imaging*. 2014; 15: 1063–1093. DOI: 10.1016/j.echo.2014.07.012.
 13. Seliverstova D.V., Evsina O.V. Kardiotsichnost' himioterapii [Cardiotoxicity of chemotherapy] // *Serdce: zhurnal dlja praktikujushchih vrachej*. 2016; 15 (1): 50–57. doi: 10.18087/rhj.2016.1.2115 (in Russian).
 14. Lim C.C., Zuppper C., Guo X., Kuster G.M., Helmes M., Eppenberger H.M., Suter T.M., Liao R., Sawyer D.B. Anthracyclines induce calpain-dependent titin proteolysis and necrosis in cardiomyocytes // *The Journal of Biological Chemistry*. 2004; 279: 8290–8299. DOI: 10.1074/jbc.M308033200.
 15. Zhang S., Liu X., Bawa-Khalife T., Lu L.S., Lyu Y.L., Liu L.F., Yeh E.T. Identification of the molecular basis of doxorubicin-induced cardiotoxicity // *Nature Medicine*. 2012; 18: 1639–1642. DOI:10.1038/nm.2919.
 16. Sawyer D.B., Peng X., Chen B., Pentassuglia L., Lim C.C. Mechanisms of anthracycline cardiac injury: can we identify strategies for cardioprotection? // *Progress in Cardiovascular Diseases*. 2010; 53: 105–113. doi: 10.1016/j.pcad.2010.06.007.
 17. Radjukova I.M., Nechaeva G.I., Korennova O.Ju., Druk I.V., Merkulov V.N., Kachur I.G., Cygankov I.V., Gal'cova L.G. Jendotelial'naja disfunkcija kak patogeneticheskij faktor povrezhdenija vnutrennih organov pri polihimioterapii raka molochnoj [Endothelial dysfunction as the pathogenetic factor of internal organ damage in polychemotherapy for the breast cancer] // *Sibirskij medicinskij zhurnal (Irkutsk)* 2012; 27 (1): 85–89 (in Russian).
 18. Celermajer D.S., Sorensen K.E., Gooch V.M., Spiegelhalter D.J., Miller O.I., Sullivan I.D., Lloyd J.K., Deanfield J.E. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis // *Lancet*. 1992; 340: 1111–1115. doi: 10.1016/0140-6736(92)93147-F.
 19. Cotton J.M., Kearney M.T., Shah A.M. Nitric oxide and myocardial function in heart failure: friend or foe? // *Heart*. 2002; 88 (6): 564–566.
 20. Von Haehling S., Anker S.D., Bassenge E. Statins and the role of nitric oxide in chronic heart // *Heart Failure Reviews*. 2003; 8 (1): 99–106. DOI: 10.1023/A:1022103222857.
 21. Gealekman O., Abassi Z., Rubinstein I., Winaver J., Binah O. Role of myocardial inducible nitric oxide synthase in contractile dysfunction and beta-adrenergic hyporesponsiveness in rats with experimental volume-overload heart failure // *Circulation*. 2002; 15 (2): 236–243. DOI: 10.1161/hc0202.102015.
 22. Paolucci N., Katori T., Champion H.C. Positive inotropic and lusitropic effects of HNO/NO- in failing hearts: independence from beta-adrenergic signaling // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2003; 100 (9): 5537–5542. DOI: 10.1073/pnas.0937302100.
 23. Teplyakov A.T., Dibirov M.M., Bolotsky A.A., Stepacheva T.A., Pushnikova E.Yu., Karaman N.V. Malakhovich E.V., Mamchur S.E. Modulirujushhee vlijanie karvedilola na aktivaciju citokinov i regress serdechnoj nedostatochnosti u bol'nyh s postinfarktnoj disfunkciej serdca [Effect of carvedilol on blood levels of cytokines and symptoms of heart failure in patients with postinfarction cardiac dysfunction] // *Kardiologiya*. 2004; 44 (9): 50–57 (in Russian).
 24. Teplyakov A.T., Popov S.V., Kalyuzhin V.V., Garganeva A.A., Kurlov I.O., Nilogov V.L., Rybalchenko E.V., Shilov S.I. Ocenka vlijanija karvedilola, atenolola i ih kombinacii s fozinoprilom na variabel'nost' ritma serdca, kliniko-funkcional'nyj status i kachestvo zhizni bol'nyh s postinfarktnoj disfunkciej levogo zheludochka [Effects of carvedilol, atenolol and their combination with fosinopril on cardiac rhythm variability, clinicofunctional status and quality of life in patients with postinfarction left ventricular dysfunction] // *Terapevticheskiy*

- Arkhiv – Therapeutic Archive*. 2004; 76 (9): 62–65 (in Russian).
25. Spallarossa P., Garibaldi S., Altieri P., Fabbi P., Manca V., Nasti S., Rossettin P., Ghigliotti G., Ballestrero A., Patrone F., Barsotti A., Brunelli C. Carvedilol prevents doxorubicin-induced free radical release and apoptosis in cardiomyocytes in vitro // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2004; 37: 837–846. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2004.05.024
 26. Kalay N., Basar E., Ozdogru I., Er O., Cetinkaya Y., Dogan A., Inanc T., Oguzhan A., Eryol N.K., Topsakal R., Ergin A. Protective effects of carvedilol against anthracycline-induced cardiomyopathy // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2006; 48 (11): 2258–2262. DOI: 10.1016/j.jacc.2006.07.052
 27. Bosch X., Rovira M., Sitges M., Domenech A., Ortiz-Perez J.T., de Caralt T.M., Morales-Ruiz M., Perea R.J., Monzo M., Esteve J. Enalapril and carvedilol for preventing chemotherapy-induced left ventricular systolic dysfunction in patients with malignant hemopathies: the OVERCOME trial (prevention of left ventricular dysfunction with enalapril and carvedilol in patients submitted to intensive chemotherapy for the treatment of malignant hemopathies) // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2013; 61: 2355–2362. DOI: 10.1016/j.jacc.2013.02.072.
 28. Elitok A., Oz F., Cizgici A.Y., Kilic L., Ciftci R., Sen F., Bugra Z., Mercanoglu F., Oncul A., Oflaz H. Effect of carvedilol on silent anthracycline-induced cardiotoxicity assessed by strain imaging: A prospective randomized controlled study with 6-month follow-up // *Cardiol. J.* 2014; 21: 509–515. DOI: 10.5603/CJ.a2013.0150/
 29. Zhang J., Cui X., Yan Y., Li M., Yang Y., Wang J., Zhang J. Research progress of cardioprotective agents for prevention of anthracycline cardiotoxicity // *Am. J. Transl. Res.* 2016; 8 (7): 2862–2875.

Received April 14, 2017

Accepted June 30, 2017

Тепляков Александр Т., DM, Professor, Head of the Department of Heart Failure, Cardiology Research Institute, Tomsk NRMC RAS, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-0721-0038.

Шилов Сергей Н., DM, Assistant Professor, Pathological Physiology and clinical Pathophysiology Department, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-7777-6419.

Попова Анна А., DM, Head of the Polyclinic Therapy and General Medical Practice Department, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation.

Гракова Елена В., DM, Senior Researcher, Department of Heart Failure, Cardiology Research Institute, Tomsk NRMC RAS, Tomsk, Russian Federation.

Березикова Екатерина Н., DM, Associate Professor, Polyclinic Therapy and General Medical Practice Department, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-9630-0213.

Неупокоева Мария Н., Assistant, Polyclinic Therapy and General Medical Practice Department, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-3102-8156.

Молюков Алексей В., Assistant, Polyclinic Therapy and General Medical Practice Department, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-8718-2801.

Копева Кристина В., Postgraduate Student, Department of Heart Failure, Cardiology Research Institute, Tomsk NRMC RAS, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-2285-6438.

Калыужин Вадим В., DM, Head of the Department of Hospital Therapy, Siberian State Medical University, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-9640-2028.

(✉) Shilov Sergey N., e-mail: newsib54@gmail.com.

УДК 618.11-006.2-021.6:577.175.327

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-137-144

Для цитирования: Трус Д.А., Тихоновская О.А., Огороков А.О., Мустафина Л.Р., Тимофеева О.С., Логвинов С.В., Герасимов А.В., Варакута Е.Ю., Потапов А.В., Суханова Г.А., Куценко И.Г. Моделирование функциональных кист яичников путем введения фолликулостимулирующего гормона. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 137–144

Моделирование функциональных кист яичников путем введения фолликулостимулирующего гормона

Трус Д.А., Тихоновская О.А., Огороков А.О., Мустафина Л.Р., Тимофеева О.С.,
Логвинов С.В., Герасимов А.В., Варакута Е.Ю., Потапов А.В., Суханова Г.А., Куценко И.Г.

Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, Томск, Московский тракт, 2

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Изучить морфологические изменения яичников при введении рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона.

Материал и методы. Эксперимент проведен на половозрелых белых самках крыс линии Wistar. Основную группу составили 35 животных с моделью функциональных кист яичников, контрольную – 25 интактных животных. Крысы выводились из эксперимента на 3-и, 7-е, 15-, 30- и 60-е сут. Проведены гистологическое и морфометрическое исследования на депарафинированных срезах яичников, окрашенных гематоксилином и эозином и по Ван Гизону.

Результаты. На 7-е сут введения фолликулостимулирующего гормона наблюдалось максимальное увеличение размеров яичников за счет формирования однокамерных функциональных кист. У животных основной группы отмечалось выраженное снижение количества растущих фолликулов на 7- и 15-е сут. Увеличение количества атретических фолликулов и тел по сравнению с таковым в группе контроля наблюдалось с 7-х сут и продолжалось до 60-х сут эксперимента. На 7-е сут эксперимента отмечались гиперемия и полнокровие сосудов. Количество желтых тел уменьшалось в ходе эксперимента. Отмечалось усиление процессов коллагенообразования, начиная с 15-х сут эксперимента.

Заключение. Введение фолликулостимулирующего гормона в течение 7 сут приводит к нарушению процессов фолликулогенеза, усилению процессов атрезии в яичниках и формированию функциональных кист.

Ключевые слова: моделирование функциональных кист, морфология яичников, функциональные кисты яичников.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время опухолевидные образования яичников считаются полиэтиологическим заболеванием, в их формировании участвует много факторов – воспалительные и аутоиммунные процессы, хирургические вмешательства на органах брюшной полости и малого таза, и, конечно, гормональные нарушения [1–4]. Причем имеет значение не только гипоталамо-гипофизарная недостаточность, или дисфункция, но и гипер-

пролактинемия, нарушение функции щитовидной железы [5].

Вызывают тревогу как увеличение частоты опухолевидных образований в структуре гинекологической патологии [1, 4–6], так и нежелательная хирургическая агрессия с последующим патологическим снижением или потерей овариального резерва, а, следовательно, снижение фертильности и неудачные попытки вспомогательных репродуктивных технологий [2, 5, 7–12]. С одной стороны, это можно объяснить стремлением не пропустить серьезные опухоли яичников,

✉ Трус Дарья Александровна, e-mail: daria.trus.2017@gmail.com.

особенно у женщин позднего репродуктивного периода либо в периоде менопаузального перехода. С другой стороны, вероятность осложненного клинического течения кист яичников, при котором не исключены терминальные состояния (геморрагический, болевой шок), заставляет врача выбрать оперативную тактику [1, 3, 4, 13, 14].

Цель настоящей работы – определить вклад фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) в патогенез формирования фолликулярных кист в различные периоды фолликулогенеза, изучить обратимость в процессе их формирования и оценить состояние овосоматического комплекса при данной патологии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполнен на половозрелых самках крыс линии Wistar массой 180–220 г. Основную группу ($n = 35$) составили животные с моделью функциональных кист яичников. Контролем выступали яичники интактных крыс ($n = 25$). Моделирование кист яичников осуществлялось введением рекомбинантного ФСГ (1,5 МЕ) (Индустрия Фармасьютика Сероно С.п.А., Индустриальная зона Модugno, 1-70123 Бари, Италия). Препарат вводили ежедневно в течение 7 сут в первой половине дня до 12 ч при помощи шприц-ручки внутримышечно в ягодичную область, исключая ранение магистральных сосудов и нервных пучков.

Вывод из эксперимента осуществлялся декапитацией наркотизированных крыс на 3-и, 7-е, 15-, 30-, и 60-е сут опыта. При аутопсии визуально оценивали состояние органов брюшной полости: наличие и характер выпота, состояние брюшины, измеряли размеры, объем яичников, отмечали характер структуры коркового слоя, наличие фолликулов, кистозных образований, кровоизлияний. Оба яичника забирались для гистологического исследования.

Сразу же после аутопсии яичники фиксировали в жидкости Карнуа и 10%-м нейтральном формалине. Депарафинированные срезы толщиной 5–6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Ван Гизону. Проводили морфоколичественное исследование тканевых компонентов яичников. Количество растущих фолликулов, атретических тел, желтых тел, кист подсчитывали на серийных срезах через каждые 150–200 мкм ткани яичника. К растущим и зрелым фолликулам в том числе были отнесены фолликулы, имеющие начальные признаки дегенерации в овосоматическом окружении. Гистостереометрическое исследование включало в себя определение удельного объема структурных элементов яичника и колла-

геновых волокон в срезах, окрашенных по Ван Гизону, и проводилось с помощью окулярной измерительной сетки, состоящей из большого квадрата, содержащего 25 точек (Г.Г. Автандилов, 1990).

Анализ результатов проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics v.22.0. Форму распределения проверяли с помощью критерия Шапиро – Уилка (нормальное распределение при $p > 0,05$). Результаты оценены Н-тестом Краскела – Уоллиса. Апостериорные тесты проведены U-критерием Манна – Уитни с критическим уровнем значимости $p = 1 - 0,951/n$ (где n – количество сравнений). Значения, имеющие вероятность ошибки $p > 0,05$, считали незначимыми, $p [0,05; 0,01]$ – неопределенно значимыми, $p [0,01; 0,001]$ – значимыми, $p < 0,001$ – высоко значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При гистологическом исследовании яичников на 7-е сут введения ФСГ наблюдалось максимальное увеличение их размеров до 0,8–0,9 см за счет формирования однокамерных кист диаметром 0,7–2,5 мм с гладкой блестящей поверхностью, тонкими стенками, содержащими прозрачный секрет, реже секрет коричневого цвета (кровоизлияние). Количество кист в срезе составляло 6,0 (4,0–8,0). Обращало на себя внимание резкое полнокровие сосудов (рис. 1).

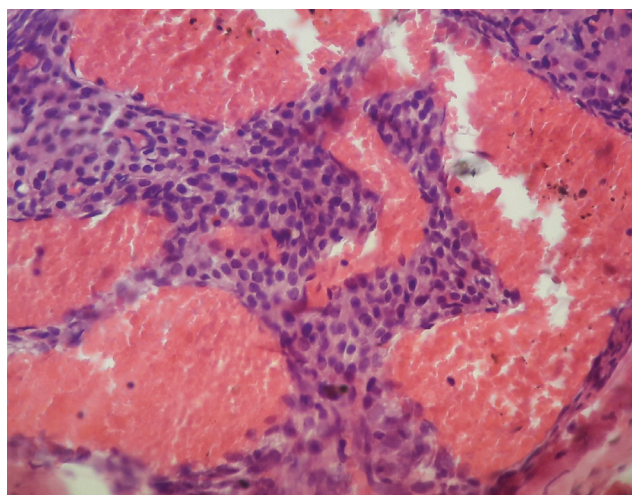


Рис. 1. Полнокровие сосудов на 7-е сут введения рФСГ. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 1000$

Fig. 1. Full-blooded vessels on the 7th day of rFSH administration. Staining with hematoxylin and eosin. Increase $\times 1000$

Стенка кисты на этой стадии развития была выстлана хорошо сохранившимися гранулезными клетками. Редко наблюдались признаки атрофии, дегенерации или распада гранулезы. Количество третичных фолликулов было снижено. В яичниках животных наблюдались единичные желтые тела.

На 15-е сут в большей части кист наблюдалась полная дегенерация и цитолиз овоцитов, дискомплексация, кариопикноз и кариорексис в клетках фолликулярного эпителия, образование ретенционных полостей диаметром 1,1–2,5 мм (рис. 2). Увеличивалось количество атретических фолликулов и тел (рис. 3).

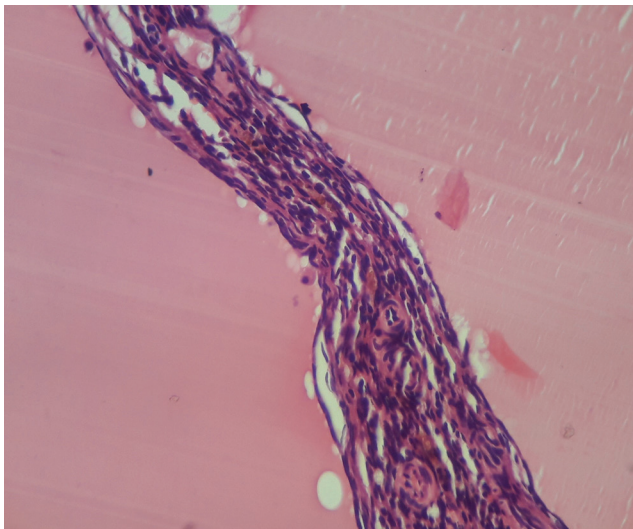


Рис. 2. Ретенционные полости. Стенки представлены соединительной тканью, 15-е сут эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 1000$

Fig. 2. Retention cavities. The walls are represented by a connective tissue, the 15th day of the experiment. Staining with hematoxylin and eosin. Increase $\times 1000$

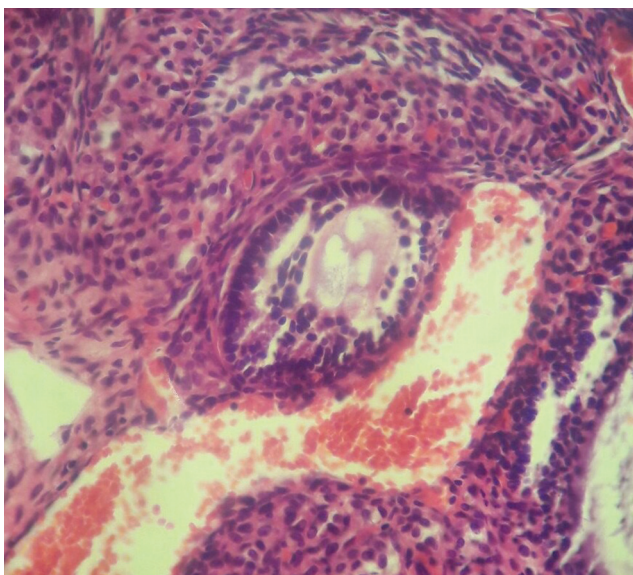


Рис. 3. Вакуолизация и отечность ооцита, дискомплексация фолликулярного эпителия во вторичном фолликуле, 7-е сут эксперимента. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 1000$

Fig. 3. Vacuolization and swelling of the oocyte, discomplexation of the follicular epithelium in the secondary follicle, the 7th day of the experiment. Staining with hematoxylin and eosin. Increase $\times 1000$

Обнаруживались вторичные фолликулы с сохранным овоцитом, но нарушенной структурой: имели место очаговый отек цитоплазмы, невыраженные явления дискомплексации фолликулярного эпителия. Визуализировались атретические фолликулы, небольшое количество неизмененных фолликулов, вступающих в стадию роста, примордиальные фолликулы. Однако овоциты в подобных фолликулах были дегенеративно изменены, либо подвергнуты гомогенизации и распаду, в отдельных срезах отмечался отрыв яйценосного бугорка. Встречались единичные желтые тела. Отмечалось усиление процессов коллагенообразования, начиная с 15-х сут эксперимента. Коллагеновые волокна формировали пучки в строме, в окружении кист и сосудов (рис. 4). В отдельных случаях белочная оболочка была локально истончена. Поверхностный эпителий имел очаговые дефекты.

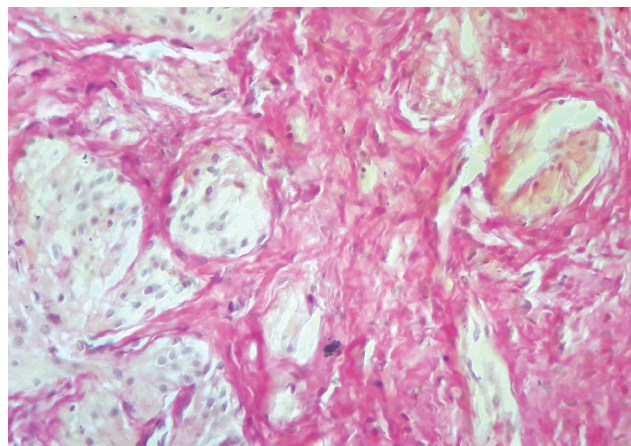


Рис. 4. Коллагеновые волокна в корковом веществе яичника на 15-е сут эксперимента. Окраска по Ван Гизону. Увеличение $\times 1000$

Fig. 4. Collagen fibers in the cortex of the ovary on the 15th day of the experiment. Staining by Van Gieson. Increase $\times 1000$

На 30- и 60-е сут эксперимента яичники несколько уменьшались в размере до 0,6–0,7 см, но сохраняли бугристость, чаще имели белесоватый оттенок. Больших кистозных полостей не отмечено. Выявлялись ретенционные образования на стадии регресса, размер которых, как правило, не превышал 1 мм. Обнаруживались растущие фолликулы, однако значительная часть эпителиоцитов зернистого слоя в них была подвержена деструктивным изменениям. Овоциты также характеризовались различной степени выраженности нарушениями: локальным отеком цитоплазмы, повышенной конденсацией хроматина, деформацией ядерной оболочки.

Морфоколичественная динамика генеративных элементов яичников представлена в табл. 1. Количество примордиальных фолликулов в срезе

яичников в основной группе во все сроки эксперимента не отличалось от такового в контроле. На 7-е сут эксперимента количество растущих фолликулов было меньше, чем в контроле ($p = 0,038$). Количество кист в срезе было максимальным на 7-е сут ($p < 0,001$), затем снижалось до 60-х сут. Количество атретических фолликулов было выше в основной группе в сравнении с

таким в контрольной ($p = 0,012$), данные изменения сохранялись до 60-х сут. Количество желтых тел снижалось с 7-х по 30-е сут, а затем немного возрастало к 60-м сут, однако статистически значимые различия с группой контроля сохранялись ($p < 0,001$). Критерий Джонкхиера – Терпстра указывал на наличие однонаправленной тенденции ($p < 0,001$).

Т а б л и ц а 1

Количество генеративных элементов в срезах яичников белых крыс после введения ФСГ, Ме ($Q5-Q95$)					
Показатель	Примордиальные	Растущие и зрелые фолликулы	Желтое тело	Атретические тела	Кисты
Контроль ($n = 25$)	3,0 (0–6,8)	9,0 (3,0–14,0)	4,0 (2,0–7,0)	3,0 (1,0–5,0)	1 (0–1,0)
Основная группа ($n = 35$)	–	–	–	–	–
3-и сут	2,0 (1,0–5,0)	8,0 (2,0–14,0)	3,0 (1,0–6,0)	2,0 (0–4,0)	2 (0–3,0)
7-е сут	3,0 (0–6,8)	5,0 (1,0–10,0)*	2,0 (1,0–4,0)*	4,0 (2,0–6,0)*	6,0 (4,0–8,0)**
15-е сут	2,0 (1–5,0)	4,0 (0–6,0)**	1 (0–1,0)**	4,0 (2,0–6,0)*	5,0 (3,0–7,0)*
30-е сут	2,0 (0–6,0)	6,0 (1,0–7,0)*	1 (0–1,0)**	5,0 (3,0–7,0)*	4,0 (2,0–6,0)*
60-е сут	3,0(1,0–6,0)	6,0 (1,0–8,0)*	3,0 (1,0–4,5)*	4,0 (2,0–6,0)*	2 (1–4,0)*

* в сравнении с группой контроля выявлены различия со значимостью $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ (здесь и в табл. 2).

Значения удельного объема структурных элементов представлены в табл. 2. Во все сроки эксперимента удельный объем кист в яичниках крыс основной группы был выше такового в контроле, наибольшее значение наблюдалось на 7-е сут эксперимента ($p < 0,001$). На 60-е сут эксперимента удельный объем кист снижался, однако по-прежнему выявлялись различия с группой контроля ($p = 0,038$). На 7- и 15-е сут эксперимента отмечалось снижение количества растущих фолликулов по сравнению с таковым в группе контроля ($p < 0,001$). На 30- и 60-е сут отмечалось увеличе-

ние удельного объема атретических тел и фолликулов по сравнению с таковым в группе контроля ($p < 0,001$). Количество желтых тел уменьшалось в ходе эксперимента, статистически значимые различия были выявлены с 7-х сут, наиболее значимые изменения на 7- и 15-е сут ($p < 0,001$). На 7- и 15-е сут эксперимента регистрировалось увеличение удельного объема кровеносных сосудов по сравнению с таковым в группе контроля ($p = 0,021$, $p = 0,046$), начиная с 30-х сут эксперимента отличий в сравнении с группой контроля не выявлено ($p = 0,945$).

Т а б л и ц а 2

Удельный объем структурных компонентов яичников белых крыс после введения ФСГ, Ме ($Q5-Q95$)							
Показатель	Растущие фолликулы	Желтые тела	Атретические фолликулы и тела	Кисты	Сосуды	Интерстициальная ткань	Коллагеновые волокна
Контроль ($n = 25$)	16,4 (5,3–27,9)	28,7 (24,7–29,6)	2,3 (1,4–4,8)	3,2 (0–3,9)	8,3 (3,9–11,7)	41,1 (39,7–63,4)	4,2 (2,46–6,7)
Основная группа ($n = 35$)	–	–	–	–	–	–	–
3-и сут	3,8* (0–15,3)	20,3 (13,4–27,8)	2,1 (0,7–3,5)	22,3 (17,5–31,4)*	8,4 (5,8–11,2)	43,1 (40,6–53,5)	4,4 (2,1–7,5)
7-е сут	1,1** (0–16,3)	9,6 (5,8–18,9)**	3,6 (2,9–4,1)*	40,7 (30,9–56,7)**	14,9 (14,3–19,8)*	30,1 (36,4–50,2)	5,8 (3,2–8,6)
15-е сут	3,4** (0–14,2)	10,1 (8,5–21,2)**	3,9 (2,6–4,9)*	30,9 (28,5–39,6)**	11,2 (10,3–16,7)*	40,5 (42,1–56,8)	8,9 (6,7–12,3)*
30-е сут	7,2* (1,11–22,50)	12,2 (10,1–15,8)*	4,5 (2,8–6,7)**	17,7 (8,9–19,2)*	9,1 (6,9–12,1)	49,3 (39,2–54,8)	14,5 (10,3–16,9)**
60-е сут	8,9* (0–25,9)	17,1 (6,4–19,5)*	5,2 (3,3–5,9)**	12,1 (10,1–15,3)*	8,8 (5,7–10,2)	47,9 (41,2–53,1)	10,2* (7,4–14,7)

Подсчет удельной площади коллагеновых волокон показал, что на 3-и и 7-е сут после операции содержание коллагеновых волокон не отличалось в исследуемой и контрольной группах ($p = 0,351$, $p = 0,945$). Начиная с 15-х сут эксперимента, данный показатель был выше в основной группе ($p < 0,001$). Максимальный объем коллагеновых волокон наблюдался на 30-е сут после операции ($p < 0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

При введении ФСГ формируются множественные фолликулярные кисты, стенка которых на раннем этапе формирования кисты состоит из 5–10 слоев гранулезных клеток. В дальнейшем дегенеративные процессы прогрессируют, стенка кисты истончается. Образуется ретенционное образование, заполненное прозрачным секретом, внутренняя выстилка капсулы представлена одним слоем плоских клеток и соединительной тканью. Одной из причин возникновения опухолевидных образований яичников является нарушение сложного механизма нейроэндокринных регуляций [1–5]. Подтверждением данной теории является тот факт, что гипергонадотропное состояние в начале менопаузального перехода часто сопровождается формированием опухолевидных образований яичников, а длительное применение контрацептивных стероидов, снижающих секрецию гонадотропинов, напротив, профилактирует их образование [5]. ФСГ стимулирует пролиферацию фолликулярного эпителия фолликулярных кист на ранних этапах, а в дальнейшем нередко выявляется и патологическая диффузная и очаговая пролиферация (гиперплазия). В определенной степени это свидетельствует о том, что на ранних сроках своего формирования киста является гормонопродуцирующей, и в дальнейшем не исключено формирование истинной серозной опухоли.

Комплексная оценка результатов гистеостереометрического и морфоколичественного исследований обнаруживает изменения в состоянии овсоматического комплекса при формировании функциональных кист: общее снижение количества генеративных элементов, усиление процессов атрезии в яичниках. Если в начале эксперимента на 3-и сут показатели растущих фолликулов не отличаются от контроля, то на 7-е сут выявляется статистически значимое уменьшение их количества. К 30-м сут восстановления структурных компонентов яичника до исходного состояния не происходит, после этого срока количественной динамики показателей не наблюдается. Увеличе-

ние удельного объема атретических тел и фолликулов свидетельствует о нарушении фолликулогенеза и усилении атрезии растущих фолликулов. Увеличение под воздействием ФСГ сонма гранулезных клеток сопровождается повышением концентрации ингибина В, который подавляет синтез ФСГ, что приводит к нарушению процессов стероидогенеза, уменьшению секреции эстрадиола и увеличению секреции яичниковых андрогенов [8].

Нарушения гемодинамики и экссудативные процессы, увеличение удельного объема сосудов наиболее выражены в ранние сроки эксперимента на 7-е сут. Обращало на себя внимание резкое полнокровие сосудов, в некоторых кистах наблюдались кровоизлияния. Ответом на эпизод нарушения кровоснабжения в ткани яичника при замещении большей части фолликулярными кистами явилось образование соединительной ткани на 15- и 30-е сут эксперимента. Уменьшение удельного объема коллагеновых волокон на 60-е сут, вероятно, обусловлено уменьшением объема и количества кист и снижением выраженности гемодинамических нарушений.

Удельный объем и количество желтых тел снижалось, начиная с 7-х сут эксперимента. Это связано с нарушением процессов фолликулогенеза и отсутствием лютеинизации фолликулов, большая часть которых превращалась в фолликулярные кисты. Восстановление количества желтых тел не происходило до 60-х сут эксперимента, однако отмечалась тенденция к увеличению их количества на 30-е сут.

Таким образом, ФСГ действует на фолликулярный гранулезный эпителий растущих фолликулов, способствуя пролиферации гранулезных клеток. Стенка фолликулярной кисты на раннем этапе формирования состоит из 5–10 слоев гранулезных гормонопродуцирующих клеток. В дальнейшем дегенеративные процессы в стенке прогрессируют, внутренняя эпителиальная выстилка капсулы кисты истончается и замещается соединительной тканью. Восстановление нормального фолликулогенеза не происходит в течение 60 сут после окончания эксперимента, наблюдается увеличение процессов атрезии и нарушение процессов рекрутирования растущих фолликулов, что закономерно снижает репродуктивный потенциал яичника.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Введение фолликулостимулирующего гормона в течение 7 сут приводит к нарушению процессов фолликулогенеза, формированию функциональных кист, усилению процессов атрезии в яичниках

и полнокровию сосудов. Наблюдается общее снижение количества растущих фолликулов и желтых тел. Нарушение локального кровоснабжения ткани яичника проявляется усилением коллагенообразования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ И ВКЛАД АВТОРОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи, и сообщают о вкладе авторов. Концепция и дизайн исследования – Тихоновская О.А., Логвинов С.В., Огороков А.О., Суханова Г.А., Куценко И.Г. Сбор и обработка материала – Трус Д.А., Тимофеева О.С., Мустафина Л.Р., Варакута Е.Ю., Герасимов А.В. Статистическая обработка – Трус Д.А., Потапов А.В. Написание текста – Трус Д.А. Редактирование – Тихоновская О.А., Логвинов С.В., Куценко И.Г.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование одобрено решением локального этического комитета СибГМУ (протокол № 4356 от 30.11.2015 г.)

ЛИТЕРАТУРА

1. Антропова Н.В., Богатова И.К. Клинико-анамнестические особенности женщин с бесплодием и фолликулярными кистами яичников // *Вестник Ивановской медицинской академии*. 2014; 19 (1): 62–63.
2. Сафронова Д.А. Овариальный резерв и репродуктивная функция у пациенток после лапароскопической кистэктомии по поводу доброкачественных опухолей яичников // *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2011; 2: 124–127.
3. Сорокина И.В., Марковский В.Д., Борзенкова И.В., Кулакова Е.А., Мирошниченко М.С., Плитень О.Н., Мирошниченко С.А. Кистозные образования яичников у женщин: клинические и морфологические особенности // *Морфология*. 2015; 9 (2): 78–84.
4. Ульрих Е.А., Урманчиева А.Ф., Кутушева Г.Ф. Опухоли яичника (клиника, диагностика и лечение). СПб.: Издательство Н-Л., 2012: 90.
5. Рыбалка А.Н., Егорова Я.А. Профилактика и ведение осложненных функциональных кист яичников // *Медицинские аспекты здоровья женщины*. 2011; 1 (40): 11–14.
6. Серебренникова К.Г., Кузнецова Е.П. Современная медикаментозная терапия опухолевидных образований и ретенционных кист яичников // *Фундаментальные исследования*. 2011; 5: 218–221.
7. Кадесникова Ю.А., Тихоновская О.А., Петров И.А., Огороков А.О., Логвинов С.В. Состояние овариального резерва пациенток с функциональными кистами яичников после лапароскопической кистэктомии // *Сибирский медицинский журнал*. 2010; 25 (4–2): 83–85.
8. Макачук О.М., Матвийкив Н.И. Клинический опыт применения разнообразных подходов к комплексной и превентивной терапии функциональных кист яичников // *Здоровье женщины*. 2015; 5 (111): 91.
9. Рудакова Е. Б., Стрижова Т. В., Трубникова О. Б., Замаховская А. Ю. Кисты яичников в программах ЭКО и ПЭ в протоколах с АГ-РГ // *Проблемы репродукции*. 2014; 3 (4): 20–21.
10. Шаповал О.С., Резниченко Г.И. Особенности реализации репродуктивной функции у женщин с доброкачественными опухолеподобными образованиями яичников // *Здоровье женщины*. 2015; 2 (98): 104–107.
11. Coric M., Barisic D., Pavicic D. Electrocoagulation versus suture after laparoscopic stripping of ovarian endometriomas assessed by antral follicle count: preliminary results of randomized clinical trial // *Arch. Gynecol. Obstet.* 2013; 283: 373–378.
12. Li C.Z., Wei D.Y., Wang F. Impact on ovarian reserve function by different homostasis methods during laparoscopic cystectomy in treatment of ovarian endometrioma // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2013; 48 (1): 11–15.
13. Сибирская Е.В., Адамян Л.В., Яцык С.П., Гераскина С.Г. Абдоминальный болевой синдром у девочек при опухолях и опухолевидных образованиях придатков матки // *Российский педиатрический журнал*. 2015; 18 (3): 54–59.
14. Стулова С.В., Семушкина Л.С., Семенова О.В., Гагарина И.В., Асанина М.Ю., Коновалова Ю.И. Особенности тактики ведения больных с функциональными кистами яичников в условиях стационара экстренной медицинской помощи // *Теоретические и прикладные аспекты современной науки*. 2014; 2: 133–136.

Поступила в редакцию 22.03.2017

Утверждена к печати 30.06.2017

Трус Дарья Александровна, аспирант, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии СибГМУ, г. Томск.
Тихоновская Ольга Анатольевна, д-р мед. наук, профессор, кафедра акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск.
Огороков Александр Олегович, канд. мед. наук, ассистент, кафедра акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск.
Мустафина Лилия Рамильевна, д-р мед. наук, профессор, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск.

Тимофеева Оксана Сергеевна, ординатор, кафедра акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск.

Логвинов Сергей Валентинович, д-р мед. наук, профессор, проректор по учебной работе, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск.

Герасимов Александр Владимирович, д-р мед. наук, профессор, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск.

Варакута Елена Юрьевна, д-р мед. наук, профессор, кафедра анатомии человека с курсом топографической анатомии и оперативной хирургии, СибГМУ, г. Томск.

Потапов Алексей Валерьевич, д-р мед. наук, профессор, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, СибГМУ, г. Томск.

Суханова Галина Алексеевна, д-р биол. наук, профессор, кафедра биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, СибГМУ, г. Томск.

Куценко Ирина Георгиевна, д-р мед. наук, профессор, кафедра акушерства и гинекологии, СибГМУ, г. Томск.

(✉) Трус Дарья Александровна, e-mail: daria.trus.2017@gmail.com

УДК 618.11-006.2-021.6:577.175.327

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-137-144

For citation: Trus D.A., Tikhonovskaya O.A., Okorokov A.O., Mustafina L.R., Timofeeva O.S., Logvinov S.V., Gerasimov A.V., Varakuta E.Yu., Potapov A.V., Sukhanova G.A., Kutsenko I.G. Modeling of functional ovarian cysts by introducing a follicle-stimulating hormone. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 137–144

Modeling of functional ovarian cysts by introducing a follicle-stimulating hormone

Trus D.A., Tikhonovskaya O.A., Okorokov A.O., Mustafina L.R., Timofeeva O.S., Logvinov S.V., Gerasimov A.V., Varakuta E.Yu., Potapov A.V., Sukhanova G.A., Kutsenko I.G.

Siberian State Medical University (SSMU)

2, Moskow Tract, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the morphofunctional state of ovaries after the introduction of recombinant FSH.

Materials and methods. Two groups of mature female Wistar rats were used in the study. The experimental group consisted of 35 rats with a model of follicular ovarian cysts, while 25 rats were in the control group. Rats were taken out of the experiment on days 3, 7, 15, 30 and 60. Paraffin slides of ovaries were stained with hematoxylin and eosin by Van Gieson. Histological and morphometric investigations were performed.

Results. On day 7 of FSH administration, the maximum increase in the size of the ovaries was observed due to the formation of single-cell follicular cysts. Rats in the experimental group showed a marked decrease in the number of growing follicles on day 7 and 15. The increase in atretic bodies and follicles in comparison with the control group was observed on day 7 and lasted until the end of the experiment. Additionally, on day 7 of the experiment, hyperemia and vasoconstriction were noted. The number of yellow bodies decreased during the experiment, and an increase in collagen formation occurred starting from day 15 of the experiment.

Conclusion. The introduction of follicle-stimulating hormone for 7 days leads to disruption of folliculogenesis, strengthening of atresia in the ovaries, and the formation of functional cysts.

Key words: modeling of functional cysts, ovarian morphology, functional ovarian cysts.

REFERENCES

1. Antropova N.V., Bogatova I.K. Kliniko-anamnesticheskiye osobennosti zhenstchin s besplodiyem i follikulyarnymi kistami yaichnikov [Clinical anamnestic peculiarities in women with infertility and follicular ovarian cysts] // *Vestnik Ivanovskoy meditsinskoy akademii – Bulletin of Ivanovo Medical Academy*. 2014; 19 (1): 62–63 (in Russian).
2. Kadesnikova Ju.A., Tikhonovskaya O.A., Petrov I.A., Okorokov A.O., Logvinov S.V. Sostoyaniye ovarial'nogo reserva patsiyentok s funktsional'nymi kistami yaichnikov posle laparoskopicheskoy tsistektomii [The condition of the ovarian reserve of patients with functional ovarian cysts after laparoscopic cystectomy] // *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal – Siberian Medical Journal*. 2010; 25 (4–2), 83–85 (in Russian).
3. Makarchuk O.M., Matviyuk N.I. Klinicheskiy opyt primeneniya raznoobraznykh podkhodov k kompleksnoy i preventivnoy terapii funktsional'nykh kist yaichnikov [Clinical experience of application of various approaches to complex and preventive therapy of functional ovarian cysts] // *Zdorov'ye zhenshchiny – Women's Health*. 2015; 5 (111): 91 (in Russian).

4. Ul'rikh Ye.A., Urmanceyeva A.F., Kutusheva G.F. Opukholi yaichnika (klinika, diagnostika i lecheniye) [Tumors of the ovary (clinic, diagnostics and treatment)]. SPb.: Izdatel'stvo N-L. Publ., 2012: 90 (in Russian).
5. Rybalka A.N., Yegorova Ya.A. Profilaktika i vedeniye oslozhnennykh funktsional'nykh kist yaichnikov [Prophylaxis and management of complicated functional ovarian cysts] // *Meditsinskiye aspekty zdorov'ya zhenshchiny – Medical Aspects of Woman's Health*. 2011; 1 (40): 11–14 (in Russian).
6. Safronova D.A. Ovarial'nyy rezerv i reproduktivnaya funktsiya u patsiyentok posle laparoskopicheskoy kistektomii po povodu dobrokachestvennykh opukholey yaichnikov [Ovarian reserve and reproductive function in patients after laparoscopic cystectomy for benign ovarian tumors] // *Vestnik Rossiyskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta – Bulletin of the Russian State Medical University*. 2011; 2: 124–127 (in Russian).
7. Serebrennikova K.G., Kuznetsova Ye.P. Sovremennaya medikamentoznaya terapiya opukholevidnykh obrazovaniy i retentsionnykh kist yaichnikov [Modern medicamentous therapy of tumoral formations and retention cysts of the ovaries] // *Fundamental'nyye issledovaniya – Fundamental Research*. 2011; 5: 218–221 (in Russian).
8. Sibirskaya Ye.V., Adamyan L.V., Yatsyk S.P., Geras'kina S.G. Abdominal'nyy bolevoy sindrom u devochek pri opukholyakh i opukholevidnykh obrazovaniyakh pridatkov matki [Abdominal pain syndrome in girls with tumors and tumoral formations of the uterine appendages] // *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal – Russian Pediatric Journal*. 2015; 18 (3): 54–59 (in Russian).
9. Sorokina I. V., Markovskiy V. D., Borzenkova I. V., Kulakova Ye. A., Miroshnichenko M. S., Pliten' O. N., Miroshnichenko S. A. Kistoznyye obrazovaniya yaichnikov u zhenshchin: klinicheskiye i morfologicheskiye osobennosti [Cystic ovarian formations in women: clinical And morphological features] // *Morphologia*. 2015; 9 (2): 78–84 (in Russian).
10. Stulova S.V., Semushkina L.S., Semenova O.V., Gagarina I.V., Asanina M.YU., Konvalova YU.I. Osobennosti takтики vedeniya bol'nykh s funktsional'nymi kistami yaichnikov v usloviyakh statsionara ekstrennoy meditsinskoy pomoshchi [Peculiarities of tactics of managing patients with functional ovarian cysts in an emergency medical hospital] // *Teoreticheskiye i prikladnyye aspekty sovremennoy nauki – Theoretical and Applied Aspects of Modern Science*. 2014; 2: 133–136 (in Russian).
11. Ul'rikh Ye.A., Urmanceyeva A.F., Kutusheva G.F. Opukholi yaichnika (klinika, diagnostika i lecheniye) [Tumors of the ovary (clinic, diagnostics and treatment)]. SPb.: Izdatel'stvo N-L. Publ., 2012 (in Russian). Кол-во стр.
12. Shapoval O.S., Reznichenko G.I. Osobennosti realizatsii reproduktivnoy funktsii u zhenshchin s dobrokachestvennymi opukholepodobnymi obrazovaniyami yaichnikov [Features of the realization of reproductive function in women with benign tumor-like ovarian formations] // *Zdorov'ye zhenshchiny – Women's Health*. 2015; 2 (98): 104–107 (in Russian).
13. Coric M. Electrocoagulation versus suture after laparoscopic stripping of ovarian endometriomas assessed by antral follicle count: preliminary results of randomized clinical trial / M. Coric, D. Barisic, D. Pavicic D // *Arch. Gynecol. Obstet.* 2013;. 283: 373–378.
14. Li C.Z., Wei D.Y., Wang F. Impact on ovarian reserve function by different homostasis methods during laparoscopic cystectomy in treatment of ovarian endometrioma // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2013; 48 (1): 11–15.

Received March 22.2017

Accepted June 30.2017

Trus Daria A., Postgraduate Student, Department of Histology, Embryology and Cytology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.
Tikhonovskaya Olga A., DM, Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.
Okorochkov Aleksandr O., PhD, Assistant, Department of Obstetrics and Gynecology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.
Mustafina Liliya R., DM, Professor, Department of Histology, Embryology and Cytology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.
Timofeeva O.S., Resident, Department of Obstetrics and Gynecology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Logvinov Sergey V., DM, Professor, Head of the Department of Histology, Embryology and Cytology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Gerasimov Alexandr V., DM, Professor, Department of Histology, Embryology and Cytology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Varakuta Elena Yu., DM, Professor, Department of Histology, Embryology and Cytology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Potapov Aleksey V., DM, Professor, Department of Histology, Embryology and Cytology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Suhanova Galina A., DBSc, Professor, Department of Biochemistry, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Kutsenko Irina G., DM, Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

(✉) **Trus Daria A.**, e-mail: daria.trus.2017@gmail.com

УДК 616.132.2-089.86-085.273.5-036.8-073.7

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-145–155

Для цитирования: Фанаскова Е.В., Груздева О.В., Акбашева О.Е., Тютрин И.И., Пенская Т.Ю., Учасова Е.Г., Дылева Ю.А., Барбараш О.Л. Возможность применения метода низкочастотной пьезотромбоэластографии для оценки гемостатического потенциала крови при операциях коронарного шунтирования на фоне длительной аспиринотерапии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 145–155

Возможность применения метода низкочастотной пьезотромбоэластографии для оценки гемостатического потенциала крови при операциях коронарного шунтирования на фоне длительной аспиринотерапии

Фанаскова Е.В.¹, Груздева О.В.^{1,2}, Акбашева О.Е.³, Тютрин И.И.³,
Пенская Т.Ю.¹, Учасова Е.Г.¹, Дылева Ю.А.¹, Барбараш О.Л.^{1,2}

¹ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (НИИ КПССЗ) Россия, 650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6

² Кемеровский государственный медицинский университет (КемГМУ) Россия, 650029, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22а

³ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ) Россия, 634050, г. Томск, ул. Московский тракт, 2

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Оценить систему гемостаза на фоне длительной аспиринотерапии с помощью теста VerifyNow Aspirin, агрегатограммы и низкочастотной пьезотромбоэластографии у больных с ишемической болезнью сердца при проведении коронарного шунтирования.

Материал и методы. Обследовано 100 человек с с ишемической болезнью сердца, которые принимали аспирин (75–100 мг/сут) более 1 года. Исследования проводили в периоперационный период коронарного шунтирования без отмены аспирина. Оценку гемостаза осуществляли с помощью теста VerifyNow Aspirin (Accumetrics, США), агрегатограммы (Helena Laboratories AggRAM™, Великобритания) и низкочастотной пьезотромбоэластографии (АРП-01М «Меднорд», Россия).

Результаты. Пациенты, включенные в исследование, были чувствительны к аспирину в условиях длительного приема препарата: показатель теста VerifyNow ARU составил $(496,9 \pm 21,3)\%$, агрегация тромбоцитов на аденозиндифосфат (АДФ) и адреналин снижалась на 46 и 52% соответственно. В ранний послеоперационный период агрегация тромбоцитов снизилась на АДФ – 73,2%, коллаген – 75,9%, адреналин – 82,64% по сравнению с контрольной группой. Периоперационные геморрагические осложнения в исследуемой группе не отмечались. Снижение агрегации тромбоцитов при аспиринотерапии сопровождалось увеличением тромбиновой активности крови, что позволяет оценить метод низкочастотной пьезотромбоэластографии. В раннем послеоперационном периоде по результатам низкочастотной пьезотромбоэластографии тромбиновый потенциал, антикоагулянтная и фибринолитическая активность крови частично нормализуются, не достигая при этом уровня контрольной группы.

Заключение. Для оценки гемостаза в условиях аспиринотерапии целесообразно применять метод низкочастотной пьезотромбоэластографии, позволяющий в отличие от теста VerifyNow Aspirin и

✉ Груздева Ольга Викторовна, e-mail: o_gruzdeva@mail.ru.

традиционной агрегатограммы выявить степень нарушения тромбоиновой активности крови и провести интегративную оценку всех звеньев гемостаза.

Ключевые слова: аспирин, VerifyNow Aspirin тест, агрегатограмма, низкочастотная пьезотромбоэластография, коронарное шунтирование.

ВВЕДЕНИЕ

Основная дискуссия по применению аспирина для профилактики и лечения ишемической болезни сердца (ИБС) базируется на балансе пользы и риска препарата [1]. С одной стороны, аспирин имеет достаточно высокий уровень безопасности, позволяет предотвратить развитие тромбоишемических событий, улучшает состояние шунтов после коронарного шунтирования (КШ) [2], с другой, его применение может ассоциироваться с более высоким риском кровотечений при хирургических вмешательствах [3, 4]. В связи с этим вопрос о целесообразности прекращения аспиринотерапии в предоперационном периоде у пациентов с плановыми хирургическими вмешательствами на коронарных артериях до сих пор обсуждается. В большинстве кардиохирургических клиник достаточно широко распространена практика отмены антиагрегантов на этапе подготовки пациента к плановому КШ. Так, приблизительно у 30–40% пациентов хирургические вмешательства являются причиной отмены аспирина [5].

В связи с геморрагическими осложнениями около 50–60% кардиохирургических пациентов в периоперационном периоде получают компоненты донорской крови [6], а в 2–9% случаев требуются повторные операции по поводу развития послеоперационных кровотечений [7, 8]. При этом повышенная кровопотеря обусловлена не только угнетением функциональной активности тромбоцитов на фоне аспиринотерапии, но и развитием стресс-индуцированных нарушений в системе гемостаза, свойственных любому оперативному вмешательству, особенно в условиях искусственного кровообращения. В связи с этим актуален своевременный и адекватный мониторинг нарушений гемокоагуляции. Стандартные лабораторные тесты дают только частичную диагностическую информацию, и важные дефекты коагуляции, например снижение стабильности тромба или гиперфибринолиз, остаются незамеченными [9].

Все большую популярность приобретают тесты point-of-care (POC), позволяющие получить быструю оценку функциональной активности

тромбоцитов и провести мониторинг антитромбоцитарной терапии. В клинических исследованиях успешно апробирована система VerifyNow Aspirin (Accumetrics, США), которая является простым и удобным методом для определения остаточной реактивности тромбоцитов на фоне приема аспирина, подбора индивидуальной дозы препарата и мониторинга его эффективности. Перспективным методом интегративной оценки всех звеньев гемостаза может быть низкочастотная пьезотромбоэластография (НПТЭГ), позволяющая в режиме point-of-care оценить гемостатический потенциал в цельной крови [10].

Цель исследования – оценить систему гемостаза на фоне длительной аспиринотерапии с помощью теста VerifyNow Aspirin, агрегатограммы и низкочастотной пьезотромбоэластографии у больных ИБС при проведении коронарного шунтирования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Из регистра коронарного шунтирования, включающего более 1 317 человек, методом «случай – контроль» было последовательно отобрано 100 человек с ИБС, которым была выполнена плановая операция коронарного шунтирования в условиях искусственного кровообращения.

Критерии включения: прием аспирина (75–100 мг/сут) на дооперационном этапе более 1 года; возраст пациента – до 75 лет; информированное согласие пациента; наличие терапевтического эффекта на аспирин: значение ARU < 550% (тест VerifyNow Aspirin). Основные клиничко-анамнестические данные пациентов, включенных в исследование, представлены в табл. 1.

Критерии исключения: сочетанные и симультанные операции; реоперации и предшествующие оперативные вмешательства; острый коронарный синдром с необходимостью применения двойной антитромбоцитарной терапии; осложнения во время оперативного вмешательства, потребовавшие повторного подключения аппарата искусственного кровообращения (ИК) или внутриаортальной баллонной контрапульсации; рестернотомия в раннем послеоперационном периоде, связанная с хирургическим источником кровотечения; отсутствие терапевтического эф-

фекта на аспирин: значение ARU $\geq 550\%$ (тест VerifyNow Aspirin); геморрагические заболевания в анамнезе; гематокрит менее 30%, гемоглобин менее 100 г/л; число тромбоцитов менее 100 и более $450 \times 10^9/\text{л}$. А также терапия препаратами, содержащими плазменные факторы свертывания крови; периперационные гемотрансфузии эритроцитсодержащих компонентов донорской крови, свежезамороженной плазмы; наличие сопутствующих воспалительных и (или) онкологических заболеваний; беременность; заместительная гормональная терапия; отказ пациента от участия в исследовании.

Т а б л и ц а 1

Клинико-anamnestическая характеристика пациентов	
Показатель	Количество
Мужчины/женщины	78/22
Отягощенная наследственность по сердечно-сосудистой патологии	81
Артериальная гипертензия в анамнезе	43
Курение	83
Ожирение	24
Гиперхолестеролемиа	38
Сахарный диабет 2-го типа в анамнезе	28
Клиника стенокардии	100
Инфаркт миокарда (1 и более) в анамнезе	39
Постинфарктный кардиосклероз	38
Острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе	11
<i>Стратегия лечения</i>	
β -адреноблокаторы	98
иАПФ	84
Блокаторы Ca^{2+} -каналов	98
Инотропные препараты	19
Диуретики	84
Нитраты	100
Аспирин (прием более 1 года)	100
Статины	99

Среди пациентов преобладали мужчины (78%), средний возраст которых составил 55 (51; 63) года. В 100% случаев у пациентов при обследовании выявлено атеросклеротическое поражение коронарного русла. Поражение двух коронарных артерий (КА) отмечено в 32% случаев, трех КА – в 65%. Гемодинамически значимые стенозы основного ствола левой КА выявлены у 31 пациента.

В период пребывания в стационаре исследуемые получали комбинированную коронароактивную, антиагрегантную терапию, включающую аспирин (75–100 мг/сут), бета-адреноблокаторы, ингибиторы АПФ, антиангинальные препараты, статины в соответствии со стандартной практикой.

Всем пациентам проведено плановое первичное КШ с ИК без отмены антиагрегантной терапии согласно стандартным протоколам, принятым в учреждении. Средняя длительность искусственного кровообращения составила 86,5 (74;101) мин, средняя длительность пережатия аорты – 53 (47; 60) мин, средняя температура во время ИК – 35,3 (35,3; 36,0) °С, среднее количество шунтов – 3.

Контрольную группу составили 20 (4 женщины и 16 мужчин) практически здоровых лиц, сопоставимых по возрасту и полу с пациентами, вошедшими в исследование. Средний возраст лиц контрольной группы составил 56 (49; 62) лет. Исследование проводили в дооперационный (за 1 ч до вводного наркоза), интраоперационный (через 20 мин после проведения протаминизации) и ранний послеоперационный (в среднем через 1 ч после поступления пациента в отделение реанимации) периоды.

Оценку эффективности антиагрегантной терапии аспирином на дооперационном этапе проводили с помощью системы VerifyNow ARU® (Accumetrics, США) с набором картриджей на действие аспирина (арахионовая кислота), в основе которой лежит метод оптической трансмиссионной агрегометрии. Метод основан на измерении агонист-индуцированной агрегации цельной крови: осуществляется турбодиметрическое распознавание агрегации тромбоцитов в крови, пропускаемой через картриджи, содержащих арахидоновую кислоту, которая активирует тромбоциты, повышая экспрессию GPIIb/IIIa рецепторов, посредством которых тромбоциты связываются с покрытыми фибриногеном микрочастицами. Изменение интенсивности проходящего света при агрегации система преобразует в единицы реактивности тромбоцитов (aspirin reaction units, ARU), отражающих остаточную реактивность тромбоцитов на фоне приема антиагрегантных препаратов. С увеличением числа активированных тромбоцитов возрастает интенсивность прохождения света через исследуемый образец крови. В случае, если полученный результат превышает 549% ARU, считается, что эффект от приема аспирина отсутствует.

Материалом для исследования являлась цельная венозная кровь. Наличие терапевтического эффекта на аспирин считали при значении показателя ARU < 550 (тест VerifyNow Aspirin), где ARU – это остаточная реактивность тромбоцитов на фоне приема аспирина.

Функциональная активность тромбоцитов исследовалась при помощи метода световой агрегометрии на агрегометре Helena Laboratories AggRAM™ (Великобритания) с использованием

индукторов этого же производителя: АДФ в концентрации 1,25 мкмоль/мл, адреналин – 5 мкг/мл, коллаген – 100 мкг/мл. Степень агрегации тромбоцитов оценивалась по проценту максимального светопропускания, который в норме составил с АДФ 20–40%, адреналином – 40–60%, коллагеном – 50–75%. Материалом исследования являлась плазма обогащенная (ОТП).

Для оценки гемостатического потенциала цельной крови использовали метод НПТЭГ в режиме point-of-care с применением аппаратно-программного комплекса АРП-01М «Меднорд» (Россия), регистрационное удостоверение ФСР 2010/09767 от 30.12.2010. Анализировали следующие показатели пьезотромбоэластограммы (табл. 2).

Т а б л и ц а 2

Параметры низкочастотной пьезотромбоэластограммы	
Показатель	Значение
T1 – время реакции, мин	Время от начала свертывания до достижения максимального снижения амплитуды НПТЭГ
ИКК – интенсивность контактной фазы коагуляции, отн. ед.	Отражает агрегатное состояние тромбоцитов и других форменных элементов крови, первой и второй фазы коагуляции
ИКД – интенсивность коагуляционного драйва, отн. ед.	Характеризует протеолитический этап третьей фазы свертывания крови
КТА – константа тромбиновой активности, отн. ед.	Интенсивность начальной фазы протеолитического этапа фибринообразования
ИПС – интенсивность полимеризации сгустка, отн. ед.	Этап полимеризации третьей фазы гемокоагуляции
МА – максимальная плотность сгустка, отн. ед.	Наибольшая амплитуда низкочастотной пьезотромбоэластографии
t ₃ – время достижения максимальной плотности сгустка, мин	Время формирования фибрин-тромбоцитарного сгустка, окончание процесса образования поперечно-сшитого фибринового сгустка
ИТС – интенсивность тотального свертывания, отн. ед.	Отражает плотность фибрин-тромбоцитарной структуры сгустка
ИЛРС – интенсивность лизиса и ретракции сгустка, %	Оценивает интегративную составляющую плазмينا, лейкоцитарных протеаз (фибринолиз)
КСПА – коэффициент суммарной противосвертывающей активности, отн. ед.	Отражает активность антикоагулянтной системы

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью непараметрических критериев. Для независимых данных использовали критерий Манна – Уитни, для зависимых – критерий Уилкоксона. Результаты представлены в виде медианы (*Me*) и значений 25%- и 75%-го квартилей (*Q1–Q3*). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез *p* принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

С помощью теста VerifyNow установлено, что у пациентов с ИБС на дооперационном этапе показатель ARU составляет (496,9 ± 21,3)%, что свидетельствует о наличии чувствительности к аспирину в условиях длительной аспиринотерапии. Агрегация тромбоцитов на дооперационном периоде снижалась (табл. 3), особенно на АДФ и адреналин, соответственно на 46 и 52% по сравнению с контролем.

Во время операции после этапа протаминизации агрегационная способность тромбоцитов больных ИБС еще больше снижалась: при ис-

пользовании в качестве индуктора АДФ в 2,6 раза, адреналина – 4,6 раз, коллагена – 3,4 раза по сравнению с контролем. Минимальная агрегация тромбоцитов пациентов была выявлена в ранний послеоперационный период. Агрегация на АДФ и адреналин составила 73,2–82,64%, на коллаген – 75,9% от уровня контрольных значений (см. табл. 3).

Несмотря на значительное снижение агрегационной способности тромбоцитов, у пациентов существенной кровопотери не наблюдалось. Периоперационная кровопотеря, оцениваемая гравиметрическим методом, составила 759,0 (559; 990,5) мл: интраоперационно 527,6 (429,4; 679,7) мл, в течение первых 6 ч – 127,9 (87,5; 169,9) мл, в течение 1-х сут – 234,1 (129,6; 362,6) мл.

Таким образом, агрегатограмма отражает снижение агрегационной способности тромбоцитов у больных с ИБС на фоне длительной аспиринотерапии и дополнительное снижение агрегации в интра- и ранний послеоперационный период. При этом у пациентов не выявлено существенной потери крови.

Т а б л и ц а 3

Периоперационная агрегация тромбоцитов у пациентов с ИБС на фоне аспиринотерапии, <i>Me (Q1–Q3)</i>				
Индуктор агрегации	Доля максимального светопропускания, %			
	Контроль	Пациенты с КШ на фоне аспиринотерапии		
		до операции	после этапа протаминизации	ранний послеоперационный период
АДФ	36,2 (19,1; 44,9)	19,7 (16,1; 22,3) $P_{1,2} = 0,036$	13,8 (10,7; 19,2) $P_{1,3} = 0,002$ $P_{2,3} = 0,015$	9,7 (7,5; 15,5) $P_{1,4} = 0,041$ $P_{2,5} = 0,025$ $P_{3,5} = 0,001$
Адреналин	57,6 (36,3; 66,0)	28,2 (28,3; 45,5) $P_{1,2} = 0,012$	12,4 (9,2; 18,5) $P_{1,3} = 0,001$ $P_{2,3} = 0,004$	10,0 (9,2; 18,7) $P_{1,4} = 0,017$ $P_{2,4} = 0,022$
Коллаген	65,1 (47,9; 77,3)	48,9 (25,4; 48,4) $P_{1,2} = 0,004$	18,1 (12,5; 28,3) $P_{1,3} = 0,016$ $P_{2,3} = 0,008$	15,7 (11,0; 27,8) $P_{1,4} = 0,025$ $P_{2,4} = 0,008$

Для поиска наиболее информативного метода оценки эффектов аспирина и мониторинга гемостаза в периоперационный период у пациентов параллельно проводили исследование процесса свертывания цельной крови методом низкочастотной пьезотромбоэластографии. По данным НПТЭГ,

дооперационный период сопровождался увеличением времени начальной реакции T1, снижением контактной фазы коагуляции и формирования фибрин-тромбоцитарного сгустка соответственно в 1,2; 2; 2,8 раза, что является подтверждением антиагрегантного эффекта аспирина (табл. 4).

Т а б л и ц а 4

Параметры низкочастотной пьезотромбоэластографии у пациентов с коронарным шунтированием на фоне аспиринотерапии, <i>Me (Q1–Q3)</i>				
Параметр	Контроль	Пациенты с коронарным шунтированием		
		до операции	после протамина	ранний послеоперационный период
T1, мин	1,01 (0,47; 1,52)	2,14 (1,07; 4,30) $P_{1,2} = 0,019$	2,60 (1,25; 3,90) $P_{1,3} = 0,021$ $P_{2,3} = 0,003$	2,30 (1,40; 4,32) $P_{1,4} = 0,001$ $P_{2,4} = 0,004$ $P_{3,4} = 0,023$
ИКК, отн. ед.	24,70 (10,12; 40,51)	9,10 (6,50; 15,20) $P_{1,2} = 0,003$	8,10 (1,32; 10,80) $P_{1,3} = 0,015$ $P_{2,3} = 0,026$	8,80 (5,50; 19,90) $P_{1,4} = 0,024$ $P_{2,4} = 0,013$ $P_{3,4} = 0,009$
КТА, отн. ед.	30,18 (23,10; 42,00)	57,20 (45,30; 63,00) $P_{1,2} = 0,023$	19,10 (16,10; 31,50) $P_{1,3} = 0,021$ $P_{2,3} = 0,01$	21,00 (16,50; 38,46) $P_{1,4} = 0,011$ $P_{2,4} = 0,019$ $P_{3,4} = 0,002$
ИКА, отн. ед.	37,50 (30,02; 45,30)	47,80 (31,70; 52,10) $P_{1,2} = 0,008$	25,00 (14,93; 32,30) $P_{1,3} = 0,023$ $P_{2,3} = 0,015$	29,05 (23,00; 45,80) $P_{1,4} = 0,016$ $P_{2,4} = 0,001$ $P_{3,4} = 0,009$
ИПС, отн. ед.	19,78 (15,10; 24,70)	19,40 (13,20; 21,50) $P_{1,2} = 0,021$	14,90 (8,80; 20,10) $P_{1,3} = 0,008$ $P_{2,3} = 0,016$	15,75 (10,80; 18,20) $P_{1,4} = 0,029$ $P_{2,4} = 0,012$ $P_{3,4} = 0,009$

О к о н ч а н и е т а б л . 4

Параметр	Контроль	Пациенты с коронарным шунтированием		
		до операции	после протамина	ранний послеоперационный период
t_5 , мин	30,70 (23,30; 39,10)	36,90 (25,20; 68,40) $P_{1,2} = 0,045$	42,80 (35,10; 48,90) $P_{1,3} = 0,004$ $P_{2,3} = 0,021$	40,15 (33,50; 55,70) $P_{1,4} = 0,009$ $P_{3,4} = 0,003$ $P_{2,4} = 0,001$
МА, отн. ед.	551,00 (450,00; 649,00)	682,00 (592,00; 826,00) $P_{1,2} = 0,014$	473,00 (389,00; 615,00) $P_{1,3} = 0,0013$ $P_{2,3} = 0,001$	401,00 (352,00; 665,00) $P_{1,4} = 0,008$ $P_{3,4} = 0,004$ $P_{2,4} = 0,002$
ИТС, отн. ед.	20,00 (14,97; 25,01)	15,10 (11,54; 22,60) $P_{1,2} = 0,019$	14,70 (9,35; 21,70) $P_{1,3} = 0,006$ $P_{2,3} = 0,012$	14,90 (11,90; 17,30) $P_{1,4} = 0,003$ $P_{3,4} = 0,007$ $P_{2,4} = 0,021$
ИРАС, %	0,19 (0,27; 3,30)	0,74 (0,24; 1,05) $P_{1,2} = 0,003$	2,64 (0,85; 6,20) $P_{1,3} = 0,001$ $P_{2,3} = 0,019$	2,32 (0,45; 4,50) $P_{3,4} = 0,001$ $P_{2,4} = 0,031$
КСПА, отн. ед.	2,00 (1,76; 2,20)	2,46 (2,14; 2,66) $P_{1,2} = 0,001$	2,20 (1,54; 2,34) $P_{1,3} = 0,017$ $P_{2,3} = 0,009$	2,06 (1,95; 2,15) $P_{3,4} = 0,004$ $P_{2,4} = 0,001$

Однако, несмотря на хронометрическую гипокоагуляцию, отмечается существенное повышение тромбиновой активности: увеличение константы тромбиновой активности в 1,8 раза и интенсивности коагуляционного драйва в 1,3 раза относительно группы контроля. Максимальная амплитуда сгустка увеличена в 1,2 раза по отношению к контролю, что говорит о структурной гиперкоагуляции.

На фоне увеличения тромбиновой активности наблюдается тенденция к усилению антикоагулянтной и суммарной литической активности крови: увеличение показателей КСПА и ИРАС в 1,2 раза и более чем в три раза соответственно по отношению к контрольной группе.

Как видно из табл. 4, после проведения протаминизации динамика изменения анализируемых показателей НПТЭГ может быть оценена как сдвиг «вправо и вниз». При этом необходимо отметить, что изменения, выявленные на начальных этапах гемокоагуляции, стали более выраженными: время реакции Т1 статистически значимо увеличивается, а ИКК снижается по сравнению со значениями дооперационного периода.

Интраоперационно наблюдается снижение в 1,9 раза интенсивности протеолитического этапа фибринообразования (ИКД), существенное угнетение в 2,8 раза тромбиновой активности (КТА) на фоне структурной и хронометрической

гипокоагуляции (снижение МА и увеличение t_5) по сравнению с дооперационным этапом. Регистрируется уменьшение ИПС, то есть угнетение процесса «латеральной сборки» фибрина. Значительно возрастает в 3,6 раза суммарная литическая активность крови (ИЛРС) на фоне снижения антикоагулянтной активности (КСПА) по сравнению с дооперационным этапом (см. табл. 4).

В раннем послеоперационном периоде по результатам НПТЭГ отмечается частичная нормализация гемостатического потенциала крови, которая не достигает при этом уровня контрольной группы (см. табл. 4). По сравнению с интраоперационными значениями выявлены снижение Т1 и увеличение ИКК, рост тромбиновой активности на фоне структурной и хронометрической гипокоагуляции, частичная нормализация интенсивности протеолитического этапа фибринообразования (ИКД). Показатель ИПС, характеризующий процесс «латеральной сборки» фибрина, увеличивался и достигал предела контрольных значений. Таким образом, длительный прием аспирина у пациентов с ИБС сопровождается не только специфическим антиагрегантным эффектом на начальных этапах гемокоагуляции, но и усиливает тромбиновую активность на фоне увеличения антикоагулянтной и литической активности крови.

ОБСУЖДЕНИЕ

Лечение и профилактика ИБС с использованием ацетилсалициловой кислоты в оптимальных рекомендуемых дозах является адекватным способом антиагрегантного воздействия и приводит к значительному сокращению заболеваемости и смертности такой категории больных. Однако для своевременного выявления резистентности к препарату, угрозы геморрагических или тромботических осложнений применение аспирина требует правильной организации лабораторного мониторинга терапии в лечебных учреждениях, где это осуществляется.

К наиболее распространенным лабораторным подходам, позволяющим оценить дисфункцию тромбоцитов при назначении антиагрегантной терапии, можно отнести световую агрегатометрию и РОС-тесты, позволяющие получить быструю оценку функции тромбоцитов и измерить эффекты антитромбоцитарной терапии у постели больного. Классическая световая трансмиссионная агрегатометрия с использованием обогащенной тромбоцитами плазмы является золотым стандартом исследования функциональной активности тромбоцитов, в том числе и при оценке эффектов аспирина у больных ИБС [11]. Показано, что длительный прием аспирина (см. табл. 3) вызывал существенное угнетение агрегационной активности тромбоцитов, опосредованной различными индукторами в большей степени на адреналин и меньшей степени на коллаген. Различия в действии индукторов на агрегацию тромбоцитов на фоне лечения аспирином обусловлено, по-видимому, тем, что препарат почти не оказывает влияния на фосфатидилинозитидный, тирозинкиназный пути передачи сигнала и не блокирует эффекты сильных агонистов (тромбина и коллагена).

Однако данный лабораторный метод имеет ряд ограничений: он достаточно трудоемок и длителен в выполнении, имеет неудовлетворительную воспроизводимость, требует применения только цитратной плазмы, богатой тромбоцитами, что дает лишь фрагментарную информацию о состоянии гемостаза [12]. Кроме того, в данном методе исключен анализ процесса гемокоагуляции от момента инициации и (или) амплификации фиброгенеза до образования поперечно сшитого фибрина и его последующего лизиса, в которых тромбоциты играют ключевую роль [10].

Все большую распространенность приобретает РОС-тесты, позволяющие получить быструю оценку функции тромбоцитов и измерить эффек-

ты антитромбоцитарной терапии у постели больного. В нашем исследовании функция тромбоцитов оценивалась с помощью системы VerifyNow ARU® (Accumetrics, США). При дооперационной оценке эффективности аспиринотерапии у всех пациентов показатель ARU был менее 550%, что свидетельствует о наличии чувствительности пациентов к аспирину. Полученные результаты подтверждаются данными дооперационной агрегометрии: у всех исследуемых лиц снижена агрегация с двумя и более индукторами.

Однако с помощью данных лабораторных тестов получена лишь оценка агрегационной активности тромбоцитов, в то время как аспирин затрагивает все звенья системы гемостаза. Известно, что аспирин снижает доступность рецепторов к фибриногену, потенцирует выделение оксида азота из нейтрофилов и эндотелиальных клеток, снижает образование тромбина (в низких дозах на поверхности тромбоцитов, в более высоких (300 мг) – в плазме), активирует плазминоген и повышает фибринолиз. С целью возможности оценки фармакодинамического эффекта аспирина на весь процесс гемокоагуляции был использован метод низкочастотной пьезотромбоэластографии, позволяющий получить интегративную оценку всех звеньев гемостаза в режиме реального времени.

Результаты исследования, проведенного в дооперационный период, свидетельствуют о неоднозначном влиянии аспирина на все этапы фибриногенеза. С одной стороны, обнаружено снижение агрегационной активности тромбоцитов на начальном этапе гемостаза, характеризующееся увеличением времени реакции и снижением интенсивности контактной коагуляции по данным НПТЭГ, что совпадает с результатами других авторов [10]. С другой, снижение агрегационной активности тромбоцитов сопряжено с повышением прокоагуляционной активности крови. Согласно результатам экспериментальных работ С.Ю. Кочеткова (2015), применение аспирина у животных сопровождается увеличением концентрации фибриногена и протромбинового индекса, сокращением тромбинового времени, что указывает на наличие у аспирина прокоагулянтных эффектов [13]. По-видимому, неоднозначный эффект аспирина на систему гемостаза связан со снижением синтеза как тромбосана A2, так и простагличина, которые обеспечивают тромборезистентность эндотелиоцитов. Ингибирование синтеза простагличина способствует активации протромбогенного потенциала эндотелия и плазмы крови. Кроме того,

аспирин практически не подавляет экспрессию ЦОГ-2 в тромбоцитах, что приводит к продукции простагландинов (усиление агрегации и т.д.) и нарушению простагландин/тромбоксанового баланса и возникновением ретромбоза. Аспирин так же способен активировать фибринолиз через высвобождение активаторов плазминогена и «разрыхления» волокон фибрина, что совпадает с результатами данного наблюдения: более чем трехкратное увеличение показателя литической активности крови ИРАС по отношению к аналогичному показателю контрольной группы на дооперационном этапе.

Известно, что ИК ассоциировано с наличием множества факторов, воздействующих на функциональную активность тромбоцитов, среди которых: длительный контакт крови с поверхностью экстракорпоральных контуров аппарата ИК, гипотермия, высокие дозы гепарина с последующей нейтрализацией протамин-сульфатом, массивная инфузионно-трансфузионная терапия, операционная травма. Последствия этого воздействия не всегда предсказуемы и могут сопровождаться развитием постстрессорной дисфункцией тромбоцитов и, как следствие, развитием геморрагических осложнений, в том числе с развитием летального исхода. В представленном исследовании при оценке функционального состояния тромбоцитарного звена гемостаза после ИК наблюдалось еще большее, чем на дооперационном этапе угнетение начального этапа гемокоагуляции. Об этом свидетельствовали дальнейшее увеличение времени реакции Т1 и уменьшение интенсивности контактной коагуляции (см. табл. 4), что согласуется с результатами В.Н. Лазанюка (2016) [14], в которых также сообщалось о снижении показателей КТА и ИКД по отношению к аналогичным показателям контрольной группы. В раннем послеоперационном периоде функциональная активность тромбоцитов увеличивалась, но оставалась ниже дооперационного и контрольного уровней. Таким образом, длительная аспиринотерапия сопровождается снижением агрегационной активности тромбоцитов без развития кровотечений. На фоне умеренной структурной и хронометрической гипокоагуляции отмечается увеличение тромбиновой активности при полноценном формировании поперечношнитога фибрина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование у данной категории пациентов метода НПТЭГ позволяет в отличие от рутинных тестов оперативно в режиме реального времени

осуществить мониторинг функционального состояния системы гемостаза с интегративной оценкой всех ее звеньев. Применение метода НПТЭГ, по нашему мнению, является оптимальным для оценки в режиме реального времени состояния гемостатического потенциала крови у больных ИБС на фоне длительной аспиринотерапии при проведении коронарного шунтирования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ И ВКЛАД АВТОРОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи, и сообщают о вкладе авторов. Фанаскова Е.В., Груздева О.В., Барбараш О.А., Акбашева О.Е., Тютрин И.И., Пенская Т.Ю., Учасова Е.Г., Дылева Ю.А. – разработка концепции, дизайна, анализ и интерпретация данных. Груздева О.В., Фанаскова Е.В., Акбашева О.Е., О.А. Барбараш – проверка критически важного интеллектуального содержания. Барбараш О.А., Фанаскова Е.В., Груздева О.В. – окончательное утверждение для публикации рукописи

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии источников финансирования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Все участники исследования подписывали информированное согласие. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово (протокол № 22 от 10.12.2015 г.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Бубнова М.Г. Аспирин в профилактике атеротромбоза и коронарной болезни сердца // *Российский кардиологический журнал*. 2010; 4 (84): 115–121.
2. Goldman S., Copeland J., Moritz T., Henderson W., Zaidina K., Ovitt T et al. Improvement in saphenous vein graft patency after coronary artery bypass surgery with antiplatelet therapy: results of a Veterans Administration Cooperative Study // *Circulation*. 1988; 77: 1324–1332. DOI: 10.1161/01.cir.77.6.1324.
3. Рекомендации по лечению стабильной ишемической болезни сердца. ESC 2013 // *Российский кардиологический журнал*. 2014; 7 (111): 7–79.
4. Kallis P., Tooze J.A., Talbot S., Cowans D., Bevan D.H., Treasure T. Pre-operative aspirin decreases platelet aggregation and increases post-operative blood loss-prospective, randomised, placebo-controlled, double-blind

- clinical trial in 100 patients with chronic stable angina // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 1994; 8: 404–409. DOI: 10.1016/1010-7940(94)90081-7.
5. Алтарев С.С., Барбараш О.А. Ацетилсалициловая кислота у пациентов перед плановыми хирургическими вмешательствами // *CardioСоматика*. 2015; 3: 48–57.
 6. Чарная М.А., Дементьева И.И. Использование аспиртина при хирургических вмешательствах, сопряженных с высоким риском геморрагических осложнений // *Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова*. 2005; 11: 71–76.
 7. Kristensen K.L., Rauer L.J., Mortensen P.E. Kjeldsen B.J. Reoperation for bleeding in cardiac surgery // *Inter. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 2012; 14: 709–713. DOI: 10.1093/icvts/ivs050.
 8. Yüksel V., Huseyin S., Canbaz S., Ege T., Sunar H. Emergency reoperation after open heart surgery: ten years of experience // *Kardiocirurgia i Torakochirurgia Polska*. 2013; 10 (3): 195–198. DOI: 10.5114/kitp.2013.38090.
 9. Meybohm P., Zacharowski K., Weber C.F. Point-of-care coagulation management in intensive care medicine // *Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine*. 2013: 397–412. DOI: 10.1007/978-3-642-35109-9_33.
 10. Низкочастотная пьезотромбоэластография в диагностике гемостазиологических расстройств: методическое руководство / под ред. Тютрина и др. Томск: Меднорд–Техника, 2013: 67.
 11. Enriquez L.J. and Shore-Lesserson L. Point-of-care coagulation testing and transfusion algorithms // *British Journal of Anaesthesia* 103. (BJA/PGA Supplement). 2009: 114–122. DOI: 10.1093/bja/aer318.
 12. Голухова Е.З., Рябинина М.Н. Современные аспекты антиагрегантной терапии // *Креативная кардиология*. 2013; 1: 46–58.
 13. Кочетков С.Ю. Исследование влияния комбинированного применения ацетилсалициловой кислоты и производных 3-гидроксипирина и таурина на некоторые показатели гемостаза в эксперименте: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Саранск, 2015: 145.
 14. Лазанюк В.Н., Тарабрин О.А., Босенко В.И. Диагностика и комплексная коррекция геморрагических расстройств у детей, оперированных по поводу цианотических врожденных пороков сердца // *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2016; 1: 60–70. DOI: 10.17802/2306-1278-2016-1-60-70.

Поступила в редакцию 10.02.2017

Утверждена к печати 30.06.2017

Фанаскова Елена Викторовна, зав. кабинетом трансфузионной терапии; мл. науч. сотрудник, лаборатория исследований гомеостаза, отдел диагностики сердечно-сосудистых заболеваний, НИИ КПССЗ, г. Кемерово.

Груздева Ольга Викторовна, д-р мед. наук, зав. лабораторией исследований гомеостаза, отдел диагностики сердечно-сосудистых заболеваний, НИИ КПССЗ; доцент, кафедра патофизиологии, медицинской клинической биохимии, КемГМУ, г. Кемерово.

Акбашева Ольга Евгеньевна, д-р мед. наук, профессор, кафедра биохимии и молекулярной биологии, СибГМУ, г. Томск.

Тютрин Иван Илларионович, д-р мед. наук, профессор, кафедра анестезиологии и реаниматологии, СибГМУ, г. Томск.

Пенская Татьяна Юрьевна, врач, клиничко-диагностическая лаборатория; мл. науч. сотрудник, лаборатория исследований гомеостаза, отдел диагностики сердечно-сосудистых заболеваний, НИИ КПССЗ, г. Кемерово.

Учасова Евгения Геннадьевна, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория исследований гомеостаза, отдел диагностики сердечно-сосудистых заболеваний, НИИ КПССЗ, г. Кемерово.

Дылева Юлия Александровна, канд. мед. наук, науч. сотрудник лаборатории исследований гомеостаза, отдел диагностики сердечно-сосудистых заболеваний, НИИ КПССЗ, г. Кемерово.

Барбараш Ольга Леонидовна, д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор НИИ КПССЗ; зав. кафедрой кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии, КемГМУ, г. Кемерово.

(✉) Груздева Ольга Викторовна, e-mail: o_gruzdeva@mail.ru

УДК 616.132.2-089.86-085.273.5-036.8-073.7

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-145-155

For citation: Fanaskova E.V., Gruzdeva O.V., Akbasheva O.E., Tyutrin I.I., Penskaya T.Yu., Uchasova E.G., Dyleva Yu.A., Barbarash O.L. Possibility of application of low-frequency piezothromboelastography method for the evaluation of haemostatic potential of blood in coronary bypass surgery on the background of long aspirinotherapy. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 145–155

Possibility of application of low-frequency piezothromboelastography method for the evaluation of haemostatic potential of blood in coronary bypass surgery on the background of long aspirinotherapy

Fanaskova E.V.¹, Gruzdeva O.V.^{1,2}, Akbasheva O.E.³, Tyutrin I.I.³, Penskaya T.Yu.¹, Uchasova E.G.¹, Dyleva Yu.A.¹, Barbarash O.L.^{1,2}

¹ Scientific-Research Institute of complex problems of cardiovascular disease
6, Pine Boulevard, Kemerovo, 650002, Russian Federation

² Kemerovo State Medical University
22a, Str. Voroshilova, Kemerovo, 650002, Russian Federation

³ Siberian State Medical University
2, Moskow Tract, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To assess the hemostatic system on the aspirin therapy background using the VerifyNow Aspirin test, as well as examining platelet aggregation and low-frequency piezothromboelastography in patients with coronary artery disease during coronary artery bypass grafting.

Materials and methods. 100 people with coronary artery disease who were taking aspirin (75–100 mg daily) for more than 1 year were examined. The study was performed in the perioperative period of coronary bypass surgery without aspirin withdrawal. Evaluation of hemostasis was performed by the VerifyNow Aspirin test (USA), platelet aggregation (Helena Laboratories AggRAM™, Britain) and the low-frequency piezothromboelastography (ARP-01M “Mednord”, Russia).

Results. Patients included in the study were sensitive to aspirin when under long-term administration of a drug: indicator test was VerifyNow ARU $496,9 \pm 21,3\%$, the platelet aggregation to ADP and adrenaline was reduced by 46% and 52%, respectively. In the early postoperative period platelet aggregation of ADP decreased by 73,2%, collagen – 75,9%, and adrenaline – 82,64% in comparison with the control group. Perioperative hemorrhagic complications in the study group were not observed. Reduction of platelet aggregation after aspirin therapy was accompanied by an increase in thrombin activity of the blood, which allows for evaluation of the method of low-frequency piezothromboelastography (LPTEG). In the early postoperative period, the results of LPTEG, thrombin potential, and anticoagulant and fibrinolytic activity of blood were partially normalized without reaching the level of the control group.

Conclusion. For the evaluation of hemostasis under aspirin therapy it is advisable to apply the low-frequency piezothromboelastography, which in contrast to the VerifyNow test and traditional platelet aggregation, allows one to reveal a degree of impairment in thrombin blood activity and to conduct an integrative assessment on all aspects of hemostasis.

Key words: aspirin, VerifyNow Aspirin test, platelet aggregation, low-frequency piezothromboelastography, coronary artery bypass grafting.

REFERENCES

1. Bubnova M.G. Aspirin v profilaktike aterotromboza i koronarnoy bolezni serdtsa [Aspirin in the prevention of atherothrombosis and coronary heart disease] // *Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal Russian Journal of Cardiology*. 2010; 4 (84): 115–1211 (in Russian).
2. Goldman S., Copeland J., Moritz T., Henderson W., Zadina K., Ovitt T et al. Improvement in saphenous vein

- graft patency after coronary artery bypass surgery with antiplatelet therapy: results of a Veterans Administration Cooperative Study // *Circulation*. 1988; 77: 1324–1332. DOI: 10.1161/01.cir.77.6.1324.
3. Rekomendatsii po lecheniyu stabil'noy ishemicheskoy bolezni serdtsa. ESC 2013 [Recommendations for the treatment of stable coronary heart disease. ESC 2013] // *Rossiyskiy kardiologicheskii zhurnal – Russian Journal of Cardiology*. 2014; 7(111): 7–79 (in Russian).
 4. Kallis I., Tooze J.A., Talbot S. et al. Pre-operative aspirin decreases platelet aggregation and increases post-operative blood loss-prospective, randomised, placebo-controlled, double-blind clinical trial in 100 patients with chronic stable angina // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 1994; 8: 404–409. DOI: 10.1016/1010-7940(94)90081-7/
 5. Altarev S.S., Barbarash O.L. Atsetilsalitsilovaya kislota u patsiyentov pered planovymi khirurgicheskimi vmeshatel'stvami [Aspirin in patients prior to elective surgery] // *CardioComatika*. 2015; 3: 48–57 (in Russian).
 6. Charnaya M.A., Dementieva I.I. Ispol'zovaniye aprotinina pri khirurgicheskikh vmeshatel'stvakh, sopryazhennykh s vysokim riskom gemorragicheskikh oslozhneniy [Use of aprotinin in surgical interventions, associated with high risk of bleeding complications] // *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. – Pirogova Surgery. Journal of them N.I. Pirogov*. 2005; 11: 71–76 (in Russian).
 7. Kristensen K.L., Rauer L.J., Mortensen P.E. Kjeldsen B.J. Reoperation for bleeding in cardiac surgery // *Inter. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 2012; 14: 709–713. DOI: 10.1093/icvts/ivs050.
 8. Yksel V., Huseyin S., Canbaz S., Ege T., Sunar H. Emergency reoperation after open heart surgery: ten years of experience // *Kardiochirurgia i Torakochirurgia Polska*. 2013; 10 (3): 195–198. DOI: 10.5114/kitp.2013.38090.
 9. Meybohm P., Zacharowski K., Weber. CF. Point-of-care coagulation management in intensive care medicine // *Critical Care*. 2013; 17: 218. DOI: 10.1007/978-3-642-35109-9_33.
 10. Tyutrin I.I., Udut V.V., Shpisman M.N. Nizkочастотная п'езотромбоэластография в диагностике гемостазических расстройств: методическое руководство [Low-frequency peizotromboelastografiya in the diagnosis of hemostatic disorders: methodical manual]. Tomsk: Mednord–Technology Publ., 2013: 67 (in Russian).
 11. Enriquez L.J. and Shore-Lesserson L. Point-of-care coagulation testing and transfusion algorithms // *British Journal of Anaesthesia* 103 (BJA/PGA Supplement). 2009: 114–122. DOI: 10.1093/bja/aep318
 12. Goluhova E.Z., Ryabinin M.N. Sovremennyye aspekty antiagregantnoy terapii [Modern aspects of antiplatelet therapy] // *Kreativnaya kardiologiya – Creative cardiology*. 2013; 1: 46–58 (in Russian).
 13. Kochetkov S.Y. Issledovaniye vliyaniya kombinirovannogo primeneniya atsetilsalitsilovoy kisloty i proizvodnykh 3-gidroksipirina i taurina na nekotoryye pokazateli gemostaza v eksperimente: avtoref. dis. ... kand. med. nauk [Investigation of the effect of combined use of acetylsalicylic acid and derivatives of 3-gidroksipirina taurine and some indicators of hemostasis in the experiment: can. dis...]. Saransk, 2015: 145 (in Russian).
 14. Lazanyuk V.N., Tarabrin O.A., Bosenko V.I. Diagnostika i kompleksnaya korrektsiya gemorragicheskikh rasstroystv u detey, operirovannykh po povodu tsianoticheskikh vrozhdennykh porokov serdtsa [Diagnosis and comprehensive correction of hemorrhagic disorders in children undergoing surgery for cyanotic congenital heart disease] // *Kompleksnyye problemy serdechno-sosudistykh zabolevaniy – Complex problems cardiovascular diseases*. 2016; 1: 60–70 (in Russian). DOI: 10.17802/2306-1278-2016-1-60-70.

Received February 10.2017

Accepted June 30.2017

Fanaskova Elena V., Head of Cabinet of Ttransfusion Ttherapy; Researcher, Laboratory Hemostasis Research, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Disease, Kemerovo, Russian Federation.

Gruzdeva Olga V., DM, Head of the Laboratory Hemostasis Research, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Disease; Associate Professor of the Department of Pathophysiology, Medical Clinical Biochemistry, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation.

Akbasheva Olga E., DM, Professor of the Department of Biochemistry and Molecular Biology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Tyutrin Ivan I., DM, Professor of the Department of Anesthesiology and Intensive Care, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Penskaya Tatyana Yu., Researcher, Laboratory Hemostasis Research, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Disease, Kemerovo, Russian Federation.

Uchasova Evgeniya G., PhD, Researcher, Laboratory Hemostasis Research, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Disease, Kemerovo, Russian Federation.

Dyleva Julia A., PhD, Researcher, Laboratory Hemostasis Research, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Disease, Kemerovo, Russian Federation.

Barbarash Olga L., DM, Professor, Director of the Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences; Head of the Department of Cardiology and Cardiovascular Surgery, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation.

(✉) Gruzdeva Olga V., e-mail: o_gruzdeva@mail.ru

УДК 616.137.73-005.7-07:577.175.53

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-156–165

Для цитирования: Хабаров Д.В., Сюткина И.П., Королева Е.Г., Смагин А.А., Кочеткова М.В., Демура А.Ю. Динамика маркеров стресс-реакции при эмболизации маточных артерий. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 156–165

Динамика маркеров стресс-реакции при эмболизации маточных артерий

Хабаров Д.В., Сюткина И.П., Королева Е.Г., Смагин А.А., Кочеткова М.В., Демура А.Ю.

Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии (НИИКЭЛ)
Россия, 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Оценка иммунобиохимических маркеров стресс-реакции при эмболизации маточных артерий (ЭМА), оценка связи выраженности эндокринного и иммунного ответа с выраженностью болевого синдрома.

Материал и методы. Пациенткам ($n = 62$) в возрасте 31–56 лет с диагнозом «симптомная множественная миома тела матки» выполнена ЭМА, анальгезия достигалась внутривенным введением наркотических и ненаркотических анальгетиков. Исследован иммунобиохимический профиль стресс-реакции (IL-1, IL-6, TNF α , IL-4, IL-10, С-реактивный протеин (CRP), адренокортикотропный гормон (АКТГ), кортизол, глюкоза крови) в динамике, на четырех точках контроля (исходный уровень, через 2 ч после окклюзии маточных артерий, через 24 и 48 ч после операции). Болевой синдром оценивался по визуально-аналоговой шкале (ВАШ), с помощью гемодинамического профиля.

Результаты. Окклюзия маточных артерий и ишемия в миоматозных узлах ведет к развитию стресс-реакции: увеличение концентрации в сыворотке крови провоспалительных (IL-1, IL-6, TNF α) и противовоспалительных (IL-4, IL-10) цитокинов, CRP, гормонов стресса (АКТГ, кортизола), уровня гликемии. Болевой синдром разной степени интенсивности регистрируется в 100% случаев, 18% пациенток испытывали выраженные болевые ощущения (7–10 баллов по ВАШ).

Заключение. Максимальный прирост иммунобиохимических маркеров стресса совпадает по времени с максимальными проявлениями болевого синдрома. Выявлена необходимость оптимизации методов анальгезии при выполнении ЭМА с использованием в качестве контроля иммунобиохимических маркеров стресс-реакции, учитывая гемодинамический профиль и данные ВАШ.

Ключевые слова: эмболизация маточных артерий, стресс-реакция, болевой синдром, провоспалительные и противовоспалительные цитокины.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно мировым исследованиям, миома матки встречается у 20% женщин старше 30 лет и более чем у 40% женщин старше 40 лет. Альтернативой хирургическому лечению в настоящее время стало использование эмболизации маточных артерий (ЭМА) – наиболее щадящего

и минимально инвазивного, органосохраняющего метода [1, 2]. Операция эмболизации является малотравматичной, выполняется в условиях местной анестезии с элементами седации [3, 4]. Вместе с тем в результате эндоваскулярной операции в ближайшем послеоперационном периоде развивается клиническая картина постэмболического синдрома, одним из основных проявлений которого является боль различной интенсивности. Выраженность боли, скорее всего, определя-

✉ Хабаров Дмитрий Владимирович, e-mail: hdv@ngs.ru.

ется индивидуальной чувствительностью, которая зависит от характера антиноцептивной системы данной конкретной больной [2, 5, 6].

Системная реакция организма на хирургическую травму складывается из эндокринного стресс-ответа, включающего в себя активацию симпатической нервной системы, секрецию гормонов гипофиза, инсулинорезистентность и системный воспалительный (иммунный) ответ, проявляющийся продукцией цитокинов, реакцией острой фазы, нейтрофильным лейкоцитозом, пролиферацией лимфоцитов [7–9]. Для адекватного обеспечения защиты организма от боли необходимо контролировать интенсивность ноцицептивной информации от области повреждения на безопасном уровне на всем пути передачи данного сигнала, устранить стрессовые гемодинамические, эндокринные и метаболические реакции, предотвратить психологическое восприятия боли и сопутствующие ей эмоциональные реакции [9, 10]. Поэтому изучение маркеров стресс-реакции и оптимизация методов обезболивания при оперативных вмешательствах являются актуальной научной проблемой.

Цель исследования – оценка иммунобиохимических маркеров стресс-реакции при ЭМА, оценка связи выраженности эндокринного и иммунного ответа с выраженностью болевого синдрома.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проведены у 62 больных в возрасте 31–56 лет с диагнозом «симптомная множественная миома тела матки», находившихся в гинекологическом отделении клиники НИИКЭЛ. Критерии включения: верифицированный диагноз «интерстициальная или интерстициально-субсерозная множественная миома тела матки», проведение операции эмболизации маточных артерий, анестезиологический риск I–II по American Society of Anesthesiologists (ASA), отсутствие болевого синдрома, вызванного сопутствующей патологией.

Ангиохирургическое вмешательство производилось в условиях рентгенооперационной. Доступ к маточным артериям осуществлялся посредством пункции правой бедренной артерии по стандартной методике Сельдингера с использованием местной анестезии раствором лидокаина. В качестве эмболизата использовались микроэмболы Contour PVA 710–1000 microns и микроэмболы MeriMedical 500–700. В качестве рентген-контраста использовался йопамидол 370 мг/мл. Средняя продолжительность операции составила $(43 \pm 0,9)$ мин.

Обезболивание производилось с использованием наркотических и ненаркотических анальгетиков по стандартным показаниям для обеспечения адекватной анальгезии: внутривенное введение кетопрофена 100 мг с момента поступления пациентки в операционную и введение промедола на момент эмболизации маточных артерий.

Оценка эффективности проводилась на основе мониторинга гемодинамических показателей, динамической оценки маркеров стресс-реакции. В послеоперационном периоде пациентки заполняли дневник болевых ощущений, где им предлагалось дать характеристику болевому синдрому, в том числе с использованием визуально-аналоговой шкалы (ВАШ); оценить в динамике наличие, степень выраженности болей. При указании на наличие болевого синдрома предлагалось оценить интенсивность боли и ее влияние на повседневную деятельность, влияние на сон и качество жизни.

Производилась оценка иммунобиохимического профиля стресс-реакции, включавшая оценку уровня в сыворотке крови провоспалительных (IL-1, IL-6, TNF α) и противовоспалительных (IL-4, IL-10) цитокинов, С-реактивного протеина (CRP); оценка гормонального фона (гормонов стресса) – адренокортикотропного гормона (АКТГ), кортизола; оценка уровня гликемии.

Исследование цитокинов проводилось иммуноферментным методом с использованием тест-систем: Human IL-1beta Platinum ELISA Bender MedSystems GmbH, (Австрия BMS224HS); IL-10 Platinum ELISA, BMS215/2 BMS215HS, Bender MedSystems GmbH (Австрия); Human TNF-alpha Platinum ELISA, BMS223/4 BMS223HS Bender MedSystems GmbH (Австрия); CRP, HS (C-Reactive Protein) EIA3954 DRG International Inc. (США). Количественное определение адренокортикотропного гормона производили в плазме, обработанной ЭДТА, на анализаторе IMMULITE 2000 (Siemens, Германия), количественное определение кортизола в сыворотке крови – на анализаторе IMMULITE 2000 (Siemens, Германия). На анализаторе Beckman Coulter AU480 (Япония) проводилось определение уровня гликемии гексокиназным методом, С-реактивного протеина – иммунотубидиметрическим методом.

Гемодинамический профиль включал оценку электрокардиограммы (ЭКГ), частоты сердечных сокращений, неинвазивное измерение артериального давления (АД) (систолического, диастолического, среднего (ср)); мониторинг насыщения

гемоглобина кислородом. Исследование проводилось с использованием монитора Nihon Kohden (Япония).

Контроль вышеуказанных параметров производился на следующих этапах:

- 1) при поступлении пациентки в операционную (исходный уровень);
- 2) через 2 ч после окклюзии маточных артерий;
- 3) через 24 ч после операции;
- 4) через 48 ч после операции.

Статистическая обработка результатов производилась на персональном компьютере с помощью программы IBM SPSS Statistics Version 19 (19.0.0.1). Проверку нормальности распределения количественных показателей проводили с применением критерия Колмогорова – Смирнова. Для нормально распределенных выборок вычисляли следующие характеристики: среднюю арифметическую величину (M), стандартную ошибку средней арифметической (m). Данные в этом случае представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки средней ($M \pm m$). Для выборок, распределение которых отличалось от нормального, рассчитывали медиану (Me), первый ($Q1$) и третий ($Q3$) квартили, данные при этом представлены в виде медианы и межквартильного размаха ($Me (Q1; Q3)$). Для качественных признаков были рассчитаны абсолютная частота проявления признака (в виде количества обследуемых) и относительная частота проявления признака, %. Для определения статистической значимости различий в показателях, полученных в разные моменты времени, использовался критерий Фридмана. Для сравнения с исходным уровнем при соответствии нормальному закону распределения использовался парный критерий Стьюдента, в случае отсутствия согласия с нормальным законом – критерий Вилкоксона. Различие двух сравниваемых величин считали статистически значимым при уровне значимости

$p < 0,05$. Оценка взаимосвязи показателей проводилась посредством рангового коэффициента корреляции (r) по Спирмену. Корреляционная связь оценивалась как сильная ($r > 0,75$), умеренная ($0,25 < r < 0,75$) и слабая ($r < 0,25$). Корреляционную связь считали статистической значимой при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Средний возраст пациенток составил $43,3 \pm 1,19$ (31–56 лет); индекс массы тела $26,58 \pm 1,06$. Пациентки соответствовали I (15) и II (47) группе анестезиологического риска по классификации ASA. Сопутствующая патология характеризовалась стадией компенсации или ремиссии (табл. 1).

Т а б л и ц а 1

Структура сопутствующей патологии обследованных пациенток	
Показатель	Количество, абс. (отн., %)
Заболевания сердечно-сосудистой системы	24 (39)
Заболевания щитовидной железы	11 (18)
Анемия	10 (16)
Заболевания опорно-двигательной системы	7 (11)
Ожирение	12 (19)

Общие размеры матки не превышали 12–13 нед беременности, размеры миоматозных узлов до 70 мм в диаметре ($39,5 \pm 1,68$); узлы имели различную локализацию (исключение для ЭМА – субсерозные узлы на тонком основании).

Проведенный анализ не выявил значимых изменений гемодинамики. Уровень АДср не превышал ($80,9 \pm 1,86$) мм рт. ст. и не имел значимого прироста от исходных величин на всех этапах наблюдения (табл. 2).

Т а б л и ц а 2

Динамика уровня среднего АД (мм рт. ст.), $M \pm m$							
АДср исходно	АДср после ЭМА	Через 2 ч	Через 4 ч	Через 6 ч	Через 8 ч	Через 24 ч	Через 48 ч
$80,03 \pm 2,49$	$83,7 \pm 2,44$	$77,7 \pm 1,29$	$77,5 \pm 1,52$	$80,9 \pm 1,86$	$79,2 \pm 1,77$	$77,8 \pm 2,19$	$77,2 \pm 1,79$

Эндокринный ответ активируется афферентными стимулами из зоны операционного воздействия, хирургическое вмешательство является мощнейшим активатором секреции АКТГ и кортизола. При оценке эндокринно-метаболического компонента стресс-реакции после ЭМА отмечался статистически значимый прирост указанных гормонов. Мак-

симальные значения АКТГ регистрировались через 24 ч и составили $14,7 (10,2; 18,7)$ пг/мл (191% от исходного уровня $7,7 (5,8; 12,8)$ пг/мл), $p < 0,05$. В то же время зарегистрирован прирост сывороточной концентрации кортизола, достигающий $12,8 (10,2; 15,6)$ мкг/дл (150% от исходного уровня $8,6 (5,7; 10,9)$ мкг/дл), $p < 0,05$ (табл. 3).

Т а б л и ц а 3

Динамика уровня АКТГ и кортизола, <i>Me (Q1; Q3)</i>							
Параметр	Исходно	Через 2 ч	Прирост, %	Через 24 ч	Прирост, %	Через 48–60 ч	Прирост, %
АКТГ (пг/мл)	7,7 (5,8; 12,7)	13,5 (11,3; 17,5)*	175	14,7 (10,2; 18,7)*	191	13,7 (8,8; 17,8)*	179
Кортизол (мкг/дл)	8,6 (5,7; 10,9)	11,5 (9,5; 15,7)*	135	12,8 (10,2; 15,6)*	150	11,9 (9,9; 15,5)*	149

* $p < 0,05$ по сравнению с исходными уровнями.

В ответ на хирургическую агрессию увеличивается продукция глюкозы за счет гликогенолиза в печени, индуцируемого симпатической адренергической стимуляцией. Повышение концентрации глюкозы в крови пропорционально

интенсивности хирургической травмы. Уже через 2 ч после ЭМА уровень гликемии значимо превышал исходные значения и сохранялся значимо повышенным в течение 24 ч послеоперационного периода (табл. 4).

Т а б л и ц а 4

Динамика уровня гликемии после ЭМА, ммоль/л, <i>M ± m</i>					
Исходно	Сразу	Через 2 ч	Через 6 ч	Через 24 ч	Через 48 ч
5,42 ± 0,08	5,2 ± 0,09	6,06 ± 0,13*	7,13 ± 0,22*	6,13 ± 0,15*	5,98 ± 0,11

* $p < 0,05$ по сравнению с исходным уровнем.

Продукция цитокинов повышается пропорционально тяжести хирургической агрессии и отражает травматичность хирургического вмешательства. Эмболизация маточных артерий относится к малотравматичным и органосохраняющим методам лечения, что оказывает влияние на уровень выраженности как провоспалительного, так и противовоспалительного ответа. В целом в послеоперационном периоде наблюдался прирост концентрации цитокинов, но показатели во всех исследуемых группах не превышали референсных значений. При этом прирост концентрации как провоспалительных (IL-1, IL-6, TNFα), так и противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10) от исходного уровня достигал статистически значимых значений. Максимальный прирост концентраций провоспалительных и противовоспалительных цитокинов совпадал по времени и регистрировался на 2–3-и сут после ЭМА.

Содержание IL-1 увеличилось по сравнению с исходными данными и составило 6,4 (5,5; 7,4) пг/мл (148 % от исходного уровня 4,3 (3,6; 5,3)

пг/мл), $p < 0,05$. Более значительные изменения концентраций в динамике наблюдались при определении содержания IL-6 в послеоперационном периоде. Отмечен рост данного показателя до 9,7 (7,9; 11,2) пг/мл (237% от исходного уровня 4,1 (2,9; 5,2) пг/мл), $p < 0,05$. Изучение секреции TNFα в динамике показало прирост показателей до 0,93 (0,62; 1,3) пг/мл (182% от исходного уровня 0,54 (0,40; 0,62) пг/мл), $p < 0,05$. Также увеличились показатели CRP до 4,9 (1,09; 9,1) мг/л (216% от исходного уровня 2,27 (0,62; 3,57)), $p < 0,05$.

Параллельно с ростом концентрации провоспалительных цитокинов увеличивались показатели и противовоспалительных цитокинов. Так, уровень концентрации IL-10 через 48 ч после ЭМА составил 8,6 (6,5; 9,7) пг/мл (181% от исходного уровня 4,7 (3,5; 5,4) пг/мл), $p < 0,05$. Аналогичная ситуация прослежена с изменением содержания IL-4, концентрация которого увеличилась до 4,4 (2,9; 5,3) пг/мл (188% от исходного уровня 2,3 (1,4; 3,4) пг/мл), $p < 0,05$. Полные данные приведены в табл. 5.

Т а б л и ц а 5

Динамика показателей воспалительного (иммунного) ответа после ЭМА, <i>Me (Q1; Q3)</i>							
Показатель	Исходно	Через 2 ч	Прирост, %	Через 24 ч	Прирост, %	Через 48 ч	Прирост, %
TNFα, пг/мл	0,54 (0,40; 0,62)	0,52 (0,46; 0,70)	101	0,7 (0,55; 0,95)*	137	0,93 (0,62; 1,3)*	182
IL-1, пг/мл	4,3 (3,6; 5,3)	4,6 (4,2; 5,75)	106	5,9 (5,2; 6,4)*	137	6,4 (5,5; 7,4)*	148
IL-4, пг/мл	2,3 (1,4; 3,4)	3,8 (3,2; 4,4)*	164	4,3 (2,8; 5,2)*	186	4,4 (2,9; 5,3)*	188
IL-6, пг/мл	4,1 (2,9; 5,2)	5,9 (4,2; 6,3)*	144	8,3 (6,9; 9,3)*	202	9,7 (7,9; 11,2)*	237
IL-10, пг/мл	4,7 (3,5; 5,4)	5,5 (4,5; 6,3)	116	7,5 (6,1; 7,9)*	158	8,6 (6,5; 9,7)*	181
CRP, мг/л	2,27 (0,62; 3,57)	2,51 (0,61; 3,97)	110	4,2 (0,62; 7,48)*	185	4,9 (1,09; 9,1)*	216

* $p < 0,05$ по сравнению с исходными уровнями.

При анализе динамики болевых ощущений выявлено нарастание болевого синдрома через 4–8 ч после ЭМА с сохранением максимальных показателей в 1–2-е сут послеоперационного периода (табл. 6). Большая часть пациенток оценивали боль как слабую или умеренную, но 11 (18%

из 62) пациенток испытывали довольно сильные, 7–10 баллов по ВАШ, боли, которые повторно они бы не хотели ощущать. При этом 5 (8% из 62) женщин, описывали боль как «нестерпимую, ужасную, невыносимую», что отражалось в виде 10 баллов по ВАШ (табл. 7).

Т а б л и ц а 6

Оценка выраженности боли по ВАШ в динамике, баллы, <i>Me (Q1; Q3)</i>							
Исходно	Сразу	Через 2 ч	Через 4 ч	Через 6 ч	Через 8 ч	Через 24 ч	Через 48 ч
0	1 (0; 2)	3 (1; 4,75)	3 (2; 5)	3 (2; 5)	3 (2; 6)	3,5 (2; 5,75)	3 (2; 4)

Т а б л и ц а 7

Распределение пациенток по уровню болевых ощущений			
Срок наблюдения, ч	1–4 (слабая боль), абс. (отн., %)	5–7 (умеренная боль), абс. (отн., %)	8–10 (сильная боль), абс. (отн., %)
2	59 (95)	3 (5)	0 (0)
4	44 (71)	8 (13)	10 (16)
6	39 (63)	14 (22)	9 (15)
8	40 (64)	11 (18)	11 (18)
24	34 (56)	17 (27)	11 (18)
48	49 (79)	6 (10)	7 (11)

Наркотические анальгетики использовали у 17 (27% из 62) больных, в том числе при ВАШ более 7 баллов у 11 (18% из 62). Помимо жалоб на боли, 36 пациенток (56% из 62) отмечали слабость, головокружение. У 18 пациенток (29% из 62) боль негативно влияла на настроение; у 15 (24% из 62) боль тревожила или нарушала сон; у 10 (16% из 62) женщин приводила к нарушению мобильности.

Произведено исследование корреляционных связей между данными объективной оценки уровня стресс-маркеров и субъективным восприятием пациентками болевых ощущений. Максимальный прирост уровня стресс-гормонов и уровня гликемии совпадал по времени с динамикой выраженности болевого синдрома: максимальные концентрации АКТГ, кортизола и гликемии регистрировались в те же временные промежутки, что и максимальные баллы по ВАШ (рис. 1, 2). Коэффициент корреляции указанных параметров и субъективной оценки болей не превышал 0,18–0,25 ($p < 0,05$), что соответствует слабой степени корреляции на всех этапах исследования.

При оценке уровня болевых ощущений и цитокинового профиля в динамике выявлен опере-

жающий рост болевых ощущений. Максимальную боль пациентки отмечали через 6–8 ч после оперативного вмешательства, в то время как максимальный прирост уровня цитокинов регистрировался через 24–48 ч после оперативного вмешательства (рис. 3).

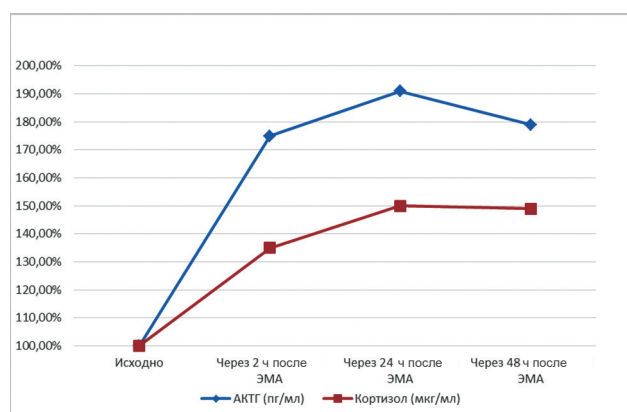


Рис. 1. Динамика прироста стресс-гормонов, % от исходного уровня

Fig. 1. Dynamics of stress hormones growth, % of the initial level

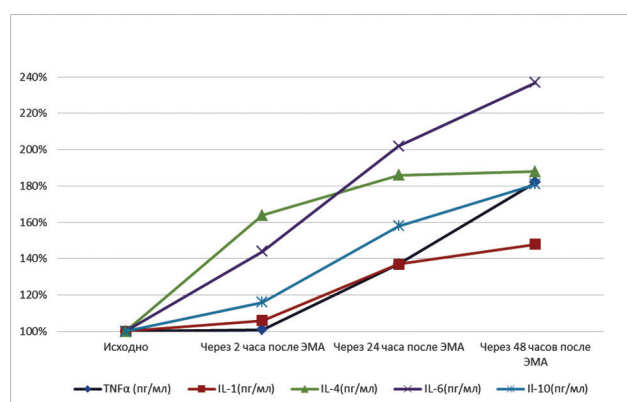


Рис. 2. Динамика прироста цитокинов, % от исходного уровня

Fig. 2. Dynamics of cytokine growth, % of baseline

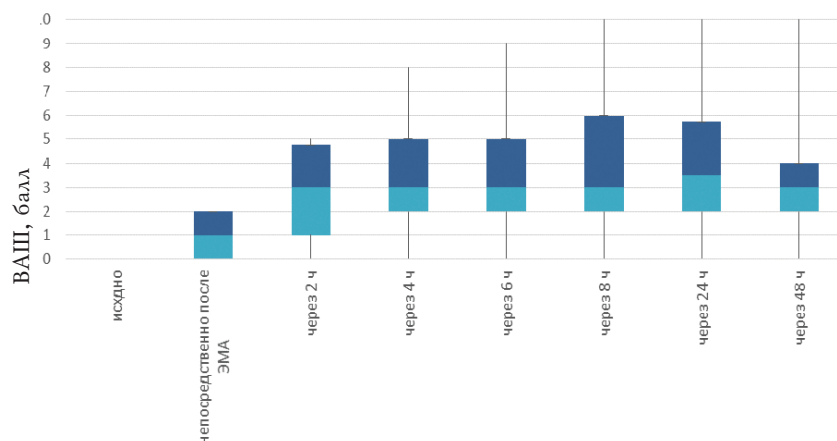


Рис. 3. Выраженность болевого синдрома по визуально-аналоговой шкале, балл

Fig. 3. Severity of pain syndrome according to visual-analogue scale, score

Тем не менее максимальные значения провоспалительных цитокинов ассоциировались с большей оценкой по ВАШ, при этом выявлена корреляционная зависимость средней степени выраженности между приростом IL-1, IL-6, $r = 0,48$ ($p < 0,05$) и $r = 0,56$ ($p < 0,05$) соответственно. При оценке взаимосвязи уровня болевых ощущений и прироста показателей IL-4, IL-10 и TNF α степень корреляционной связи не превышала слабой ($r < 0,19$ – $0,27$; $p < 0,05$) для данных показателей на всех этапах исследования.

ОБСУЖДЕНИЕ

Окклюзия маточных сосудов и снижение кровоснабжения в узлах миомы приводят к запуску стресса-ответа, проявляющегося как метаболическими, эндокринными, так и иммунными сдвигами. Безусловно, прирост исследуемых иммунобиохимических показателей не так выражен, как при обширных оперативных вмешательствах. Тем не менее увеличение концентраций АКТГ, кортизола, уровня гликемии в данном исследовании достигает статистически значимых величин от исходного уровня, так же как и прирост сыровоточных концентраций оцениваемых цитокинов в динамике.

В последние годы установлена значительная взаимозависимость нейроэндокринной и медиаторной цитокиновой систем. Увеличение концентрации провоспалительных цитокинов усиливает секрецию АКТГ, кортикостероидов и катехоламинов, белков острой фазы воспаления, то есть увеличивает интенсивность эндокринного стресс-ответа. В свою очередь, активация гормонального стресс-ответа оказывает стимулирующее влияние на продукцию цитокинов. Таким образом, взаимодействие этих систем имеет черты биологической связи [11, 12]. Так, зарегистри-

рованные изменения гуморального и иммунного статуса носят однонаправленный характер. Через 2 ч с момента оперативного вмешательства уровень цитокинов и стресс-гормонов начинает увеличиваться, достигая максимума через 24–48 ч.

В последнее десятилетие накоплен значительный фактический материал, который убедительно свидетельствует о существенной роли иммунологических механизмов в развитии болевых синдромов. Так, IL-1 в периферических тканях индуцирует синтез и высвобождение субстанции Р из терминалей первичных афферентных нейронов, что способствует формированию нейрогенного воспаления. В первые минуты после повреждения тканей глиальные клетки ЦНС реагируют на травму увеличением продукции иммунных факторов, в том числе провоспалительных цитокинов. IL-1 индуцирует центральную сенситизацию, воздействуя на одноименные рецепторы нейронов, или же посредством активации глиальных клеток, вырабатывающих медиаторы боли, – субстанцию Р, глутамат, NO-синтазу. Данные медиаторы изменяют нормальные процессы ноцицепции в ЦНС. Повышение уровня IL-1 в ЦНС способствует увеличению продукции ЦОГ-2 нейронами головного и спинного мозга с последующим повышением синтеза простагландина E₂, что, как известно, играет роль в механизмах гипералгезии [10–12]. Помимо того что IL-6 является основным провоспалительным цитокином, ответственным за индукцию системного воспалительного ответа, он способен вызывать сенситизацию как периферического, так и центрального звена ноцицептивной нервной системы, то есть усиливать интенсивность послеоперационного болевого синдрома. Есть данные, что IL-6 участвует в формировании гипералгезии, воздействуя преимущественно на спинальные механизмы ноцицепции. Известно,

что увеличение продукции провоспалительных цитокинов повышает интенсивность боли. В свою очередь интенсивные болевые ощущения способствуют увеличению продукции цитокинов [8, 9, 13]. Завершение воспалительного процесса обеспечивается по типу отрицательной обратной связи посредством синтеза цитокинов, обладающих преимущественным противовоспалительным действием: IL-4, IL-10, IL-13, TFR β . Они способны подавлять транскрипцию генов провоспалительных цитокинов в клетках-продуцентах, индуцировать синтез рецепторных антагонистов интерлейкинов (РАИЛ), усиливать образование растворимых рецепторов и посредством down-регуляции снижать плотность провоспалительных рецепторов на клетках. Так, IL-4 и IL-10 подавляют продукцию ПГЕ₂, супер- и нитроксидных радикалов, респираторный взрыв, а также блокируют образование провоспалительных цитокинов IL-1, IL-6, IL-8, TNF α , ингибируют синтез IL-2, ИНФ γ [14].

Механизмы иммунологических изменений многообразны, однако бесспорно, что они являются неотъемлемой частью всего комплекса патофизиологических реакций послеоперационного периода, инициируемые одними и теми же триггерами альтерации и физиологического стресса и имеющими тесную связь. Чрезмерное воспаление, сопровождающееся избыточной продукцией и секрецией агрессивных радикалов и молекул, может превратиться в патологический процесс, приводящий к массивным повреждениям клеток и тканей организма. В связи с этим система противовоспалительных (деактивирующих и ингибирующих) цитокинов так же необходима и физиологически оправдана для жесткого контроля и в случае необходимости для негативной регуляции воспалительного процесса, не допускающей гиперпродукции провоспалительных цитокинов.

Сенсорным и эмоциональным отражением альтерации является развитие боли. В послеоперационном периоде все пациентки в данном исследовании отмечали наличие болевого синдрома той или иной степени выраженности. Чуть более четверти пациенток оценивали боль как умеренную, около 1/6 пациенток характеризовали боль как сильную, невыносимую. Болевые ощущения сопровождаются психологическим дискомфортом, нарушениями сна. Выявленный максимальный прирост оцениваемых иммунобиохимических маркеров стресса совпадает по времени с максимальными проявлениями болевого синдрома. Однако корреляционная зависимость не выше сред-

ней степени выявлена только между увеличением уровня IL-1, IL-6 и субъективной оценкой пациентом болевого синдрома, что еще раз свидетельствует о многогранности нейрофизиологических процессов формирования болевых ощущений и психоэмоциональных факторов восприятия боли.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то что ЭМА относится к малоинвазивным оперативным вмешательствам, окклюзия маточных артерий и ишемия в миоматозных узлах ведет к развитию стресс-ответа, маркерами которого служат изменения иммунобиохимического профиля: увеличение концентрации в сыворотке крови провоспалительных (IL-1, IL-6, TNF α) и противовоспалительных (IL-4, IL-10) цитокинов, CRP; гормонов стресса – АКТГ, кортизола, уровня гликемии.

Изменения иммунобиохимического профиля в целом совпадают по направленности и достижению максимальных значений с динамикой выраженности болевого синдрома. Корреляционная зависимость между выраженностью иммунобиохимических сдвигов в послеоперационном периоде и субъективным восприятием болевых ощущений не превышала среднюю степень.

Основные проявления хирургического стресса развиваются в ближайшем послеоперационном периоде, клинически манифестируются развитием постэмболического синдрома, одним из основных проявлений которого является боль. Болевой синдром разной степени интенсивности регистрируется у 100% пациенток, в том числе 11 больных (18% из 62) испытывали довольно сильные боли (7–10 баллов по ВАШ), которые повторно они бы не хотели ощущать. Таким образом, требуется оптимизация методов анальгезии при выполнении ЭМА с использованием в качестве контроля иммунобиохимических маркеров.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии источников финансирования при проведении исследования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование одобрено решением локального этического комитета НИИКЭЛ (протокол № 115 от 24.03.2017 г.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Вихляева Е.М. Руководство по диагностике и лечению больных лейомиомой матки. М.: МЕДпресс-информ, 2004: 400.
2. Доброхотова Ю.Э., Капранов С.А., Кнышева И.Г., Хачатрян А.С., Ибрагимова Д.М., Алиева А.А., Джобав Э.М., Гришин И.И. Эмболизация маточных артерий в акушерстве и гинекологии // *Российский медицинский журнал*. 2014; 1: 42–47.
3. Гришин И.И., Хачатрян А.С., Ибрагимова Д.М., Доброхотова Ю.Э. Лечение субмукозных миоматозных узлов методом эмболизации маточных артерий // *Акушерство и гинекология*. 2014; 10: 48–51.
4. Кипров Р.Ю., Павлов П.И., Аксёнов В.В., Нехороших А.Ю., Шариков Н.А., Малхасян М.В., Некрасова Л.Ф., Некрасов П.С., Шевченко Д.Н. Ближайшие результаты рентгенохирургического лечения миом матки — эмболизации маточных артерий, выполненного в ОКБ ХМАО — Югры // *Бюллетень сибирской медицины*. 2012; 11 (5): 48–52.
5. Антропова Е.Ю., Коробов В.В. Оценка постэмболизационного синдрома у пациенток с миомой матки // *Медицинский альманах*. 2011; 6: 134–137.
6. Ситкин И.И. Эмболизация маточных артерий — эффективный и безопасный метод лечения миомы матки // *Вестник репродуктивного здоровья*. 2011; 2: 11–17.
7. Nicholson G., Hall G.M., Burren J.M. Peri-operative steroid supplementation // *Anaesthesia*. 1998; 53 (11): 1091–1094.
8. de Jongh R.F., Vissers K.C., Meert T.F. et al. The role of interleukin-6 in nociception and pain // *Anesthesia & Analgesia*. 2003; 96 (4): 1096–1103.
9. Овечкин А.М. Обзор материалов XI Всероссийской конференции «Стандарты и индивидуальные подходы в анестезиологии и реаниматологии», посвященных проблемам регионарной анестезии и послеоперационного обезболивания // *Регионарная анестезия и лечение острой боли*. 2014; 3: 5–15.
10. Овечкин А.М. Хирургический стресс-ответ, его патофизиологическая значимость и способы модуляции (обзор литературы) // *Регионарная анестезия и лечение острой боли*. 2008; 2 (2): 49–62.
11. Осипова Н.А., Петрова В.В. Боль в хирургии. Средства и способы защиты. М.: МИА, 2013: 446.
12. Осипова Н.А. Современные тенденции в науке и практике лечения боли // *Анестезиология и реаниматология*. 2014; 2: 26–32.
13. Jawa R.S., Anillo S., Huntton K. et al. Interleukin-6 in surgery, trauma, and critical care. Part II: clinical implications // *Journal of Intensive Care Medicine*. 2011; 26 (2): 273–287.
14. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб.: Фолиант, 2008: 552.

Поступила в редакцию 27.02.2017

Утверждена к печати 30.06.2017

Хабаров Дмитрий Владимирович, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория оперативной хирургии и лимфодетоксикации, зав. отделением анестезиологии и реанимации, НИИКЭЛ, г. Новосибирск.

Сюткина Ирина Павловна, мл. науч. сотрудник, лаборатория оперативной хирургии и лимфодетоксикации, врач анестезиолог-реаниматолог, НИИКЭЛ, г. Новосибирск.

Королева Елена Георгиевна, зав. отделением гинекологии, НИИКЭЛ, г. Новосибирск.

Смагин Александр Анатольевич, д-р мед. наук, профессор, вед. науч. сотрудник, лаборатория оперативной хирургии и лимфодетоксикации, врач анестезиолог-реаниматолог, НИИКЭЛ, г. Новосибирск.

Кочеткова Мария Витальевна, канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория оперативной хирургии и лимфодетоксикации, врач анестезиолог-реаниматолог, НИИКЭЛ, г. Новосибирск.

Демура Александр Юрьевич, мл. науч. сотрудник, лаборатория оперативной хирургии и лимфодетоксикации, врач анестезиолог-реаниматолог, НИИКЭЛ, г. Новосибирск.

(✉) Хабаров Дмитрий Владимирович, e-mail: hdv@ngs.ru.

УДК 616.137.73-005.7-07:577.175.53

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-156–165

For citation: Khabarov D.V., Siutkina I.P., Koroleva E.G., Smagin A.A., Kochetkova M.V., Demura A.Yu. The dynamics of the stress response markers in uterine artery embolization. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 156–165

The dynamics of the stress response markers in uterine artery embolization

Khabarov D.V., Siutkina I.P., Koroleva E.G., Smagin A.A., Kochetkova M.V., Demura A.Yu.

Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology
2, Timakova Str., Novosibirsk, 630117, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To estimate immunobiochemical markers of the stress response during uterine artery embolization (UAE), and to assess the connection of the endocrine and immune response with pain severity

Materials and methods: 62 patients (ages 31 to 56) with a diagnosis of multiple symptomatic uterine body fibroids were made EMA, and analgesia was achieved by intravenous injection of narcotic and non-narcotic analgesics. Immunobiochemical profile of the stress reaction was investigated (IL-1, IL-6, TNF α , IL-4, IL-10, C-reactive protein (CRP), adrenocorticotrophic hormone (ACTH), cortisol, blood glucose) at four (I ONLY SEE 3-SMT) time points (baseline at 2 hours after occlusion of the uterine arteries, and 24 and 48 hours after surgery). Pain syndrome was assessed using a visual analogue scale (VAS) by means of hemodynamic profile.

Results. The occlusion of the uterine arteries and ischemia myoma nodes lead to the development of the stress response, as an increase in the serum concentration of pro-inflammatory (IL-1, IL-6, TNF α) and anti-inflammatory (IL-4, IL-10) cytokines, CRP, stress hormones (ACTH, cortisol) levels of glucose was observed. Pain of various intensity was recorded in all cases, and 18% of patients experienced marked pain (7 to 10 points on the VAS).

Conclusion. The maximum increase in immunobiochemical stress markers coincides with the highest manifestations of pain. The necessity of optimization methods of analgesia when performing EMA with the use of immunobiochemical stress markers as a control reaction taking into account hemodynamic profile and VAS data was observed.

Key words: uterine artery embolization, stress reaction, pain, cytokines.

REFERENCES

1. Vikhlyayeva Ye.M. *Rukovodstvo po diagnostike i lecheniyu bol'nykh leyomiomoy matki* [Guide to diagnosis and treatment of patients with uterine leiomyoma]. M.: MEDpress-inform Publ., 2004: 400.
2. Dobrokhotova Yu.E., Kapranov S.A., Knysheva I.G., Khachatryan A.S., Ibragimova D.M., Aliyeva A.A., Dz-hobava E.M., Grishin I.I. Embolizatsiya matochnykh arteriy v akusherstve i ginekologii [Embolization of uterine arteries in obstetrics and gynecology] // *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal – Medical Journal of the Russian Federation*. 2014; 1: 42–47 (in Russian).
3. Grishin I.I., Khachatryan A.S., Ibragimova D.M., Dobrokhotova Yu.E. Lecheniye submukoznykh miomatoznykh uzlov metodom embolizatsii matochnykh arteriy [Treatment of submucous myomatous nodes by uterine artery embolization] // *Akusherstvo i ginekologiya – Obstetrics and Gynecology*. 2014; 10: 48–51 (in Russian).
4. Kiprova R.Yu., Pavlov P.I., Aksonov V.V., Nekhoroshikh A.Yu., Sharikov N.L., Malkhas'yan M.V., Nekrasova L.F., Nekrasov P.S., Shevchenko D.N. Blizhayshiye rezul'taty rentgenokhirurgicheskogo lecheniya miom matki – embolizatsii matochnykh arteriy, vypolnennogo v OKB KHMAO – Yugry [The nearest results of X-ray surgical treatment of uterine myomas – embolization of uterine arteries, performed in OKB KhMAO – Yugra] // *Byulleten' sibirskoy meditsiny – Bulletin of Siberian Medicine*. 2012; 11 (5): 48–52 (in Russian).
5. Antropova Ye.Yu., Korobov V.V. Otsenka postembolizatsionnogo sindroma u patsiyentok s miomoy matki [Evaluation of postembolization syndrome in patients with uterine myoma] // *Meditsinskiy al'manakh – Medical Almanac*. 2011; 6: 134–137 (in Russian).
6. Sitkin I.I. Embolizatsiya matochnykh arteriy – effektivnyy i bezopasnyy metod lecheniya miomy matki [Embolization of uterine arteries is an effective and safe method of treatment of uterine myoma] // *Vestnik reproduktivnogo zdorov'ya – Bulletin of Reproductive Health*. 2011; 2: 11–17 (in Russian).
7. Nicholson G., Hall G. M., Burrin J. M. Peri-operative steroid supplementation // *Anaesthesia*. 1998; 53 (11): 1091–1094.
8. de Jongh R. F., Vissers K. C., Meert T. F. et al. The role of interleukin-6 in nociception and pain // *Anesthesia & Analgesia*. 2003; 96 (4): 1096–1103.
9. Ovechkin A.M. Obzor materialov XI Vserossiyskoy konferentsii «Standarty i individual'nyye podkhody v anesteziologii i reanimatologii», posvyashchennykh problemam regionarnoy anestezii i posleoperatsionnogo obezbolivaniya [A review of the materials of the XI All-Russian Conference «Standards and Individual Approaches in Anesthesiology and Reanimatology», devoted to the problems of regional anesthesia and postoperative analgesia] // *Regionarnaya anesteziya i lecheniye ostroy boli – Regional Anesthesia and Acute Pain Management*. 2014; 3: 5–15 (in Russian).
10. Ovechkin A.M. Khirurgicheskii STRESS-otvet, yego patofiziologicheskaya znachimost' i sposoby modulyatsii (obzor literatury) [Surgical stress response, its pathophysiological significance and modulation methods (literature review)] // *Regionarnaya anesteziya i lecheniye*

ostroy boli – Regional Anesthesia and Acute Pain Management. 2008; 2 (2): 49–62 (in Russian).

11. Osipova N.A., Petrova V.V. Bol' v khirurgii. Sredstva i sposoby zashchity [Pain in surgery. Means and methods of protection]. M.: MIA Publ., 2013: 446.
12. Osipova N.A. Sovremennyye tendentsii v nauke i praktike lecheniya boli [Modern trends in the science and practice of pain management] // *Anesteziologiya i reanimatologiya – Russian journal of Anaesthesiology and Reanimatology*. 2014; 2: 26–32 (in Russian).
13. Jawa R.S., Anillo S., Huntoon K. et al. Interleukin-6 in surgery, trauma, and critical care. Part II: clinical implications // *Journal of Intensive Care Medicine*. 2011; 26 (2): 273–287.
14. Ketlinskiy S.A., Simbirtsev A.S. Tsitokiny [Cytokines]. SPb.: Foliant Publ., 2008: 552 (in Russian).

Received February 27.2017

Accepted June 30.2017

Khabarov Dmitriy V., DM, Senior Researcher, Surgical Lymphology and Lymphodetoxication Laboratory, Head of the Department Anesthesiology and Intensive Care, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Novosibirsk, Russian Federation.

Siutkina Irina P., Researcher, Surgical Lymphology and Lymphodetoxication Laboratory, Department Anesthesiology and Intensive Care, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Novosibirsk, Russian Federation.

Koroleva Elena G., Head of the Department of Gynecology, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Novosibirsk, Russian Federation.

Smagin Alexander A., DM, Senior Researcher, Surgical Lymphology and Lymphodetoxication Laboratory, Department of Anesthesiology and Intensive Care, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Novosibirsk, Russian Federation.

Kochetkova Marya V., PhD, Researcher, Surgical Lymphology and Lymphodetoxication Laboratory, Department of Anesthesiology and Intensive Care, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Novosibirsk, Russian Federation.

Demura Alexander Y., Researcher, Surgical Lymphology and Lymphodetoxication Laboratory, Department of Anesthesiology and Intensive Care, Research Institute of Clinical and Experimental, Novosibirsk, Russian Federation.

(✉) Khabarov Dmitriy V., e-mail: hdv@ngs.ru.

УДК 616.136.7:616.146.2]-089.844

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-166–175

Для цитирования: Идигов А.М., Гудков А.В., Семичев Е.В., Бушланов П.С. От первого сосудистого шва к реконструктивно-восстановительной хирургии при патологии сосудов почек. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 166–175

От первого сосудистого шва к реконструктивно-восстановительной хирургии при патологии сосудов почек

Идигов А.М., Гудков А.В., Семичев Е.В., Бушланов П.С.

Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

РЕЗЮМЕ

Цель настоящей статьи — познакомить читателей с методами заместительной пластики сосудов почек. Среди заболеваний почечных артерий, требующих оперативного вмешательства, наиболее распространены стеноз почечной артерии (у больных артериальной гипертензией составляет 3–10%), а также травматические повреждения (летальность при повреждениях почечных артерий достигает 35%). Основными методами заместительной пластики сосудов почек являются использование синтетических протезов (из политетрафторэтилена или полиэфирных нитей с различными покрытиями), аутоoven (большая подкожная вена), аутоотрансплантатов из перикарда, брюшины, фасции, а также различные способы резекции почечной артерии с последующим наложением анастомозов.

Несмотря на многообразие перечисленных методов пластики магистральных сосудов, необходим поиск новых способов и материалов, которые удовлетворяли бы следующим требованиям: достаточные размеры для пластики дефектов; стойкость к инфекции; гарантированное отсутствие иммунологической реакции; мобильность, достаточная эластичность и прочность при длительном функционировании в качестве протеза сосуда.

Ключевые слова: почечная артерия, пластика сосудов, синтетический трансплантат, аутовена, аутоотрансплантат, сосудистый шов.

ВВЕДЕНИЕ

В начале XXI в. распространенность окклюзионно-стенотических поражений почечных артерий у пациентов, страдающих артериальной гипертензией, составляет 3–10%. По данным зарубежных исследователей, стеноз почечных артерий также наиболее часто встречался у пациентов с высоким риском развития сердечно-сосудистых заболеваний.

Отмечено, что у 30% людей, которым выполнена катетеризация сердца, при скрининговой ангиографии почечных артерий выявлялся стеноз. При этом в данной группе пациентов значимый

стеноз почечных артерий (более 50%) выявлялся в 11–18% случаев. Установлено, что значимый стеноз почечных артерий встречался у 22–59% пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) и характеризовался прогрессированием. В случае, когда степень стеноза составляла более 75%, полная окклюзия наступала через 12–60 мес в 39% случаев. Одновременно с атеросклеротическим поражением почечных артерий прогноз заболевания и результаты лечения расцениваются как неблагоприятные. Выживаемость пациентов с заболеваниями периферических артерий и значимым уменьшением диаметра почечной артерии в отдаленные сроки наблюдения были в два раза меньше, чем у пациентов с нормальной анатомией сосудов почек [1, 2].

✉ Идигов Асхаб Махмудович, e-mail: Idigov.84@mail.ru.

Частота развития повреждений сосудов брюшной полости после ножевых ранений достигает 10%, после огнестрельных ранений 20–25%, при тупых травмах живота 5–10%, при проникающих ранениях 90–95%. При этом летальность при повреждениях почечных артерий достигает 35% [3–5]. Для оперативной диагностики незаменимы селективная ангиография, выделительная урография и компьютерная томография [3, 6]. Еще одной патологией почечных артерий, нуждающейся в хирургической коррекции, является аневризма почечной артерии. По данным аутопсии, аневризма почечной артерии встречается в 0,01–0,09% случаев. Несмотря на столь малую долю, абсолютное количество этих пациентов довольно велико. Средний возраст пациентов с аневризмой почечной артерии составил 40–60 лет, то есть это работоспособное население, у многих есть несовершеннолетние дети, в данной группе большинство – женщины [3].

Без реконструктивных операций не обходится пересадка почки, при этом ситуация осложняется при аномалиях сосудов почек. Имеют практическое значение длина и диаметр сосудов и мочеточника [4–6]. Часто после пересадки почек развивается стеноз почечных артерий, что требует выполнения повторных реконструктивных операций. По данным зарубежных авторов, частота развития стеноза составила 4,6% на 415 трансплантированных почек [7].

Все вышеперечисленное определяет социальную и медицинскую значимость проблемы реконструктивно-восстановительной хирургии сосудов почек. Поэтому целью данной публикации является анализ методов заместительной пластики сосудов почек.

ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ РЕКОНСТРУКТИВНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОЙ ХИРУРГИИ СОСУДОВ ПОЧЕК

Поскольку реконструктивно-восстановительная хирургия сосудов почек имеет свою предтечу, предшественника, «первую ласточку», то проводить подобный анализ невозможно без краткого исторического очерка развития ангиохирургии. К сожалению, после длительных поисков в доступной литературе не обнаружен первоисточник о зарождении ангиохирургии как специальности. Однако косвенные сведения имеются. Так, в своих трудах Н.И. Напалков и А.В. Штейнле с соавт., ссылаясь на оригинал, анализируют казуистическое наблюдение – выписку из письма хирурга F. Lambert из Ньюка-

стла (штат Новый Южный Уэльс) своему коллеге – доктору S. Hunter. Из письма следует, что 15 июня 1759 г. хирурги A. Hallowel и F. Lambert при выполнении венесекции повредили плечевую артерию и наложили на нее шов. На 34-е сут пациент покинул лечебное учреждение с сохраненной верхней конечностью. Маловероятно, что результат лечения был хорошим или отличным. Нет сомнений, что было остановлено кровотечение, но никак не восстановлен кровоток. Вполне логично, что в плечевой артерии образовался тромб, а жизнеспособность конечности обеспечивалась за счет коллатералей [12–14]. Однако это казуистическое наблюдение XVIII в. создало прецедент в мышлении хирургов, с этого момента стало очевидно, что поврежденные и патологически измененные сосуды достойны реконструктивно-восстановительного лечения. Уже более 250 лет этой тематикой занимается не одно поколение хирургов, сердечно-сосудистых хирургов, травматологов, нейрохирургов, урологов и др.

Объективные и субъективные трудности в наложении сосудистого шва способствовали развитию альтернативного – «бесшовного» направления реконструктивно-восстановительной ангиохирургии. Хирург из США профессор R. Abbe в 1894 г. представил результаты своих экспериментов на овцах. Результаты применения стеклянных трубок с закругленными концами, фиксированными двумя лигатурами и связанными между собой, были впечатляющими.

В 1915 г. французский хирург, профессор M. Tiffier продемонстрировал успешное применение серебряных парафинизированных трубок, его идеи были успешно реализованы в период Первой мировой войны. В время Второй мировой войны американские хирурги B. Bratfort, M.J. Moore и их канадский коллега C.E. Stewart применили для временного протезирования металлические, пластиковые и стеклянные трубки, результаты признаны спорными. Успешными были признаны труды американского хирурга A.H. Blakemore. Он был убежден в хорошей переносимости виталия тканями человеческого тела, а потому применял насаженные на аутовенозный трансплантат виталиевые трубки. Результаты оценили как отличные, что имело большой коммерческий успех. Государство профинансировало их производство, и трубки из виталия разослали в передовые госпитали как табельный расходный материал [15].

Оценивая итоги лечения поврежденных сосудов во Второй мировой войне, нельзя игнорировать статью De Bakey, F.A. Simeone.

Беспристрастно к методам лечения и авторам проанализирован 2 471 случай лечения ранения артерий, который выявил, что временное протезирование, обеспечивающее сохранение кровотока с последующей постепенной закупоркой протеза обеспечивает лучшие условия для развития коллатералей, чем лигатура. Одновременно было отмечено, что применение «бесшовных методов» в хирургии малоэффективно [16].

Опыт лечения повреждений артерий и вен во Второй мировой войне бесследно не прошел и ускорил развитие ангиохирургии. Результатом стало усовершенствование хирургического инструментария, игл, атравматического шовного материала. Появились баллоны-катетеры Фогарти и новые синтетические протезы. Опыт локальных войн в Корее (1950–1953) и во Вьетнаме (1965–1973) был подробно изучен и проанализирован. Установлено, что в результате применения раннего «агрессивного» восстановительного подхода количество выполненных ампутаций снизилось с 70% до 10–15%. Поэтому с середины XX в. отработка навыка сосудистого шва была включена в программу образовательной подготовки общих хирургов.

В последующих локальных войнах и вооруженных конфликтах в комплексе с сокращением сроков эвакуации это привело к еще лучшим результатам лечения [17].

Таким образом, к середине XX в. для восстановления целостности кровеносного сосуда существовало два способа: сосудистый шов, венозная аутопластика и протезирование [11, 15, 17]. При этом сосудистый шов был возможен только в том случае, если диастаз между концами сосуда не превышал 2,0 см. Венозная аутопластика и протезирование были показаны при дефектах сосудов.

К середине XX в. в крупных городах экономически развитых стран проблема лечения повреждений артерий и вен при своевременной эвакуации пострадавших в специализированное лечебное учреждение, конечно, окончательно не была решена, но наметились положительные тенденции, уже не существовало фатальной неизбежности ампутаций конечностей и летальных исходов [17]. Улучшение качества оказания первой медицинской помощи, сокращение времени эвакуации раненых с повреждениями магистральных сосудов конечностей, непрерывное совершенствование стрелкового оружия с появлением среднескоростных (до 300–750 м/с) и высокоскоростных (до 750–1200 м/с) ранящих снарядов с максимальной кинетической энергией,

приводящих не только к разрыву тканей по траектории ранящего снаряда, но и к образованию ударной волны и волны сжатия, а также временной пульсирующей полости [5, 19] приводили не только к травматическому шоку с последующим развитием травматической болезни, но и к образованию обширных дефектов тканей, в том числе артерий и вен. Остро возникла проблема разработки способа замещения дефекта кровеносного сосуда в условиях отсутствия синтетических протезов и невозможности замещения дефекта аутовеной.

Разработанный к этому времени Г.А. Илизаровым метод чрескостного компрессионно-дистракционного остеосинтеза позволял создавать оптимальные условия не только для костной регенерации, но и для поврежденных артерий и вен [20]. Это подтверждают публикации ряда авторов, которые применяли чрескостный остеосинтез для регенерации при огнестрельных костно-сосудистых повреждениях конечностей [21–25].

Таким образом, в настоящее время арсенал методов реконструктивно-восстановительной хирургии сосудов представлен сосудистым швом, аутовенозной пластикой, протезированием синтетическими имплантатами и возбуждением регенерации за счет дистракционных усилий в аппарате чрескостного остеосинтеза. При ближайшем рассмотрении вполне понятно, что из этих четырех методов для пластики сосудов почек приемлемы только первые три.

Принципиальная возможность инфекционных осложнений определяет невозможность применения синтетических материалов. Частота этих осложнений достаточно высока – 2,5–12% всех реконструктивных операций на аорте и артериях нижних конечностей. [12] Синтетические протезы хорошо зарекомендовали себя при работе в крупных магистральных артериях, но только не там, где имеется хотя бы намек на инфицирование. Например, при стенозе почечных артерий накладывают аорто-ренальный обходной анастомоз либо гепато-ренальный шунт, при этом предлагается использование имплантов из политетрафторэтилена или полиэфирных нитей в виде сосудистой вставки или сосудистых заплат [13].

В качестве сосудистых трансплантатов был изучен ряд аутоканей: брюшинно-апоневротический лоскут, почка, лоскут диафрагмы, надкостница, перикард и др. Широкого применения в клинической практике эти материалы не нашли [14].

ИСКУССТВЕННЫЕ КРОВЕНОСНЫЕ ПРОТЕЗЫ

Существуют также сосудистые протезы (полиэфирные, вязаные) с покрытием из хитозана, содержащего 46% аминок групп. Хитозан представляет собой полимер, получаемый из природного полисахарида хитина частичным гидролизом ацетамидных групп. Растворимость хитозана в воде зависит от его молекулярной массы и соотношения D-глюкозамина и N-ацетил-D-глюкозамина в молекуле полимера. Хитозан, используемый для пропитки сосудистых протезов, снижает их проницаемость для воды и крови, частично нейтрализует отрицательный электрический заряд и проявляет некоторую антитромбогенность. Следует отметить, что хитин и его производные (хитозан) не являются аллогенными для человеческого организма соединениями [29].

Также известно, что при изготовлении искусственных кровеносных сосудов (протезов) и других медицинских изделий применяются нерастворимые в воде комплексы гиалуроновой кислоты с природными полисахаридами и белками, содержащими имино- или аминок группы: хитозан, полиаминогалактозамин, триэтаноламина альгинат, желатин, казеин, кератин, коллаген, миоцин, фиброин и др. [30–33]. Недостатком вышеописанных полимерных комплексов является использование в композициях с гиалуроновой кислотой животных белков, которые могут иметь антигенные свойства, или неаллогенных тканям человеческого организма полисахаридов.

А.В. Лебедев провел экспериментальные исследования на животных с применением лавсановых протезов. Если применение протезов в условиях инфицированных ран сопровождалось гибелью многих животных от кровотечений, острых тромбозов, то после операций в асептических условиях также имели место тромбозы и кровотечения, несмотря на применение антибиотиков и использование протезов с антимикробным волокном летила-ном. Недостаток этого способа состоит в том, что синтетические протезы в организме больного являются инородным телом, инфицируются эндогенно, тромбируются, обызествляются, нагнаиваются с последующими профузными кровотечениями, формированием ложных аневризм, образованием аорто-кишечных, аорто-кавальных свищей [34].

ШУНТИРОВАНИЕ АУТОВЕНОЙ И ТРАНСПЛАНТАТАМИ

Известен способ шунтирования реверсированной аутовеной, особенно часто он применяется при окклюзирующих поражениях бедренно-под-

коленного сегмента [30]. На первый взгляд, большая подкожная вена является наилучшим материалом для сосудистой пластики и широко используется для аутопротезирования. Однако диаметр большой подкожной вены чаще всего не соответствует диаметру сосуда, подлежащего аутопластике. С одной стороны, для артериальных стволов такое несоответствие значимо в отличие от венозных, диаметр которых в 1,5–2,0 раза больше одноименных артерий. С другой стороны, использование иных материалов в пластике вен неприемлемо в связи с особенностями венозной гемодинамики. В качестве одного из методов пластики почечных сосудов можно использовать способ сосудистого анастомоза «конец в бок», который осуществляется путем наложения непрерывного обвивного шва [35].

Недостатком является невозможность формирования анастомоза описанной выше техникой снаружи внутрь в ситуациях, когда заднюю стенку одного из сосудов невозможно мобилизовать, либо сосуд обладает ограниченной подвижностью (аорта, нижняя полая, воротная вены), либо имплантируемый сосуд обладает незначительной длиной после его резекции (печеночные, почечные вены). Также данный способ технически сложен при внутриполостном расположении реконструируемых сосудов, следовательно, удлиняется продолжительность сосудистого этапа операции и, соответственно, увеличивается время ишемии органов и тканей, снижается качество наложения анастомоза, что повышает риск развития тромбоза после реконструкции и реперфузионного синдрома.

Существует способ пластики кровеносных сосудов, заключающийся в закрытии дефектов артерий трансплантатом из вены пуповины человека, который закрепляют на области дефекта обвивным швом из шелковой или синтетической нити. Этот способ неприемлем в экстремальных условиях, требует постоянного пополнения консервированных материалов, приводит к частому развитию аневризм в месте анастомоза или прорезыванию швов с последующим кровотечением [36, 37].

Есть способ протезирования с использованием внутренней подвздошной артерии. Сосуды почки пересекают с сохранением максимально возможной длины. Накладывают дистальные анастомозы ветвей почечной артерии с ветвями внутренней подвздошной артерии «конец в конец» с одновременным проведением трансартериальной гипотермической перфузии. Выполняют проксимальный анастомоз ствола внутренней

подвздошной артерии с аортой «конец в бок», сшивают почечную вену [38]. Недостатками в данном случае являются ограниченность использования внутренней подвздошной артерии в связи с сочетанными поражениями почечных артерий и подвздошно-бедренных сегментов, функциональной значимостью в кровоснабжении нижней конечности и органов таза, большая травматичность и удлинение времени операции.

Пластика почечной артерии U-образным венозным трансплантатом заключается в заборе большой подкожной вены бедра с притоком. Выделяют почечную артерию, осуществляют ее резекцию, инверсионно аутовену анастомозируют с ветвями почечной артерии «конец в конец» с уже разрушенными венозными клапанами, а проксимальный анастомоз ствола большой подкожной вены с аортой накладывают «конец в бок» [39]. Несомненны значительные ограничения из-за трудностей в подборе U-образного трансплантата и его вшивании. Наличие венозных клапанов, разрушаемых в период подготовки ауотрансплантата, приводит к травме интимы и повышает риск осложнений в послеоперационном периоде.

В реконструктивно-восстановительной хирургии почечных вен используют ксенотрансплантаты и гомотрансплантаты (бычьи вены, перикард, вены донора) [40, 41]. Низкая биосовместимость этих замещающих материалов является одновременно проблемой и недостатком этих способов. Тем не менее по биосовместимости лучшими результатами отличаются ауотрансплантаты из фасции, перикарда, брюшины, стенки тонкой кишки и желудка. Самыми лучшими результатами является применение большой подкожной вены нижней конечности или латеральной подкожной вены руки [42–44]. Одновременно низкая состоятельность швов и развития тромбообразующих соединительнотканых рубцов, фиксирующих венозные ауотрансплантаты, обуславливают недостаток способа [45]. Подготовка ауопластических материалов требует увеличения количества членов хирургической бригады, дополнительной интраоперационной травматизации и продолжительности операции [46, 47].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Более чем 250-летняя история ангиохирургии отмечена большими достижениями. Разработана оперативная техника, инструментарий, диагностическая и лечебная аппаратура. Одновременно с другими отраслями медицины сохраняется ряд проблем, решить которые нелегко. Многообразие методов и материалов для пластики сосудов

почек и ряд их типичных недостатков позволяют утверждать, что решение проблем реконструктивно-восстановительной хирургии сосудов почек далеко от окончательной реализации. Сегодня определены четкие направления оптимизации качества имплантатов для реконструктивно-восстановительного лечения сосудов почек: стойкость к инфекции; достаточные размеры для пластики дефектов; максимальное снижение иммунологической реакции; эластичность, прочность и мобильность при длительном функционировании в качестве протеза сосуда. У хирургов нет единства в показаниях и противопоказаниях к различным оперативным вмешательствам. Отсутствуют тактические алгоритмы профилактики и устранения возможных осложнений при реконструктивно-восстановительных операциях на сосудах почек. Требуется уточнение реабилитационной тактики и мероприятий по диспансеризации пациентов после оперативного лечения.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии источников финансирования при проведении исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. L'Heureux N., Dusserre N., Konig G., Braden V., Keire P., Wight T.N., Chronos N.A.F., Kyles A.E., Gregory C.R., Hoyt G., Robbins R.C., McAllister T.N. Human tissue-engineered blood vessels for adult arterial revascularization // *Nature Medicine*. 2006; 12: 361–365. doi: 10.1038/nm1364.
2. Фетисов Н.Е. Аутопластика свободным лоскутом надкостницы боковых дефектов брюшной аорты и крупных магистральных артерий: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Астрахань, 1968: 21.
3. Штейнле А.В., Ефтеев А.А., Бодоев Б.В., Выжанов С.В., Попёнов О.В., Скурихин И.М., Подкорытов А.А., Коробов С.В. Хирургия повреждений сосудов живота // *Сибирский медицинский журнал*. 2009; 24 (1): 147–157.
4. Военно-полевая хирургия локальных войн и вооруженных конфликтов: руководство; ред. Е.К. Гуманенко, И.М. Самохин. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.studentlibrary.ru>.
5. Военно-полевая хирургия: национальное руководство; ред. И.Ю. Быков, Н.А. Ефименко, Е.К. Гуманенко. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009: 816.
6. Штейнле А.В. Ангиография при повреждениях магистральных сосудов конечностей // *Сибирский медицинский журнал*. 2008; 23 (1): 99–111.

7. Lopez P.P., Ginzberg E. Vascular trauma. Surgery: basic science and clinical evidence; eds. J. Norton, P.S. Barie, R.R. Bollinger, A.E. Chang, S. Lowry, S.J. Mulvihill, H.I. Pass, R.W. Thompson. 2 ed. Ch. 29. Springer, 2008: 521–544.
8. Beckmann J.H., Jackobs S., Klempnauer J. Arterial reconstruction in kidney transplantation // *Transplantationsmedizin*. 2008; 2: 7–12.
9. He B., Mitchell A. A novel technique for reconstruction of multiple renal arteries in live donor kidney transplantation: a case report and literature review // *Transplant. Proc.* 2012; 44 (10): 3055–3058. doi:10.1016/j.transproceed.2012.03.054.
10. Gluck Th. Ueber zwei Falle von aortenaneurysmen nebst klemmenverschlusses und der naht der blutgefasse // *Arch. F. Klin. Chir. Bd.* 1983; 28: 23–26.
11. Wilms H., Halbfass H.J., Matthias K. Treatment of renal artery stenosis following kidney transplantation // *Chirurg*. 1984; 55 (6): 400–403.
12. Напалков Н.И. Шов сердца и кровеносных сосудов. Москва: Тип Простакова, 1900: 212.
13. Штейнле А.В., Дудузинский К.Ю., Ефтеев А.А., Бодоев Б.В., Выжанов С.В., Швагерус В.В., Попёнов О.В., Скурихин И.М., Маслов Е.А. Временное протезирование при ранениях магистральных сосудов конечностей (аналитический обзор) // *Сибирский медицинский журнал*. 2008; 23 (4): 120–129.
14. Штейнле А.В. От лигатурного лечения до реконструктивной ангиохирургии (к 250-летию сосудистого шва) // *Бюллетень сибирской медицины*. 2010; 1: 84–90.
15. Штейнле А.В. История лечения повреждений магистральных артерий с XVII века до Второй мировой войны // *Сибирский медицинский журнал*. 2008; 23 (1): 85–93.
16. De Bakey, Simeone F.A. Battle injuries of the arteries in world war II: An analysis of 2471 cases // *Ann. Surg.* 1946; 123 (4): 534–579.
17. Штейнле А.В. Реконструктивно-восстановительная хирургия повреждений магистральных артерий после Второй мировой войны // *Сибирский медицинский журнал*. 2008; 23 (1): 93–99.
18. Корнилов В.А. Повреждения магистральных сосудов: клиника, диагностика и лечение: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Ленинград, 1978: 23.
19. Штейнле А.В., Алябьев Ф.В., Дудузинский К.Ю., Ефтеев А.А., Зарубин М.Н., Бодоев Б.В. Методология моделирования огнестрельных ранений конечностей // *Сибирский медицинский журнал*. 2008; 23 (1): 74–81.
20. Ilizarov G.A. Transosseous osteosynthesis: theoretical and clinical aspects of the regeneration and growth of tissue. Berlin: Springer, 1992: 800.
21. Ключевский В.В., Миначенко В.К. Сохранение конечности у больной с огнестрельным многооскольчатом переломом обеих костей голени, повреждением передней и задней большеберцовых артерий // *Вестник хирургии им. И.И. Грекова*. 1984; 9: 98–100.
22. Штейнле А.В. Клинико-патогенетический анализ случая сочетанного огнестрельного костно-артериального повреждения конечности // *Сибирский медицинский журнал*. 2009; 24 (3): 82–86.
23. Штейнле А.В., Хандорин Г.П., Гаврилин Е.В., Дубов Г.И., Цепляев Е.С., Мазин В.И., Дудузинский К.Ю., Штейнле А.А., Мустафина Л.Р., Коботаева Т.М., Сунцов В.Н., Роговская Ю.В., Ефтеев А.А., Бодоев Б.В. Чрескостный остеосинтез и нанотехнологии в лечении сочетанных огнестрельных костно-артериальных повреждений конечностей // *Сибирский медицинский журнал*. 2009; 24 (2–1): 45–54.
24. Штейнле А.В., Рязанцева Н.В., Гаврилин Е.В., Хандорин Г.П., Дубов Г.И., Мазин В.И., Штейнле А.А., Мустафина Л.Р., Коботаева Т.М., Сунцов В.Н., Ефтеев А.А., Бодоев Б.В., Попёнов О.В., Скурихин И.М., Выжанов С.В. Чрескостный остеосинтез и нанотехнологии в лечении сочетанных огнестрельных костно-венозных повреждений конечностей // *Сибирский медицинский журнал*. 2009; 24 (3–1): 89–98.
25. Способ лечения огнестрельных костно-сосудистых повреждений конечностей. Патент на изобретение 2349282 РФ. Е.В. Гаврилин (РФ), А.В. Штейнле (РФ), К.Ю. Дудузинский (РФ). № 2007106623/14; Заявл. 21.02.2007; опубл. 20.03.2009. Бюл. № 8., приоритет 21.02.2007 (Россия).
26. Затевахин И.И., Комраков В.Е., Горбенко М.Ю. Профилактика инфицирования сосудистых трансплантатов // *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2005; 2 (прил. С): 121–128.
27. Stillaert Ph., Louagie Y., Donckier J. Emergency hepato-renal artery bypass using a PTFE graft // *Acta. Chir. Belg.* 2003; 103 (5): 524–527.
28. Соловьев Г.М., Венедиктов Д.Д. Замещение аорты и периферических артерий протезами из поливинилалкоголя в эксперименте // *Хирургия*. 1957; 8: 76–83.
29. Бакулева А.П., Анучина Н.М. Галлямов М.О., Залепутин Д.Ю., Костава В.Т., Лютова И.Г., Попов Д.А. Чашин И.С. Наноструктурированные покрытия производными хитозана биологических протезов – путь к увеличению биологической совместимости и долговечности // *Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания»*. 2014; 15 (6): 286.
30. Савельев В.С., Затевахин И.И., Степанов Н.В. Острая непроходимость бифуркации аорты и магистральных артерий конечностей. Москва, 1987: 304.
31. Баешко А.А., Яхновец И.А. Протезирование нижней полой вены в эксперименте и клинике // *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2000; 6 (1): 73–80.
32. Барбараш Л.С., Криковцов А.С., Журавлева И.Ю. Биологические протезы артерий. Кемерово, 1996: 207.
33. Дедерер Ю.М. Атлас операций на печени. М.: Медицина, 1975: 198.
34. Лебедев А.В. Аллопластика артерий в инфицированной ране // *Вестник хирургии им. И.И. Грекова*. 1966; 3: 85–91.

35. Вишневецкий А.А., Шрайбер М.И. Военно-полевая хирургия: руководство для врачей. М.: Медицина, 1975: 320.
36. Беличенко И.А., Кунгурцев В.В., Шиманко А.И. Возможности применения вены пупочного канатика в реконструктивной хирургии артерий нижних конечностей // *Хирургия*. 1980; 8: 8–11.
37. Чирьев А.И. Возможности использования вены пуповины в восстановительной хирургии сосудов: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Томск, 1986: 13.
38. Kuestner L.M., Stoney R.J. The case for renal revascularization // *Cardiovascular Surgery*. 1995; 3 (2): 141–154.
39. Novick A.C., Straffon R.A. Aortorenal bypass with a broached saphenous vein graft for renal artery disease extending into this Branches // *Surgery*. 1979; 85 (2): 225–229.
40. Лебедев Л.В. Аллопластика артерий в инфицированной ране // *Вестник хирургии*. 1966; 3: 85–91.
41. Баешко А.А., Крючок А.Г. Ранения магистральных сосудов брюшной полости // *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2000; 6 (3): 87–95.
42. Silvestro M., Domanin M., Floriani M., Gabrielli L. Inferior mesenteric to renal artery transposition for revascularization of a solitary functioning kidney // *Ann. Vasc. Surg.* 2015; 6. URL: [http://www.annalsofvascularsurgery.com/article/S0890-5096\(15\)00407-0/abstract](http://www.annalsofvascularsurgery.com/article/S0890-5096(15)00407-0/abstract). doi: 10.1016/j.avsg.2015.03.051.
43. Lashari M.N., Khan M.S. Endovascular treatment of renal artery stenoses // *J. Coll. Physicians. Surg. Pak*. 2015; 25 (1): 8–11. doi: 01.2015/JCPSP.811.
44. Lun Y., Zhang J., Wu X., Gang Q., Shen S., Jiang H., Duan Z., Xin S. Comparison of midterm outcomes between surgical treatment and endovascular reconstruction for chronic infrarenal aortoiliac occlusion // *J. Vasc. Interv. Radiol.* 2015; 26 (2): 196–204. doi: 10.1016/j.jvir.2014.10.018.
45. Rani N., Singh S., Dhar P., Kumar R. Surgical importance of arterial segments of human kidneys: An angiography and corrosion cast study // *J. Clin. Diagn. Res.* 2014; 8 (3): 1–3. doi: 10.7860/JCDR/2014/7396.4086.
46. Hurie J.B., Hansen K.J. Renovascular Disease. Rutherford's Vascular Surgery. V. 2; ed. J.L. Cronenwett. 8-th ed. Ch. 145. Elsevir, 2014: 2285–2299.
47. Olumi A.F., Preston M.A., Blute M.L. Open Surgery of the Kidney. Campbell-Walsh Urology; ed. A.J. Wein, L.R. Kavoussi, A.W. Partin, C.A. Peters. 11-th ed. Ch. 60. Elsevir, 2016: 1414–1445.

Поступила в редакцию 25.10.2016

Утверждена к печати 30.06.2017

Идигов Асхаб Махмудович, аспирант, кафедра урологии, СибГМУ, г. Томск.

Гудков Александр Владимирович д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой урологии, СибГМУ, г. Томск.

Семичев Евгений Васильевич, канд. мед. наук, науч. сотрудник, центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск.

Бушланов Павел Сергеевич, аспирант, кафедра хирургических болезней, СибГМУ, г. Томск.

(✉) Идигов Асхаб Махмудович, e-mail: Idigov.84@mail.ru.

УДК 616.136.7:616.146.2]-089.844

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-166–175

For citation: Idigov A.M., Gudkov A.V., Semichev E.V., Bushlanov P.S. From the first vascular suture to reconstructive and restorative surgery of vascular kidneys pathology. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 166–175

From the first vascular suture to reconstructive and restorative surgery of vascular kidneys pathology

Idigov A.M., Gudkov A.V., Semichev E.V., Bushlanov P.S.

Siberian State Medical University (SSMU)

2, Moscow Tract, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

The purpose of this article is to acquaint readers with the methods of plastic kidney vessel replacement. Renal artery stenosis in patients with hypertension (3-10%) as well as traumatic injuries (35%) are the most common among the diseases of the renal arteries, as surgery is required. The main methods of plastic kidney vessel replacement are the use of synthetic grafts (polytetrafluoroethylene or polyester filaments with different coatings), autoveins (great saphenous Vienna), autografts from the pericardium, peritoneum, fascia, as

well as different methods of renal artery resection followed by anastomosis. Despite the diversity of the methods of main vessel plastics, the search for new methods and materials, which would satisfy the necessary requirements, is needed. These requirements include: sufficient size for the plasticity of defects; resistance to infection; guaranteed absence of immunological reaction; mobility, and sufficient elasticity and durability during prolonged functioning as prosthesis of the vessel.

Key words: renal artery, angioplasty, synthetic graft, autologous vein, autograft, vascular suture.

REFERENCES

1. L'Heureux N., Dusserre N., Konig G., Braden V., Keire P., Wight T.N., Chronos N.A.F., Kyles A.E., Gregory C.R., Hoyt G., Robbins R.C., McAllister T.N. Human tissue-engineered blood vessels for adult arterial revascularization // *Nature Medicine*. 2006; 12: 361–365. doi: 10.1038/nm1364.
2. Fetisov N.E. Autoplastika svobodnym loskutom nadkostnitsy bokovykh defektov brjushnoj aorty i krupnykh magistral'nykh arterij: avtoref. ... dis. kand. med. nauk [Autoplasty periosteum free flap side defects of the abdominal aorta and the large main arteries: abstract. dis. cand. med. sciences]. Astrahan', 1968: 21 (in Russian).
3. Shteynle A.V., Efteev L.A., Bodoev B.V., Vyzhanov S.V., Popionov O.V., Skurihin I.M., Podkorytov A.A., Korobov S.V. Hirurgija povregdenyh sosudov givota [Surgery of abdominal vascular injuries] // *Sibirskiy medicinskiy gurnal – The Siberian Medical Journal*. 2009; 24 (1): 147–157 (in Russian).
4. Voennno-polevia hirurgija lokalnih voyn i voorugionnih konfliktov: rukovodstvo; red. E.K. Gumanenko, I.M. Samokhin. M.: GEOTAR-Media Publ., 2011. [Electronny resurs]: regim dostupa <http://www.studentlibrary.ru> (in Russian).
5. Voennno-polevia hirurgija: nacionalnoe rukovodstvo; red. I.Y. Bykov, N.A. Efimenko, E.K. Gumanenko. M.: GEOTAR Media Publ., 2009: 816 (in Russian).
6. Shteynle A.V. Angiografija pri povregdenijah magistralnykh sosudov konechnostey [Angiography with injuries of great vessels of extremities] // *Sibirskiy medicinskiy gurnal – The Siberian Medical Journal*. 2008; 23 (1): 99–111 (in Russian).
7. Lopez P.P., Ginzberg E. Vascular trauma. Surgery: basic science and clinical evidence; eds. J. Norton, P.S. Barie, R.R. Bollinger, A.E. Chang, S. Lowry, S.J. Mulvihill, H.I. Pass, R.W. Thompson. 2 ed. Ch. 29Springer, 2008: 521–544.
8. Beckmann J.H., Jackobs S., Klempnauer J. Arterial reconstruction in kidney transplantation // *Transplantationsmedizin*. 2008; 2: 7–12.
9. He B., Mitchell A. A novel technique for reconstruction of multiple renal arteries in live donor kidney transplantation: a case report and literature review // *Transplant. Proc.* 2012; 44 (10): 3055–3058. doi:10.1016/j.transproceed.2012.03.054.
10. Gluck Th. Ueber zwei Falle von aortenaneurysmen nebst Klemmenverschlusses und der naht der blutgefasse // *Arch. F. Klin. Chir. Bd.* 1983; 28: 23–26.
11. Wilms H., Halbfass H.J., Matthias K. Treatment of renal artery stenosis following kidney transplantation // *Chirurg*. 1984; 55 (6): 400–403.
12. Napalkov N.I. Shov serdca i krovenosnykh sosudov [The seam of the heart and blood vessels]. Moskow: Tip. Prostakova Publ., 1900: 212 (in Russian).
13. Shteynle A.V., Duduzinsky K.Y., Efteev L.A., Bodoev B.V., Vyzhanov S.V., Shvagerus V.V., Popionov O.V., Skurihin I.M., Maslov E.A. Vremennoe protezirovanie pri ranenijah magistralnykh sosudov konechnostey (analiticheskiy obzor) [Temporary prosthesis in wounds of the main limbs (analytical review)] // *Sibirskiy medicinskiy gurnal – The Siberian Medical Journal*. 2008; 23 (4): 120–129 (in Russian).
14. Shteynle A.V. Ot ligaturnogo lechenia do rekonstruktivnoy angiokirurgii (k 250-letiu sosudistigo shva) [From ligature treatment to reconstructive vascular surgery (to the 250th anniversary of vascular suture)] // *Bulleten sibirskoy medicini – Bulletin Siberian Medicine*. 2010; 1: 84–90 (in Russian).
15. Shteynle A.V. Istoria lechenia povregdenyh magistralnykh artery s XVII veka do Vtoroy mirovoy voyny [The history of the treatment of damage to the main arteries of the XVIIth century until World War II] // *Sibirskiy medicinskiy gurnal – The Siberian Medical Journal*. 2008; 23 (1): 85–93 (in Russian).
16. De Bakey, Simeone F.A. Battle injuries of the arteries in world war II: An analysis of 2471 cases // *Ann. Surg.* 1946; 123 (4): 534–579.
17. Shteynle A.V. Rekonstruktivno-vosstansovitel'naya hirurgija povregdenyh magistralnykh artery posle Vtoroy mirovoy voyny [Reconstructive surgery of the main arteries of damage after the Second World War] // *Sibirskiy medicinskiy gurnal – The Siberian Medical Journal*. 2008; 23 (1): 93–99 (in Russian).
18. Kornilov V.A. Povrezhdeniya magistral'nykh sosudov: klinika, diagnostika i lechenie: avtoref. dis. d-ra med. nauk [Damage to the main vessels: clinic, diagnostics and treatment: abstract. dis. dr. med. sciences]. Leningrad, 1978: 23 (in Russian).
19. Shteynle A.V., Alyabyev F.V., Duduzinsky K.Y., Efteev L.A., Zarubin M.N., Bodoev B.V. Metodologiya modelirovaniya ognestrel'nykh raneniy konechnostey [Modelling Methodology gunshot limb arteries] // *Sibirskiy medicinskiy gurnal – The Siberian Medical Journal*. 2008; 23 (1): 93–99 (in Russian).

20. Ilizarov G.A. Transosseus osteosynthesis: theoretical and clinical aspects of the regeneration and growth of tissue. Berlin: Springer, 1992: 800.
21. Kluchevsky V.V., Minachenko V.K. Sohranenie konechnosti u bolnoy s ognestrelnim mnogooskolchatim mnogooskolchatim perelomom oboih kostei goleny, povregdeniem peredney i zadney bolshbercovih artery [Saving limbs in a patient with a gunshot comminuted fractures of both bones of the lower leg, damage to the front and posterior tibial artery] // *Vestnik birirgii im. I.I. Grekova*. 1984; 9: 98–100 (in Russian).
22. Shteynle A.V. Kliniro-patogenetichesky analiz sluchaia sochetannogo ognestrelinogo kostno-arterialinogo povregdenia konechnosti [Clinical pathogenic analysis of the case of combined firearms bone-limb arterial damage] // *Sibirsky medicinsky gurnal – The Siberian Medical Journal*. 2009; 24 (3): 82–86 (in Russian).
23. Shteynle A.V., Khandorin G.P., Gavrilin E.V., Dubov G.I., Cepiaev E.S., Mazin V.I., Duduzinsky K.Y., Shteynle L.A., Mustafina L.R., Kobotaeva T.M., Suntsov V.N., Rogovskaya Y.V., Efteev L.A., Bodoev B.V. Chreskosn-nz osteosntzey i nanotehnologii v ltchtnii cochetannih ognestrelnyh kostno-arterialnyh povregdeny konechnostei [Transosseus osteosynthesis and nanotechnologies in treatment of associated gunshot bone-arterial injuries] // *Sibirsky medicinsky gurnal – The Siberian Medical Journal*. 2009; 24 (2–1): 45–54 (in Russian).
24. Shteynle A.V., Ryazantseva N.V., Gavrilin E.V., Khandorin G.P., Dubov G.I., Mazin V.I., Shteynle L.A., Mustafina L.R., T Kobotaeva T.M., Suntsov V.N., Efteev L.A., Bodoev B.V., Popionov O.V., Skurihin I.M., Vyzhanov S.V. Chreskosny osteositez i nanotehnologii v lechenii cochetannih ognestrelnyh kostno-venoznih povregdeny konechnostei [Transosseus osteosynthesis and nanotechnologies in treatment of associated gunshot bone-venous injuries] // *Sibirsky medicinsky gurnal – The Siberian Medical Journal*. 2009; 24 (3–1): 89–98 (in Russian).
25. Sposob lechenia ognestrelnyh kostno-sosudistich povregdeny konechnostei [A method of treating gunshot limb bone and vascular damage]. Patent na izobretenie 2349282 RF. E.V. Gavrilin (RF), A.V. Shneynle (RF), K.Y. Duduzinsky (RF). № 2007106623/14; Zaiavl. 21.02.2007. Opubl. 20.03.2007. Bul. № 8. Prioritet 21.02.2007 (in Russian).
26. Zatevahin I.I., Komrakov V.E., Gorbenko M.Ju. Profilaktika inficirovaniya sosudistyh transplantatov [Prevention of infection of vascular grafts] // *Angiologija i sosudistaja hirurgija – Angiology and Vascular Surgery*. 2005; 2: 121–128 (in Russian).
27. Stillaert Ph., Louagie Y., Donckier J. Emergency Hepato-Renal Artery Bypass Using a PTFE Graft // *Acta. Chir. Belg.* 2003; 103 (5): 524–527.
28. Solov'ev G.M., Venediktov D.D. Zameshhenie aorty i perifericheskikh arterij protezami iz polivinilalkogolja v jeksperimente [The replacement of the aorta and peripheral arteries by prostheses of polyvinyl alcohol in the experiment] // *Hirurgija – Surgery*. 1957; 8: 76–83 (in Russian).
29. Bakuleva A.P., Anuchina N.M., Gallyamov M.O., Zaleputin D.Y., Kostava V.T., Lyutova I.G., Popov D.A., Chashchin I.S. Nanostrukturirovannye pokritia proizvodnimy hitozana biologicheskikh protezov – put k uvelicheniu biologicheskoy sovmosti i dolgovechnosti [Nanostructured coatings derived chitosan biological prostheses - a way to increase the biocompatibility and durability] // *Bulleten NCSSH im. A.N. Bakuleva RAMN «Serdechno-sosudistye zabolevania»*. 2014; 15 (6): 286 (in Russian).
30. Savel'ev V.S., Zatevahin I.I., Stepanov N.V. Ostraja neprohodimost' bifurkacii aorty i magistral'nyh arterij konechnostej [Acute obstruction of the bifurcation of the aorta and arteries of the extremities]. Moscow, 1987: 304 (in Russian).
31. Baeshko A.A., Jahnovec I.A. Protezirovanie nizhnej poloj veny v jeksperimente i klinike [Prosthetics of inferior vena cava in experiment and clinic] // *Angiologija i sosudistaja hirurgija – Angiology and Vascular Surgery*. 2000; 6 (1): 73–80 (in Russian).
32. Barbarash L.S., Krikovcov A.S., Zhuravleva I.Ju. Biologicheskie protezy arterij [Biological prostheses of arteries]. Kemerovo, 1996: 207 (in Russian).
33. Dederer Ju.M. Atlas operacij na pecheni [Atlas of operations on the liver]. Moscow: Medicina Publ., 1975: 198 (in Russian).
34. Lebedev L.V. Alloplastika arterij v inficirovannoj rane [Alloplasty of arteries in the infected wound] // *Vesti hirurgii*. 1966; 3: 85–91 (in Russian).
35. Vishnevskij A.A., Shrajber M.I. Voenno-polevaja hirurgija : rukovodstvo dlja vrachej [Military Surgery : A Guide for Physicians]. Moscow: Medicina Publ., 1975: 320 (in Russian).
36. Belichenko I.A., Kungurcev V.V., Shimanko A.I. Vozmozhnosti primeneniya veny pupochnogo kanatika v rekonstruktivnoj hirurgii arterij nizhnih konechnostej [Possibilities of application of umbilical cord vein in reconstructive surgery of the lower limb arteries] // *Hirurgija – Surgery*. 1980; 8: 8–11 (in Russian).
37. Chir'ev A.I. Vozmozhnosti ispol'zovaniya veny pupoviny v vosstanovitel'noj hirurgii sosudov: avtoref. dis. kand. med. nauk [The possibility of using umbilical cord vein in vascular reconstructive surgery: abstract. dis. cand. med. sciences]. Tomsk, 1986: 13 (in Russian).
38. Kuestner L.M., Stoney R.J. The case for renal revascularization // *Cardiovascular Surgery*. 1995; 3 (2): 141–154.
39. Novick A.C., Straffon R.A. Aortorenal bypass with a broached saphenous vein Graft for renal artery disease extending into this branches // *Surgery*. 1979; 85 (2): 225–229.
40. Lebedev L.V. Alloplastika arterij v inficirovannoj rane [Alloplasty of arteries in the infected wound] // *Vestnik hirurgii*. 1966; 3: 85–91 (in Russian).
41. Baeshko A.A., Krjuchok A.G. Raneniya magistral'nyh sosudov brjushnoj polosti [Injuries of the main vessels of

- the abdominal cavity] // *Angiologija i sosudistaja birurgija*. 2000; 6 (3): 87–95 (in Russian).
42. Silvestro M., Domanin M., Floriani M., Gabrielli L. Inferior mesenteric to renal artery transposition for revascularization of a solitary functioning kidney // *Ann. Vasc. Surg.* 2015; 6. URL: [http://www.annalsofvascularsurgery.com/article/S0890-5096\(15\)00407-0/abstract](http://www.annalsofvascularsurgery.com/article/S0890-5096(15)00407-0/abstract). doi: 10.1016/j.avsg.2015.03.051.
 43. Lashari M.N., Khan M.S. Endovascular treatment of renal artery stenoses // *J. Coll. Physicians. Surg. Pak.* 2015; 25 (1): 8–11. doi: 01.2015/JCPSP.811.
 44. Lun Y., Zhang J., Wu X., Gang Q., Shen S., Jiang H., Duan Z., Xin S. Comparison of midterm outcomes between surgical treatment and endovascular reconstruction for chronic infrarenal aortoiliac occlusion // *J. Vasc. Interv. Radiol.* 2015; 26 (2): 196–204. doi: 10.1016/j.jvir.2014.10.018.
 45. Rani N., Singh S., Dhar P., Kumar R. Surgical importance of arterial segments of human kidneys: An angiography and corrosion cast study // *J. Clin. Diagn. Res.* 2014; 8 (3): 1–3. doi: 10.7860/JCDR/2014/7396.4086.
 46. Hurie J.B., Hansen K.J. Renovascular Disease. Rutherford's Vascular Surgery. V. 2; ed. J.L. Cronenwett. 8-th ed. Elsevir, Ch. 145. 2014: 2285–2299.
 47. Olumi A.F., Preston M.A., Blute M.L. Open Surgery of the Kidney. Campbell-Walsh Urology; ed. A.J. Wein, L.R. Kavoussi, A.W. Partin, C.A. Peters. 11-th ed. Ch. 60. Elsevir, 2016: 1414–1445.

Received October 25.2016

Accepted June 30.2017

Idigov Ashab M., Postgraduate Student, Department of Urology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Gudkov Aleksandr V., DM, Professor, Head of the Department of Urology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Semichev Evgenij V., PhD, Researcher, Central Scientific Research Laboratory, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Bushlanov Pavel S., Postgraduate Student, Department of Surgical Disease with the Course of Traumatology and Orthopedics, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

(✉) **Idigov Ashab M.**, e-mail: Idigov.84@mail.ru.

УДК 616.12-008.3-085.22-036.8

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-176–184

Для цитирования: Сенаторова О.В., Храмова Е.Б., Кузнецов В.А., Сергейчик О.И. Клинико-метаболические эффекты применения аминоксифосфонатов у детей при нарушениях сердечного ритма. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 176–184

Клинико-метаболические эффекты применения аминоксифосфонатов у детей при нарушениях сердечного ритма

Сенаторова О.В.¹, Храмова Е.Б.², Кузнецов В.А.¹, Сергейчик О.И.¹

¹ Тюменский кардиологический научный центр (ТКНЦ), филиал Томского национального исследовательского медицинского центра (НИМЦ) Российской академии наук (РАН)
Россия, 625026, г. Тюмень, ул. Мельникайте, 111

² Тюменский государственный медицинский университет
Россия, 625023, г. Тюмень, ул. Одесская, 54

РЕЗЮМЕ

Цель данного обзора – обобщение и анализ ряда работ, посвященных изучению клинических, метаболических эффектов применения аминоксифосфонатов, в частности димефосфона, обладающего антиоксидантными и мембраностабилизирующими свойствами. В статье рассматривается дифференцированное влияние димефосфона как на показатели функциональной активности клеточной мембраны, так и на особенности структуры мембран тромбоцитов как модели гладкомышечных клеток в комплексной терапии у детей с различными клиническими вариантами дисфункции синусового узла.

Ключевые слова: аминоксифосфонаты, димефосфон, нарушения ритма сердца, дисфункция синусового узла, дети.

ВВЕДЕНИЕ

Лечение нарушений ритма у детей продолжает оставаться серьезной проблемой [1, 2]. Такие нарушения сердечного ритма, как брадиаритмия, дисфункция синусового узла (ДСУ), синдром слабости синусового узла (СССУ), остаются наименее изученными у детей. Как правило, они протекают бессимптомно и в 40% случаев являются случайной находкой при проведении электрокардиографии (ЭКГ), что затрудняет их раннюю диагностику [3]. Исследования по поиску путей медикаментозной терапии подобной категории больных считаются наиболее перспективными, так как при высоких степенях поражения синусового узла единственным методом профилактики фатальных осложнений выступает имплантация

электрокардиостимулятора, что в детском возрасте является проблематичным и дискуссионным [2, 4].

Экспериментальные и клинические исследования второй половины XX в. биохимических маркеров мембранодеструктивных процессов показали, что эти процессы служат основой при нарушении функции клеток и, соответственно, играют огромную роль при формировании хронических патологических процессов [5, 6]. Результаты этих исследований послужили для поиска новых сведений о препаратах с антиоксидантными и мембраностабилизирующими свойствами, а также оценки их анти- или прооксидантных эффектов. Учитывая патофизиологический подход к терапии, в настоящее время используются лекарственные средства – антиоксиданты, непосредственно воздействующие на определенные звенья патогенеза заболеваний [7–10].

✉ Сенаторова Ольга Владимировна, e-mail: olga_senatorova@mail.ru.

Изучение проблемы формирования нарушения ритма сердца с позиции клеточной патологии позволило установить, что основная роль принадлежит мембрано-дестабилизирующим процессам в кардиомиоцитах, имеющих много общего с гипоксическими дистрофическими повреждениями, что дает обоснование для включения в схему лечения заболевания антигипоксантов и антиоксидантов [1, 11–13].

В клинической практике широко используется димефосфон (диметилноксобутилфосфонилдиметилат) – монофосфоновое соединение (C₈H₁₇O₄P), синтезирован А.Н. Пудовиком в 1952 г. Способ производственного получения разработан А.Е. Арбузовым с соавт. (1974) и разрешен к лечебному применению у детей и взрослых в 1983 г. (рег. удостоверения № 83/654/2, 83/654/13 (лекарственная форма)). Лекарственная форма представлена в виде 15%-го раствора для приема внутрь со слабым запахом и горьким вкусом, хорошо растворимым в воде, гидролитически стойким [14–16].

При анализе различных исследований был установлен широкий спектр фармакологических эффектов димефосфона при применении в лечебно-профилактическом комплексе в дозе 10–100 мг на 1 кг массы тела в сутки (мг/кг/сут): энерготропный, антиоксидантный, антиишемический, вазоактивный, кардиотропный, нейротропный, антиацидотический, мембраностабилизирующий, антиатерогенный, вегетокорректирующий и кальций-хелатирующий [14, 15, 17–22]. Мембраностабилизирующее действие сопряжено с процессом оптимизации не только синтеза белка, но и синтеза фосфолипидов и других структурных компонентов мембран, что препятствует процессу дефосфорилирования мембранных белков и нормализации показателей арахидоновой, эйкозапентадиеновой жирных кислот и малонового диальдегида [5]. Энерготропный эффект продемонстрирован на экспериментальных моделях геморрагического и ишемического инсультов. У здоровых животных димефосфон увеличивал уровень аденозинтримонофосфата (АТФ) и соотношение с аденозинмонофосфатом (АТФ/АМФ), снижал содержание аденозинмонофосфата на уровне клеток при дефиците АТФ. Эти результаты исследования подтверждены у больных с патологией мозга. Мембраностабилизирующий эффект димефосфона показан у взрослых с патологией легких, в дозе 100 мг/кг/сут у детей раннего возраста, больных острой респираторной вирусной инфекцией с бронхообструктивным синдромом [23, 24].

КОРРЕКЦИЯ КАЛЬЦИФИЦИРУЮЩЕГО МЕМБРАНОЛИЗА ПРОИЗВОДНЫМИ ФОСФОНОВОЙ КИСЛОТЫ

В течение многих лет особое внимание уделялось поиску препаратов для коррекции кальцифицирующего мембранолиза, в том числе производным фосфоновой кислоты. Особенностью таких лекарственных средств является наличие прямой фосфор-углеводородной связи, а по химической структуре они сходны с естественными ортофосфатами организма [25]. Так, аминокислоты, в частности димефосфон, обладают хелатирующими свойствами по отношению к ионам кальция. Установлено, что препараты этой группы связываются с фосфолипидами клеточных мембран и компенсируют недостающие хелатирующие свойства мембраны. Этот феномен отмечен при кальциевом мембранолизе, который сочетался с гиперкальциемией и кальцификацией тканей [5].

Следует учесть, что среди патогенетических механизмов в развитии сердечно-сосудистых заболеваний обсуждается роль дегенеративных изменений и нарушения процессов физиологического апоптоза вследствие различных повреждающих факторов, что приводит к увеличению количества клеток, гибнущих в результате апоптоза [4, 26, 27]. К настоящему времени отмечено, что процесс апоптоза является одним из важных звеньев патогенеза возникновения сердечно-сосудистых заболеваний. Дефицит антиоксидантов в свою очередь тоже может служить пусковым механизмом апоптоза. Кальций – один из основных вторичных мессенджеров, участвующих в передаче сигнала в клетку для запуска в процессе апоптоза каскада жизненно важных процессов, и на первых этапах передачи сигналов, приводящих к апоптозу, играет ключевую роль благодаря повышению его внутриклеточной концентрации. Роль кальция заключается в связывании со специфическими участками в молекулах киназ или с кальцийсвязывающими белками (кальмодулин), активируя некоторые киназы. Имеются сведения о способности кальция напрямую активировать протеинкиназу С, которая задействована во внутриклеточном каскаде передачи апоптотического сигнала на ДНК [26, 28].

Таким образом, экспериментальные и клинические исследования различных групп мембраностабилизирующих препаратов свидетельствуют, что установлена важная роль в проявлении фармакологических эффектов у производных фосфоновой кислоты. Среди многих терапевтических

эффектов особенностью являются мембраностабилизирующее, антиоксидантное, вегетотропное и хелатирующее свойства по отношению к ионам кальция. Отсутствие мутагенных воздействий обосновывает его применение при сердечно-сосудистой патологии. Апробация димефосфона у взрослых, страдающих заболеваниями сердечно-сосудистой системы, доказала его антиишемический, микроциркуляторный и вегетокорректирующий эффекты. В настоящее время достаточно изучены свойства димефосфона и его аналога – ксидифона (дифосфоновое соединение, или бифосфонат) – в регуляции обмена кальция в организме и его успешного применения при остеопорозах у взрослых и детей [29–34]. Однако отмечались противоречивые сведения по их применению у взрослых, в том числе у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями, для лечения остеопороза. Так, по данным зарубежных авторов, проведено независимое рандомизированное плацебоконтролируемое исследование (мета-анализ) для определения влияния бифосфонатов на общее число неблагоприятных сердечно-сосудистых событий, фибрилляции предсердий, инфаркта миокарда, инсульта и сердечно-сосудистой смерти у взрослых с риском низкой костной массы. В результате данного исследования установлено, что бифосфонаты не оказывают благотворного или вредного воздействия на возникновение атеросклеротических сердечно-сосудистых событий, но некоторые из них могут незначительно увеличить риск фибрилляции предсердий. Следовательно, учитывая значительное снижение переломов при терапии бифосфонатами, коррекция в лечении остеопороза из-за риска развития сердечно-сосудистых заболеваний не совсем оправдана [35].

ПРИМЕНЕНИЕ АМИНОФОСФОНАТОВ У ДЕТЕЙ

В детской кардиологии применению аминофосфонатов, в частности димефосфона, посвящены единичные исследования. Учитывая, что в основе патогенеза ДСУ лежат нарушения обменных процессов в кардиомиоцитах, обоснованно применение ряда препаратов с антиоксидантным и мембраностабилизирующим действием [1, 13]. Так, А.А. Балыкова, В.П. Балашова с соавт. провели сравнительную клинико-электрофизиологическую оценку эффективности димефосфона у 30 детей с синдромом слабости синусового узла с 2–3 вариантами заболевания. Димефосфон в дозе 100 мг/кг/сут принимали внутривенно в течение 14 сут в количестве трех курсов (через 3 и 6 мес)

дети, получавшие стандартную терапию (группа сравнения). В контрольную группу были включены дети, получавшие стандартную терапию в сочетании с эмоксипином.

По мнению авторов, клинико-инструментальное исследование в течение полугода у детей с 2–3 вариантами СССУ показало, что наиболее перспективным является использование димефосфона, который наряду с кардиотоническим эффектом доказал антиаритмический эффект. Так, при внутривенном введении димефосфона достоверно увеличивалась фракция выброса левого желудочка сердца, ударный объем, особенно у детей с исходно сниженной функциональной способностью миокарда с некоторым увеличением минутного объема крови и ударного индекса при тенденции к снижению общего сопротивления. Таким образом, улучшились базовые характеристики сердечного ритма и нивелировались клинические проявления заболевания, что надежно предупреждало возникновение сопутствующих эктопических аритмий [36].

В другом исследовании А.А. Балыковой, В.П. Балашовой с соавт. при оценке гемодинамических эффектов у детей с нарушением ритма, получавших димефосфон в сочетании с лечебно-профилактическим комплексом, улучшалась сократительная способность миокарда и нивелировались кардиодепрессивные свойства традиционных антиаритмических средств, повышая безопасность их использования в педиатрии [37]. Таким образом, включение димефосфона в лечение детей с СССУ несомненно улучшает течение и прогноз этой болезни.

В исследовании В.П. Булатова димефосфон апробирован в дозе 50 мг/кг/сут с количеством приема три раза в сутки у 27 доношенных новорожденных с признаками гипоксически-ишемического поражения миокарда. После недельного курса применения отмечалась положительная динамика в виде уменьшения тахикардии. Поскольку в патогенезе сердечной недостаточности немаловажен обмен натрия и воды, был оценен уровень натрия в крови, который снижался до нормальных значений по сравнению с группой детей, получавших традиционную терапию [14].

ДЕЙСТВИЕ ДИМЕФОСФОНА НА МЕМБРАННОМ УРОВНЕ У ДЕТЕЙ С ДИСФУНКЦИЕЙ СИНУСОВОГО УЗЛА

Следует отметить, что в вышеуказанных исследованиях эффективность димефосфона оценивалась только по клинико-инструментальным показателям. Поскольку, по мнению исследова-

телей, при идиопатическом СССУ происходят медленно прогрессирующие дегенеративные поражения проводящей системы сердца, авторами было проведено исследование на мембранном уровне у детей с ДСУ в зависимости от клинического варианта (идиопатического и на фоне СВД) [38]. С учетом результатов клинического исследования состояния вегетативной нервной системы все наблюдаемые дети в зависимости от клинического варианта НРС были разделены на две группы: первая – дети с ДСУ идиопатической; вторая – дети с ДСУ на фоне синдрома вегетативной дисфункции. У всех детей с ДСУ на фоне СВД отмечались астено-вегетативные симптомы, а 50% детей с идиопатической ДСУ имели бессимптомное течение заболевания. В лечебно-профилактический комплекс детям с ДСУ был включен димефосфон в суточной дозе 30 мг/кг/сут в течение 1 мес. После проводимой терапии анализ результатов показал, что у всех детей основной группы отмечалось улучшение самочувствия за счет купирования или уменьшения клинических проявлений синдрома вегетативной дисфункции (в группе сравнения – 80% детей). Все дети хорошо перенесли лечение, побочных реакций и осложнений препарата не отмечалось. При этом по данным ЭКГ более выраженная положительная динамика за счет уменьшения дефицита частоты сердечных сокращений установлена в группе детей с ДСУ на фоне синдрома вегетативной дисфункции.

Учитывая значимость кальция в регуляции процессов перестройки основных структур тромбоцитов, был проведен анализ интрацеллюлярной кинетики ионов кальция с помощью тетрациклингидрохлоридного флуоресцентного зонда (ТГХ ФЗ). На основе изучения трансмембранного транспорта ионов кальция у детей с ДСУ в зависимости от клинического варианта при включении в лечебный комплекс димефосфона установлено дифференцированное его влияние. Так, применение димефосфона у детей с идиопатической ДСУ, судя по динамике кинетики ТГХ ФЗ, способствовало достоверному уменьшению времени достижения пика флуоресценции, что может свидетельствовать об улучшении функциональной активности мембран тромбоцитов.

Включение димефосфона в лечебно-профилактический комплекс у детей с ДСУ функционального генеза способствовало дифференцированному влиянию на структурные преобразования тромбоцитов в зависимости от клинического варианта: оптимизации свойств мембраны только у детей с ДСУ на фоне синдрома вегетатив-

ной дисфункции за счет снижения содержания общего холестерина и соотношения общего холестерина к общим фосфолипидам, тем самым улучшая ее микровязкость, что свидетельствует о положительном мембранотропном эффекте [12].

Таким образом, безопасность применения в детском возрасте димефосфона благодаря его малотоксичности делает целесообразным включение аминифосфонатов в комплексную терапию у детей при нарушениях сердечного ритма [1, 12, 14]. Следует отметить, что в инструкции по медицинскому применению димефосфона указан возраст – старше 12 лет. Но, учитывая проведенные клинические исследования по применению димефосфона у детей на относительно небольших группах, можно сделать вывод о безопасном его применении у детей раннего возраста и беременных [39, 40]. Это диктует необходимость проведения многоцентрового рандомизированного плацебоконтролируемого исследования оригинального отечественного препарата димефосфона для разработки рекомендаций по применению не только в детской кардиологии, но и педиатрии в целом.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии источников финансирования при проведении исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балыкова А.А., Назарова И.С., Тишина А.Н. Лечение аритмий сердца у детей // *Практическая медицина*. 2011; 5 (53): 30–37.
2. Школьников М.А., Абдулатипова И.В., Адрианов А.В., Анцупова Е.С., Болсуновский В.А., Васичкина Е.С., Гордеев О.А., Егоров Д.Ф., Ильдарова Р.А., Калинин Л.А., Круча Т.К., Малкина Е.В., Миклашевич И.М., Носкова М.В., Полякова Е.Б., Сенчик К.Ю., Харлап М.С. Диагностика и лечение нарушений ритма и проводимости. СПб.: Человек, 2012: 432.
3. Педиатрия: национальное руководство. В 2 т. ГЭОТАР-Медиа, М.: 2009: 228.
4. Полякова Е. Б., Школьников М.А. Механизмы формирования, классификация, клиническое течение и прогноз «идиопатических» нарушений функции синусового узла в детском возрасте // *Вестник аритмологии*. 2008; 52: 5–13.
5. Вельтищев Ю.Е. Клеточные мембраны и патология детского возраста. Проблемы мембранной патологии в педиатрии. Сборник научных трудов. М., 1984: 180.

6. Владимиров Ю.А., Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. М.: Наука, 1980: 320.
7. Собакарь М.С., Ших Е.В. Антиоксидантная терапия и метаболические подходы к лечению заболеваний сердечно-сосудистой системы // *Биомедицина*. 2010; 3: 10–21.
8. Максименко А.В. Кардиологические биофармацевтики в концепции направленного транспорта лекарств: практические результаты и исследовательские перспективы // *Acta naturae*. 2012; 4 (3): 76–86.
9. Шилов А., Абдуллаева А. Антиоксиданты в программе лечения полиморбидных больных с метаболическим синдромом // *Врач*. 2012; 7: 49–52.
10. Галенко-Ярошевский П.А., Гукасов В.М., Гацура В.В. Антиоксиданты в системе современной терапии сердечно-сосудистой патологии // *Медицина и высокие технологии*. 2014; 1: 6–20.
11. Филина Е.А., Длин В.В. Лекарственные средства, применяемые в детской кардиологии. В кн.: Царегородцев А.Д., Таболин В.А. Руководство по фармакотерапии в педиатрии и детской хирургии. Т. 5. Клиническая кардиология. М.: Медпрактика-М, 2004: 396.
12. Сорогин В.П., Сенаторова О.В., Лыкасов А.Г., Журавлева Т.Д. Влияние аминифосфонатов на структуру и функцию тромбоцитов у детей с дисфункцией синусового узла // *Медицинская наука и образование Урала*. 2011; 1: 152–154.
13. Сенаторова О.В., Храмова Е.Б. Механизм формирования дисфункции синусового узла у детей // *Лечение и профилактика*. 2016; 1: 35–38.
14. Булатов В.П. Применение ДИМЕФОСФОНА в педиатрии. // *Поликлиника*. 2009; 1: 129–131.
15. Юрьева Э.А., Семякина С.В., Алиева Д.М., Алексеева Н.В., Яцкевич Е.Е., Маккаев Х.М., Длин В.В. Димефосфон – препарат широкого спектра действия при лечении заболеваний у детей // *Вестник педиатрической фармакологии и нутрициологии*. 2006; 3 (1): 69–76.
16. Димефосфон. Регистр лекарственных средств России. [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.rlsnet.ru/tn_index_id_4441.htm [Дата обращения 12.12.2016].
17. Длин В.В., Игнатова М.С., Османов И.М., Юрьева Э.А., Морозов С.А. Дисметаболические нефропатии у детей // *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2012; 5: 36–44.
18. Хафизьянова Р.Х., Мерзахмедова М.К., Бурыкин И.М. Перспективы применения отечественного препарата димефосфон (диметилхлоробисфосфонилдиметилат) для лечения женщин с климактерическим синдромом умеренной степени тяжести // *Фундаментальные исследования*. 2015; 1: 1955–1961.
19. Данилов В.И. ДИМЕФОСФОН. Применение в нейрохирургии и неврологии // *Поликлиника*. 2008; 2: 12–13.
20. Кузнецов М.Р., Вирганский А.О., Косых И.В., Юмин С.М., Куницын Н.В., Голосницкий П.Ю., Несходимов А.А., Магнитский Л.А., Мнацаканян Г.Т., Фукалов А.С. Возможности метаболической терапии при атеросклерозе // *Неврологический журнал*. 2014; 4: 56–60.
21. Полуэктов М.Г., Центерадзе С.Л. Возможности лечения ишемического инсульта в неврологическом стационаре // *Эффективная фармакотерапия*. 2014; 49: 32–38.
22. Фролова Н.Ю. Бурякина А.В., Мельникова Т.И. Нейропротекторы в педиатрической практике // *Ремедиум*. 2015; сентябрь: 54–60.
23. Царегородцев А.Д., Николаев А.М. Терапевтическая эффективность димефосфона у детей раннего возраста // *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 1994; 39 (6): 34–36.
24. Визель А.А., Визель А.О., Щукина Л.И. Диметилхлоробисфосфонилдиметилат (Димефосфон): применение в пульмонологии и фтизиатрии // *Пульмонология и аллергология*. 2013; 3: 41–44.
25. Визель А.О., Гараев Р.С. Новый аспект фармакологического подхода к соединениям фосфора: димефосфон. Казань: Печать–Сервис–XXI век, 2011: 189.
26. Бершова Т.В., Гасанов А.Г., Монаенкова С.В., Баканов М.И., Басаргина Е.Н., Иванов А.П. Возможные механизмы и патофизиологическая значимость апоптоза в патогенезе хронической сердечной недостаточности у детей и подростков // *Педиатрия*. 2010; 89 (3): 21–27.
27. Xiao J., She Q., Wang Y. et al. Effect of allopurinol on cardiomyocyte apoptosis in rats after myocardial infarction // *Eur. J. of Heart Failure*. 2009; 11 (1): 20–27. DOI: 10.1093/eurjhf/hfn003.
28. Орлова Е.В., Костанян И.А., Панов В.П. Роль регуляторных белков апоптоза в клеточном Ca^{2+} -гомеостазе // *Химико-фармацевтический журнал*. 2005; 12: 3–8.
29. Ершова А.К. О применении препарата «Ксидифон» при нарушении кальциевого обмена // *Русский медицинский журнал*. 2010; 18 (14): 884–886.
30. Djokanovic N., Klieger-Grossmann C., Koren G. Does treatment with bisphosphonates endanger the human pregnancy? // *J. Obstet Gynaecol. Can.* 2008; 30 (12): 1146–1148.
31. Russell R.G. Bisphosphonates: mode of action and pharmacology // *Pediatrics*. 2007; 119: 150–162.
32. Dwan K., Phillipi C.A., Steiner R.D., Basel D. Bisphosphonate therapy for osteogenesis imperfecta // *Cochrane Database Syst Rev*. 2016; 19.
33. Осипова Л.А., Шелехова Т.В., Богословская С.И., Никифорова Н.Е. Оптимизация фармакотерапии остеопении у детей с хроническим пиелонефритом // *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2010; 6 (1): 43–45.
34. Мальцев С.В., Мансурова Г.Ш. Современные аспекты остеопороза у детей // *Практическая медицина*. 2015; 92 (7): 15–21.
35. Dae Hyun Kim, James R. Rogers, Lisa A. Fulchino, Caroline A. Kim, Daniel H. Solomon, Seoyoung C. Kim.

- Bisphosphonates and Risk of Cardiovascular. Events: A Meta-Analysis // *PLoS One*. 2015; Apr 17;10 (4). DOI:10.1371/journal.pone.0122646.
36. Балыкова Л.А., Балашов В.П., Школьников М.А., Кемаева Н.Н. Эффективность димефосфона при нарушениях ритма сердца у детей [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://nature.web.ru/db/msg.html?mid=1174291&s=111400060> [Дата обращения 06.03.2017].
37. Балыкова Л.А., Балашов В.П., Маркелова И.А., Альмяшева М.И. Препараты метаболического типа действия в лечении аритмий сердца. Саранск: Референт, 2007: 134.
38. Сенаторова О.В., Храмова Е.Б., Сорогин В.П., Лыкасов А.Г., Рычков А.Ю. Клинико-патогенетические особенности дисфункции синусового узла у детей при различных клинических вариантах // *Вестник аритмологии*. 2013; 73: 25–29.
39. Сватко Л.Г., Цибулькина В.Н., Студенцова И.А., Рафаилов В.В. Диагностические критерии и оценка эффективности применения димефосфона в лечении секреторного среднего отита у детей // *Актуальные проблемы оториноларингологии. Сборник трудов*. М, 1997: 132–136.
40. Хафизьянова Р.Х., Бородин Ю.И. Фармакотерапия хронической плацентарной недостаточности // *Казанский медицинский журнал*. 2003; 6: 443–446.

Поступила в редакцию 18.01.2017
Утверждена к печати 30.06.2017

Сенаторова Ольга Владимировна, канд. мед. наук, мл. науч. сотрудник, лаборатория эпидемиологии и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, ТКНЦ, филиал Томского НИМЦ РАН, г. Тюмень.

Храмова Елена Борисовна, д-р мед. наук, зав. кафедрой детских болезней, Тюменский государственный медицинский университет, г. Тюмень.

Кузнецов Вадим Анатольевич, д-р мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, директор ТКНЦ, филиала Томского НИМЦ РАН, г. Тюмень.

Сергейчик Оксана Ивановна, канд. техн. наук, науч. сотрудник, лаборатория инструментальной диагностики, научный отдел инструментальных методов исследования, ТКНЦ, филиал Томского НИМЦ РАН, г. Тюмень.

(✉) Сенаторова Ольга Владимировна, e-mail: olga_senatorova@mail.ru.

УДК 616.12-008.3-085.22-036.8

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-176–184

For citation: Senatorova O.V., Khramova E.B., Kuznetsov V.A., Sergeychik O.I. Clinical and metabolic effects of aminophosphonate therapy in children with heart rhythm disturbances. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 176–184

Clinical and metabolic effects of aminophosphonate therapy in children with heart rhythm disturbances

Senatorova O.V.¹, Khramova E.B.², Kuznetsov V.A.¹, Sergeychik O.I.¹

¹ Tyumen Cardiology Research Center, branch of the Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences

111, Melnikayte Str., 625026, Tyumen, Russian Federation

² Tyumen State Medical University

4, Odesskaya Str., 625023, Tyumen, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of the survey is to summarize and assess a number of studies that examined the clinical and metabolic effects of aminophosphonates, particularly dimephosphon, which possess antioxidant and membrane-stabilizing effects. This paper presents a differential effect of dimephosphon on cell membrane functional activity as well as on structural features of platelet membrane as a model of smooth muscle cell in combined therapy in children with different clinical varieties of sick sinus syndrome.

Key words: aminophosphonates, dimephosphon, heart rhythm disturbances, sick sinus syndrome, children.

REFERENCES

1. Balykova L.A., Nazarova I.S., Tishina A.N. Lechenie aritmij serdca u detej [Treatment of cardiac arrhythmias in children] // *Prakticheskaya medicina – Practical medicine*. 2011; 5 (53): 30–37 (in Russian).
2. Shkolnikova M.A., Abdulatipova I.V., Adrianov A.V., Antsupova E.S., Bolsunovskiy V.A., Vasichkina E.S., Gordeev O.L., Egorov D.F., Ildarova R.A., Kalinin L.A., Kruchia T.K., Malkina E.V., Miklashevich I.M., Noskova M.V., Poliakov E.B., Senchik K.Yu., Harlap M.S. Diagnostika i lecheniye narushenij ritma i provodimosti [Diagnostics and treatment of cardiac rhythm and conduction disturbances] // SPb.: Chelovek Publ., 2012: 432 (in Russian).
3. Pediatriya: natsionalnoye rukovodstvo. V 2 t. [Pediatrics: national guidelines]. In 2 vol. // M.: GEOTAR-Media Publ., 2009: 228 (in Russian).
4. Poliakov E.B., Shkolnikova M.A. Mehanizmy formirovaniya, klassifikatsiya, klinicheskoye techeniye i prognoz «idiopaticeskikh» narusheniy funktsii sinusovogo uzla v detskom vozraste [Formation mechanisms, classification, the clinical course and prognosis of “idiopathic” sinus node dysfunction in children] // *Vestnik aritmologii – Journal of arrhythmology*. 2008. 52: 5–13 (in Russian).
5. Veltishchev Yu. E. Kletochnye membrany I patologiya detskogo vozrasta. Problemy membrannoy patologii v pediatrii. Sbornik nauchnykh trudov. [Cell membranes and child age pathology. Membrane pathology in paediatrics. Studies collection] // M., 1984: 180 (in Russian).
6. Vladimirov Yu. A., Dobretsov G. E. Fluorescentnye zondy v issledovanii biologicheskikh membrane [Fluorescent probes in the study of cell membranes] // M.: Nauka Publ., 1980: 320 (in Russian).
7. Sobakar M.S., Shix E.V. Antioksidantnaya terapiya i metabolicheskie podxody k lecheniyu zabolevaniy serdechno-sosudistoy sistemy [Cardiological biopharmaceuticals in the conception of drug targeting delivery: practical results and research perspectives] // *Biomedicina – Biomedicine*. 2010; 1 (3): 10–21 (in Russian).
8. Maksimenko A.V. Kardiologicheskiye biopharmatsevtiki v kontseptsii napravlennoy transporta lekarstv: prakticheskiye rezultaty i issledovatel'skiye perspektivy [Cardiac biopharmaceuticals in the concept of targeted transport of drugs: practical results and research prospects] // *Acta naturae – Acta Naturae*. 2012; 4 (3): 76–86 (in Russian).
9. Shilov A., Abdullaeva A. Antioksidanty v programme lecheniya polimorbidnykh bolnykh s metabolicheskim sindromom [Antioxydants in treatment of multimorbid patients with metabolic syndrome] // *Vrach – Doctor*. 2012; 7: 49–52 (in Russian).
10. Galenko-Yaroshevskiy P.A., Gukasov V.M., Gatsura V.V. Antioksidanty v sisteme sovremennoy terapii serdechno-sosudistoy patologii [Antioxidants in the modern treatment of cardiovascular disease] // *Medicina i vysokieye tekhnologii – Journal Medicine and High Technology*. 2014; 1: 6–20 (in Russian).
11. Philina E.A., Dlin V.V. Lekarstvennyye sredstva, primenyaemye v denskoy kardiologii. In book: Tsaregorodtsev A.D., Tabolin V.A. Rukovodstvo po farmakoterapii v pediatrii I detskoj hirurgii. T. 5. Klinicheskaya kardiologiya [Pharmakotherapy in paediatrics and paediatric surgery. Vol. 5. Clinical cardiology]. M.: Medpraktika-M Publ., 2004: 396 (in Russian).
12. Sorogin V.P., Senatorova O.V., Lykasov A.G., Zhuravleva T.D. Vliyaniye aminofosfonatov na strukturu i funktsiyu trombocitov u detey s disfunktsiey sinusovogo uzla [Influence of aminophosphonates on platelet structure and function in children with sinus node dysfunction] // *Meditsinskaya nauka i obrazovaniye Urala – Ural Education and Medical Science*. 2011; 1: 152–154 (in Russian).
13. Senatorova O.V., Khramova E.B., Sorogin V.P., Lykasov A.G., Rychkov A.Yu. Kliniko-patogeneticheskiye osobennosti disfunktsii sinusovogo uzla u detey pri razlichnykh klinicheskikh variantakh [Clinical and pathogenic peculiar features of different clinical types of sinus node dysfunction in pediatric patients] // *Vestnik aritmologii – Journal of Arrhythmology*. 2013; 73: 25–29 (in Russian).
14. Bulatov V.P. Primeneniye dimefosfona v pediatrii [Using Dimephosphon drug in pediatric] // *Poliklinika – Polyclinic*. 2009; 1: 129–131 (in Russian).
15. Yurieva E.A., Semiachkina S.V., Alieva D.M., Alekseeva N.V., Yatskevich E.E., Makkaev H.M., Dlin V.V. Dimefosfon – preparat shirokogo spektra deystviya pri lechenii zabolevaniy u detey [Dimephosphon as a broad-spectrum agent for treatment diseases in children] // *Vestnik pediatricheskoy farmakologii i nutritsiologii – Bulletin of Pediatric Pharmacology and Nutriciology*. 2006; 3 (1): 69–76 (in Russian).
16. Dimefosfon. Registr lekarstvennykh sredstv Rossii. (Elektronnyy resurs) [Dimephosphon. Register of pharmaceuticals in Russia] // Rezhim dostupa: http://www.rlsnet.ru/tn_index_id_4441.htm (Data obrashcheniya 12.12.2016). (Electronic source). Access mode: http://www.rlsnet.ru/tn_index_id_4441.htm (Accessed date 12.12.2016) (in Russian).
17. Dlin V.V., Ignatova M.S., Osmanov I.M., Yurieva E.A., Morozov S.L. Dismetabolicheskiye nefropatii u detei [Dysmetabolic nephropathy in children] // *Rossiiskiy vestnik perinatologii I pediatrii – Russian Newspaper of Perinatology and Paediatrics*. 2012; 5: 36–44 (in Russian).
18. Hafizyanova R.H., Merzahmedova M.K., Burykin I.M. Perspektivy primeneniya otechestvennogo preparata dimefosfon (dimetiloksobutilfosfonildimetilat) dlya lecheniya zhenschin s klimaktericheskimi sindromom umerennoy stepeni tiazhesti [Dimephosphon (dimethyloxobutylphosphonilmethylate) is promising drug for treatment of women with moderate climacteric syndrome] // *Fundamentalniye issledovaniya – Fundamental Research*. 2015; 1: 1955–1961 (in Russian).

19. Danilov V.I. DIMEPHOSPHON. Primeneniye v neyrohirurgii i nevrologii [DIMEPHOSPHON. Using in neurology & neurosurgery] // *Poliklinika – Polyclinic*. 2008; 2: 12–13 (in Russian).
20. Kuznetsov M.R., Virgansky A.O., Kosykh I.V., Yumin S.M., Kunitsyn N.V., Golosnitskiy P.Yu., Neshodimov L.A., Magnitskiy L.A., Mnatsakanyan G.T., Fukalov A.S. Vozmozhnosti metabolicheskoy terapii pri ateroskleroze [The possibility of metabolic treatment in atherosclerosis] // *Neurologicheskii zhurnal – Neurology Journal*. 2014; 4: 56–60. DOI:10.18821/1560-9545-2014-19-4-56-60 (in Russian).
21. Poluektov M.G., Tsenteradze S.L. Vozmozhnosti lecheniya ishemicheskogo insulta v nevrologicheskom statsionare [Ischemic Stroke Treatment in Neurological Unit] // *Effektivnaya farmakoterapiya – Effective Pharmacotherapy*. 2014; 49: 32–38 (in Russian).
22. Frolova N.Yu., Buryakina A.V., Melnikova T.I. Neyroprotektory v pediatricheskoy praktike [Neuroprotectors in pediatric practice] // *Remedium – Remedium*. 2015; September: 54–60. DOI:10.21518/1561-5936-2015-9-54-60 (in Russian).
23. Tsaregorodtsev A.D., Nikolaev A.M. Terapevticheskaya effektivnost dimefosfona u detey rannego vozrasta [Therapeutic effect of dimephosphon in early-aged children] // *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii – Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 1994; 39 (6): 34–36 (in Russian).
24. Vizel A.A., Vizel A.O., Shchukina L.I. Dimetiloksobutilfosfonildimetilat (Dimefosfon): primeneniye v pulmonologii i phtizii [Dimethyloxobutylphosphonyldimethylat (Dimephosphon): using in pulmonology and phthisiology] // *Pulmonologiya i allergologiya – Pulmonology and Allergology*. 2013; 3: 41–44 (in Russian).
25. Vizel A.O., Garaev R.S. Novyi aspekt farmakologicheskogo podkhoda k soedineniyam fosfora.: dimefosfon [A new aspect of pharmacological approach to phosphorus compounds: dimephosphon] / Kazan: Pechat–Servis–XXI vek Publ., 2011: 189 (in Russian).
26. Bershova T.V., Gasanov A.G., Monaenkova S.V., Bakanov M.I., Basargina E.N., Ivanov A.P. Vozmozhnye mekhanizmy i patofiziologicheskaya znachimost apoptosa v patogeneze khronicheskoy serdechnoy nedostatochnosti u detey i podrostkov [Possible mechanisms and pathophysiologic value of apoptosis in pathogenesis of congestive heart failure in children and teenagers] // *Pediatriya – Paediatrics*. 2010; 89 (3): 21–27 (in Russian).
27. Xiao J., She Q., Wang Y. et al. Effect of allopurinol on cardiomyocyte apoptosis in rats after myocardial infarction // *Eur. J. of Heart Failure*. 2009; 11 (1): 20–27. DOI: 10.1093/eurjhf/hfn003.
28. Orlova E.V., Kostanyan I.A., Panov V.P. Rol regulyatornykh belkov apoptoza v kletochnom Ca^{2+} gomeostaze [Regulatory proteins of apoptosis in the cell Ca^{2+} homeostasis] // *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal – Chemistry and pharmaceutical journal*. 2005; 12: 3–8 (in Russian).
29. Ershova A.K. O primeneni preparata Xidiphon pri narushenii kaltsievogo obmena [About the use of xydiphon in calcium metabolism disorders] // *Russkiy medicinskiy zhurnal – Russian Medical Journal*. 2010; 18 (14): 884–886 (in Russian).
30. Djokanovic N., Klieger-Grossmann C., Koren G. Does treatment with bisphosphonates endanger the human pregnancy? // *J Obstet Gynaecol Can.* 2008; 30 (12): 1146–1148.
31. Russell RG. Bisphosphonates: mode of action and pharmacology // *Pediatrics*. 2007; 119: 150–162.
32. Dwan K., Phillipi C.A., Steiner R.D., Basel D. Bisphosphonate therapy for osteogenesis imperfecta // *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016; 19.
33. Osipova L.A., Shelehova T.V., Bogoslovskaya S.I., Nikiforova N.E. Optimizatsiya farmakoterapii osteopenii u detey s khronicheskimi pielonefritom [Optimization of pharmacotherapy of osteopenia in children with chronic pyelonephritis] // *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal – Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2010; 6 (1): 43–45 (in Russian).
34. Maltsev S.V., Mansurova G. S. Sovremennyye aspekty osteoporoza u detey [Modern aspects of osteoporosis in children] // *Prakticheskaya meditsina – Practical medicine*. 2015; 92 (7): 15–21 (in Russian).
35. Dae Hyun Kim, James R. Rogers, Lisa A. Fulchino, Caroline A. Kim, Daniel H. Solomon, Seoyoung C. Kim. Bisphosphonates and Risk of Cardiovascular. Events: A Meta-Analysis // *PLoS One*. 2015; Apr 17; 10 (4). DOI:10.1371/journal.pone.0122646.
36. Balykova L.A., Balashov V.P., Shkolnikova M.A., Kemaeva N.N. Effektivnost dimefosfona pri narusheniyakh ritma serts u detey [Elektronnyi resurs] [Efficiency of dimiphosphon in children's heart rhythm disturbance [Electronic resource]. Rezhym dostupa: <http://nature.web.ru/db/msg.html?mid=1174291&s=111400060> [Data obrashcheniya 06.03.2017] - Access mode: <http://nature.web.ru/db/msg.html?mid=1174291&s=111400060> [Application date 06.03.2017].
37. Balykova L.A., Balashov V.P., Markelova I.A., Almyasheva M.I. Preparaty metabolicheskogo tipa deystviya v lechenii aritmiy serdtsa [Metabolic agents in therapy of cardiac arrhythmias]. Saransk: Referent Publ., 2007: 134 (in Russian).
38. Senatorova O.V., Khramova E.B. Mekhanizm formirovaniya disfunktsii sinusovogo uzla u detey [The mechanisms of formation of sinus node dysfunction in children] // *Lechenie i profilaktika – Treatment and Prevention*. 2016; 1: 35–38 (in Russian).
39. Svatko L.G., Tsibulkina V.N., Studentsova I.A., Rafailov V.V. Diagnosticheskie kriterii i ocenka effektivnosti primeneniya dimefosfona v lechenii sekretornogo srednego otita u detey [Diagnostic criteria and effectiveness evaluation of dimephosphon in treatment of secretory otitis media in children]. Aktualniye problemy

otorinolaringologii. Sbornik trudov [Actual problems of otorhinolaryngology. Collection of scientific works]. M., 1997: 136 (in Russian).

40. Hafizyanova R.H., Borodin Ju.I. Farmakoterapiya hron-

icheskoj placentarnoy nedostatochnosti [Pharmacotherapy of chronic placental insufficiency] // *Kazanskiy medicinskiy zhurnal – Kazan Medical Journal*. 2003; 6: 443–446 (in Russian).

Received January 18.2017

Accepted June 30.2017

Senatorova Olga V., PhD, Junior Researcher, Laboratory of Epidemiology and Prevention of Cardiovascular Diseases, Tyumen Cardiology Center, branch of the Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tyumen, Russian Federation.

Khramova Elena B., DM, Head of the Department of Children Diseases, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation.

Kuznetsov Vadim A., DM, Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Director of Tyumen Cardiology Center, branch of the Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tyumen, Russian Federation.

Sergeychik Oksana I., PhD, Scientific Researcher, Laboratory of Instrumental Diagnostics, Tyumen Cardiology Center, branch of the Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tyumen, Russian Federation.

(✉) **Senatorova Olga V.**, e-mail: olga_senatorova@mail.ru.

УДК 616-018.27-007.17-039

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-185–191

Для цитирования: Уфимцева М.А., Бочкарев Ю.М., Лесная О.Д., Береснева Т.А. Псевдоксантома эластическая: обзор литературы и описание клинических случаев. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 185–191

Псевдоксантома эластическая: обзор литературы и описание клинических случаев

Уфимцева М.А.¹, Бочкарев Ю.М.¹, Лесная О.Д.², Береснева Т.А.¹

¹ Уралский государственный медицинский университет
Россия, 620028, г. Екатеринбург, ул. Ретина, 3

² Оренбургский государственный медицинский университет
Россия, 460000, г. Оренбург, ул. Советская, 6

РЕЗЮМЕ

В статье изложена современная точка зрения на этиологию, патогенез, клинику, диагностику и лечение псевдоксантомы эластической. Приведено описание двух клинических случаев данного заболевания с вовлечением соединительной ткани, проявляющегося псевдоксантомными образованиями на коже, плоскостопием, сколиозом и пролапсом митрального клапана. Полисистемность поражения предполагает междисциплинарный подход к диагностике и лечению патологии.

Ключевые слова: псевдоксантома эластическая, минерализация соединительной ткани, междисциплинарный подход.

ВВЕДЕНИЕ

Псевдоксантома эластическая (ПКЭ) – это редкое наследственное системное заболевание с аутомно-рецессивным типом наследования, в основе которого лежит патологическая минерализация рыхлой соединительной ткани, с преимущественным поражением кожи, органа зрения и сердечно-сосудистой системы [1, 2]. Распространенность в популяции 1 : 25 000–100 000. Женщины болеют чаще мужчин (2 : 1). Заболевание характеризуется внутрисемейной и популяционной гетерогенностью [3]. Jouni Uitto (2015) предположил, что гены-модификаторы, эпигенетические факторы, образ жизни, в том числе и особенности диеты, могут изменить тяжесть фенотипических проявлений [4]. Редко манифестирует в детском возрасте, чаще симптомы выявляются во втором или третьем десятилетии жизни [3]. В некоторых случаях болезнь не диагностируется

до развития офтальмологических и сердечно-сосудистых осложнений, что влечет экономические и социальные проблемы. Цель исследования: изучить клинические проявления у лиц с ПКЭ.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Проведен литературный обзор материалов отечественных и зарубежных исследователей, описывающих течение ПКЭ с использованием поисковых систем PubMed, Google Scholar, BioMed Central. F. Balzer (1884) впервые описал кожные проявления данного заболевания и назвал их «эластическая ксантома». J. Darier (1896) на основании гистологического анализа кожных изменений назвал данное заболевание «псевдоксантома эластическая». Шведский офтальмолог E. Groenblad и норвежский дерматолог J. Strandberg (1929) сообщили о случаях сочетания псевдоксантомы с ангиоидными полосами сетчатки. Впоследствии такое сочетание офтальмологи стали называть синдромом Гренблада – Страндберга [5].

✉ Уфимцева Марина Анатольевна, e-mail: mail-m@mail.ru.

ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ

Этиология ПКЭ до настоящего времени не известна. В основе патогенеза заболевания лежит мутация гена *ABCC6* (расположенного на коротком плече хромосомы 16), кодирующего АТФ-зависимый белок-переносчик MRP6. Известно более 300 мутаций гена, включая миссенс- и нонсенс-мутации, интронные мутации, небольшие делеции и инсерции, которые были описаны у пациентов с ПКЭ [1, 2]. Этот мембранный белок экспрессируется главным образом в печени, в меньшей степени – в проксимальных канальцах почек, минимально в тканях, подверженных эктопической минерализации. В исследованиях показано, что MRP6 необходим для высвобождения аденозинтрифосфата (АТФ) из гепатоцитов во внеклеточную среду, где он быстро ферментируется до неорганического пирофосфата (PPi) и аденозинмонофосфата (АМФ) с помощью эктонуклеотидной пирофосфотазы/фосфодиэстеразы-1 (ENPP1). CD73 преобразует АМФ в фосфат-ион (Pi) и аденозин. Последний является ингибитором неспецифической тканевой щелочной фосфатазы (TNAP), которая в свою очередь гидролизует пирофосфат до фосфат-иона. PPi является мощным физиологическим антиминерализующим фактором, а Pi – фактор проминерализации, и определенное соотношение пирофосфата и фосфата (PPi/Pi) в циркулирующей крови предотвращает эктопическую минерализацию. В результате мутации снижается концентрация внеклеточных АТФ и нарушается PPi/Pi, что способствует обызвествлению и фрагментации эластических волокон [3, 6]. Высказано предположение о том, что усиленное накопление протеогликанов в пораженных участках может быть результатом нарушения нормальной структуры внеклеточного матрикса и эластических волокон [7].

Таким образом, патогенез и клинические проявления ПКЭ укладываются в понятие о диспластических заболеваниях соединительной ткани. Дисплазия соединительной ткани (ДСТ) – полиорганный и полисистемный патологический процесс с прогрессирующим течением, в основе которой лежат дефекты синтеза или катаболизма компонентов внеклеточного матрикса или регуляторов морфогенеза соединительной ткани. Полиорганный и полисистемный характер поражения обусловлены повсеместным присутствием соединительной ткани в организме [8].

Кожные проявления, как правило, являются первым признаком эластической псевдоксантомы, однако у части больных они могут отсутство-

вать. Патологический процесс представлен в виде множества сгруппированных мелких (1–5 мм) округлых желтоватых или телесных папул, образующих сетчатую структуру, которые постепенно сливаются в более крупные бляшки. Папулы чаще располагаются на коже шеи, подмышечных впадин, локтей, коленей и паховых складок. Пораженные участки кожи становятся утолщенными, дряблыми, морщинистыми. Реже вовлекается слизистая оболочка нижней губы. Патологический процесс представлен желтовато-белыми пятнами или папулами, иногда образующими сетчатые структуры [7]. В большинстве случаев кожный патологический процесс вызывает беспокойство пациентов по поводу неэстетичного вида. Однако появление дополнительных неэластичных складок кожи в области шеи и бедер может вызвать функциональные проблемы, например, во время сна или при езде на велосипеде [9]. Несмотря на то что кожные повреждения, главным образом, представляют собой косметическую проблему, они предвещают риск развития серьезных глазных и сердечно-сосудистых осложнений.

Офтальмологические признаки ПКЭ (поражение глазного дна) включают симптом «апельсиновой корки», ангиоидные полосы, хориоидную неоваскуляризацию, кровоизлияния и образование рубцов. Симптом «апельсиновой корки» является самым ранним изменением на глазном дне, который предшествует развитию ангиоидных полос. «Апельсиновая корка» представлена в виде пигментированных мелких темных пятен преимущественно в латеральной части глазного дна, в результате чего оно имеет пестрый вид. Ангиоидные полосы являются наиболее очевидными и стойкими признаками поражения глазного дна при ПКЭ. Гистопатологически ангиоидные полосы представляют собой разрывы хрупкой, обызвествленной и утолщенной мембраны Бруха. Хориоидальная неоваскуляризация макулярной области является наиболее частым осложнением у пациентов с ПКЭ. Процесс протекает на фоне ангиоидных полос с субретинальными кровоизлияниями, экссудацией, формированием фиброваскулярных рубцов и последующим снижением остроты зрения [1]. Нередко хориоидальная неоваскуляризация развивается через несколько недель после тупой травмы глаза [10].

В течении процесса хориоидальной неоваскуляризации отмечается три стадии по Vivaldi. I стадия – бессимптомная, при которой на глазном дне в области эластической мембраны сетчатки (мембрана Бруха) обнаруживаются ангиоидные полосы. Цвет полос – от сероватого до корич-

нево-красного. Они локализируются перипапиллярно, радиально к диску зрительного нерва, в центральной зоне и на средней периферии глазного дна, глубже сетчатки. II стадия характеризуется резким снижением зрения вследствие формирования субретинальной неоваскулярной мембраны в макулярной области. III стадия – рубцовое перерождение очага, развитие скотомы и необратимая потеря зрения. Течение заболевания хроническое, на протяжении десятков лет [5].

Сердечно-сосудистые проявления у больных ПКЭ многочисленны и включают в себя снижение периферического пульса, артериальную гипертензию, стенокардию, патологию клапанного аппарата сердца, рестриктивную кардиомиопатию и перемежающуюся хромоту. Характерен атеросклероз в более молодом возрасте, острый инфаркт миокарда и инсульт. Наряду с перечисленными состояниями наблюдаются желудочно-кишечные кровотечения, проявляющиеся в виде кровавой рвоты и мелены. Патогистологически поражение сердечно-сосудистой системы в основном вызваны минерализацией и фрагментацией эластичных волокон внутренней, медиальной и адвентициальной оболочек артерий среднего калибра и аорты, а также эндокарда, перикарда, соединительной ткани в миокарде и интрамиокардиальных артериол и эпикардиальных коронарных артерий [11, 12].

У больных ПКЭ возможно наличие и других симптомов, относящихся к ДСТ, таких как гипермобильность суставов, сколиоз, плоскостопие, высокое небо, стрии на коже, паукообразные пальцы.

ДИАГНОСТИКА

Золотым стандартом диагностики является обнаружение гомозиготного или составного гетерозиготного генотипа по известным болезнью-ассоциированным мутациям в гене *ABCC6*. Считается, что наличие двух мутаций в гене *ABCC6* достаточно для постановки диагноза ПКЭ. Клиническими критериями диагноза являются: наличие глазных симптомов («апельсиновая корка» и (или) ангиоидные полосы) в сочетании с одним или двумя кожными симптомами (наличие папул или бляшек с кожной дряблостью или без; характерная гистопатологическая картина кожи, биопсированной из пораженного участка, или с шейной области при отсутствии видимых изменений) [12].

Гистологическое исследование измененных кожных покровов имеет важное диагностическое значение для постановки окончательного диа-

гноза ПКЭ. Главным гистологическим признаком псевдоксантомы эластической является прогрессирующая минерализация и фрагментация эластических волокон (эластореаксис) среднего слоя дермы, что приводит к формированию специфической гистологической картины [8].

При световой микроскопии используют окраски по Ван Гизону, специфичной для эластичных волокон, Фон Косса (для выявления выпавших в ткани нерастворимых фосфатов) или ализаринового красного (индикатор для солей кальция в тканях) и, соответственно, выявляются фрагментированные эластичные волокна и кальцификация в средних слоях дермы. При электронной микроскопии можно выявить два типа обызвествления: мелкие включения в центре волокна и крупные преципитаты, деформирующие волокна [1].

M. Guérin-Moreau et. al (2013) использовали высокочастотную ультрасонографию в качестве неинвазивного метода диагностики кожи у пациентов с ПКЭ. Авторами выявлены характерные для заболевания признаки: овальные однородные гипоэхогенные области в мезодерме. Гипоэхогенный сигнал получен в связи с локальным отложением гликозаминогликанов и гидратацией этих участков, что подтверждено гистологическим исследованием образцов. Данный метод может быть применен для диагностики среды ПКЭ в сомнительных случаях. Ультразвуковое исследование позволит оптимизировать выбор участка кожи для биопсии у пациентов с минимальными клиническими изменениями или без них [13]. После подтвержденного диагноза ПКЭ целесообразно направить больного на консультацию к терапевту, кардиологу, офтальмологу и ортопеду для исключения и коррекции патологии сердечно-сосудистой системы, глаз и опорно-двигательного аппарата.

ЛЕЧЕНИЕ

В настоящее время не разработано эффективное специфическое лечение ПКЭ. В экспериментальных исследованиях на мышах с мутацией в гене показано, что бисфосфонаты, введенные до начала процесса обызвествления, значительно снижают степень минерализации в тканях. Результат подтвержден гистологическим исследованием. Однако введение этидроната не способствует растворению минеральных отложений, сформировавшихся до начала лечения. Таким образом, применение бисфосфонатов тормозит обызвествление тканей на том уровне, при котором начато лечение [3]. Главной проблемой применения бисфосфонатов является их плохая

всасываемость при пероральном применении (1% и менее), в связи с чем необходимо использовать высокие дозы препарата [14].

Имеются данные об эффективном использовании биологических препаратов для лечения офтальмологических осложнений, например хориоидальной неоваскуляризации. По сообщению авторов, после интравитреального введения ингибиторов сосудистого эндотелиального фактора роста (анти-VEGF) острота зрения восстанавливается, по данным оптической когерентной томографии отсутствует субретинальный отек [15].

Всем больным необходимо провести медико-генетическое консультирование, обследование всех членов семьи. Больной должен находиться на диспансерном учете у врача общей практики и офтальмолога. В I стадии офтальмологического поражения назначается наблюдение, рекомендуется избегать малейшего травмирования глаз и носить защитные очки во время работы и занятий спортом. Существенные трудности представляет лечение II стадии. Имеются работы о применении лазеркоагуляции ангио-

идных полос, стремящихся к макулярной зоне. Однако достоверных данных об эффективности данного метода лечения не получено. При появлении субретинальной неоваскулярной мембраны наиболее целесообразным считается применение комбинированной терапии, включающей интравитреальное введение ингибиторов VEGF и фокальную лазеркоагуляцию СНМ. В III стадии лечение неэффективно [5].

ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ СЛУЧАЕВ

Пациент А., 20 лет, активных жалоб не предъявляет. При прохождении медкомиссии в военкомате были обнаружены высыпания на коже, направлен на консультативный прием на кафедру кожных и венерических болезней Уральского государственного медицинского университета. При клиническом осмотре выявлена гипермобильность суставов, плоскостопие, арахнодактилия (рис. 1). На коже нижней части шеи по средней линии высыпания представлены папулами диаметром 2–3 мм, с четкими границами, округлых очертаний, уплощенной формы, телесного цвета, расположенными на гиперпигментированном фоне, безболезненными (рис. 2).



Рис. 1. Арахнодактилия у больного А., 20 лет
Fig. 1. Arachnodactyly in patient A., 20 years old

Из пораженного участка кожи взят образец для гистологического исследования. Заключение: эпидермис без изменений, скопление склеившихся, утолщенных и фрагментированных эластических волокон с обызвествлением в среднем и глубоком слоях дермы. Выставлен диагноз: псевдоксантома эластическая. Направлен на консультацию терапевта, кардиолога, офтальмолога.

Консультация кардиолога. Заключение: пролапс митрального клапана I степени, регургитация 0-1+.



Рис. 2. Больной А., 20 лет. Кожный патологический процесс представлен ограниченными высыпаниями, расположенными по средней линии шеи в нижней ее половине, элементы монотипные, образуют скопления. Высыпания представлены папулами диаметром 2–3 мм, с четкими границами, округлых очертаний, уплощенной формы, телесного цвета, расположенными на гиперпигментированном фоне

Fig. 2. Patient A., 20 years old: the cutaneous pathological process is represented by limited eruptions located along the middle line of the neck lower half, the elements are monomorphic, they form clusters. The eruptions are represented by papules of 2–3 mm in diameter, with clear boundaries, rounded outlines, flattened shape, flesh colored, located on a hyperpigmented background

Пациент П., 18 лет, активных жалоб не предъявляет. При прохождении медкомиссии в военкомате были обнаружены высыпания на коже, направлен на консультативный прием на кафедру кожных и венерических болезней Уральского государственного медицинского университета.

При клиническом осмотре выявлен сколиоз, высокое нёбо. На коже средней линии шеи от яремной впадины до подбородка – ограниченные высыпания, элементы мономорфные, образуют скопления в виде сетчатых структур. Представлены папулами диаметром 1–4 мм, с четкими границами, округлых очертаний, сферической формы, телесного цвета, безболезненные (рис. 3).



Рис. 3. Больной Б., 18 лет. Кожный патологический процесс представлен ограниченными высыпаниями, расположенными по средней линии шеи от яремной впадины до подбородка, элементы мономорфные, образуют скопления в виде сетчатых структур. Высыпания представлены папулами диаметром 1–4 мм, с четкими границами, округлых очертаний, сферической формы, телесного цвета, безболезненными

Fig. 3. Patient B., 18 years old: the cutaneous pathological process is represented by limited eruptions located along the middle line of the neck from the jugular hollow to the chin, the elements are monomorphic, forming aggregations in the form of reticular structures. The eruptions are represented by spherical, flesh-colored, painless papules of 1–4 mm in diameter, with clear boundaries, rounded outlines

На коже спины, преимущественно в области поясницы имеются стрии телесного цвета. Диагноз: псевдоксантома эластическая. Направлен на консультацию терапевта, кардиолога, офтальмолога.

Консультация офтальмолога. Заключение: авторефрактометрия OD (правый глаз) – 1\с\л-2; OS (левый глаз) – 1\с\л-1,5; биомикроскопия: норма. Глазное дно: дно зрительного нерва бледно-розовый, с четкими границами, ход сосудов

не изменен, артерии умеренно расширены, вены нормального калибра, макула без особенностей, по периферии очаговые затемнения и кровоизлияния, ангиоидные полосы. Диагноз: хориоидальная неоваскуляризация I степени.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Псевдоксантома эластическая – редкое наследственное системное заболевание с вовлечением соединительной ткани, преимущественным поражением кожи, глаз и сердечно-сосудистой системы. Часто кожные проявления являются первым симптомом патологии. Поэтому дерматовенеролог, диагностировав ПКЭ, обязан направить пациента к смежным специалистам – терапевту, офтальмологу, кардиологу.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии источников финансирования при проведении исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Marconi B., Bobyr I., Campanati A., Molinelli E., Con-sales V., Brisigotti V., Scarpelli M., Racchini S., Offidani A. Pseudoxanthoma elasticum and skin: Clinical manifestations, histopathology, pathomechanism, perspectives of treatment // *Intractable Rare Dis. Res.* 2015; 4 (3): 113–122. DOI: 10.5582/iridr.2015.01014.
2. Uitto J., Li Q., Jiang Q. Pseudoxanthoma elasticum: molecular genetics and putative pathomechanisms // *J. of Invest. Dermatol.* 2010; 130 (3): 661–670. DOI: 10.1038/jid.2009.411.
3. Li Q., Kingman J., Sundberg J.P., Levine M.A., Uitto J. Etidronate prevents, but does not reverse, ectopic mineralization in a mouse model of pseudoxanthoma elasticum (Abcc6^{-/-}) // *Oncotarget.* 2016. DOI: 10.18632/oncotarget.10738.
4. Uitto J., Wang G. Molecular genetics of heritable skin diseases: pseudoxanthoma elasticum as a paradigm of China-US collaboration // *J. of invest. Dermatol.* 2015; 17.(1): 20–21. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/jidsymp.2015.17>.
5. Тимохов В.Л., Русановская А.В. Синдром Гренблада – Страндберга // *Офтальмологические ведомости.* 2014; 7(4): 69–72.
6. Li Q., Arányi T., Váradi A., Terry S.F., Uitto J. Research progress in pseudoxanthoma elasticum and related ectopic mineralization disorders // *J. Invest. Dermatol.* 2016; 136 (3): 550–556. DOI: 10.1016/j.jid.2015.10.065.
7. Matsuo F.S., Berbert A.V., Mantese S.O., Loyola A.M., Cardoso S.V., Faria P.R. Pseudoxanthoma elasticum of

- the skin with involvement of the oral cavity // *Case Rep. Dent.* 2013; 2013: 490785. DOI: 10.1155/2013/490785.
8. Ляховецкий Б.И., Глазкова Л.К., Перетолчина Т.Ф. Дисплазия соединительной ткани: роль коллагеновых белков дермы // *Российский журнал кожных и венерических болезней.* 2012; 3: 19–22.
 9. Vilder Ey.G., Vanakker O.M. From variome to phenome: Pathogenesis, diagnosis and management of ectopic mineralization disorders // *World J. Clin. Cases.* 2015; 3 (7): 556–574. DOI: 10.12998/wjcc.v3.i7.556.
 10. Kubota M., Hayashi T., Arai K. Choroidal neovascularization after blunt ocular trauma in angioid streak // *Clin. Ophthalmol.* 2013; 7: 1347–1351. DOI: 10.2147/OPHT.S45818.
 11. Prunier F., Terrien G., Le Corre Y., Apana A., Bière L., Kauffenstein G., Furber A., Bergen A., Gorgels T., Le Saux O., Leftheriotis G., Martin L. Pseudoxanthoma Elasticum: Cardiac Findings in Patients and Abcc6-Deficient Mouse Model // *PLoS ONE.* 2013; 8 (7). DOI: 10.1371/journal.pone.0068700.
 12. Uitto J., Jiang Q., Váradi A., Bercovitch L.G., Terry S.F. Pseudoxanthoma elasticum: diagnostic features, classification, and treatment options // *Expert Opin. Orphan Drugs.* 2014; 2(6): 567–577. <https://doi.org/10.1517/21678707.2014.908702>.
 13. Guérin-Moreau M., Leftheriotis G., Le Corre Y., Etienne M., Amode R., Hamel J.F., Croué A. Le Saux O., Machet L., Martin L. High-frequency (20–50 MHz) ultrasonography of pseudoxanthoma elasticum skin lesions // *Br. J. Dermatol.* 2013; 169 (6): 1233–1239. DOI: 10.1111/bjd.12545.
 14. Li Q., Sundberg J.P., Levine M.A., Terry S.F., Uitto J. The effects of bisphosphonates on ectopic soft tissue mineralization caused by mutations in the ABCC6 gene // *Cell Cycle.* 2015; 14 (7): 1082–1089. DOI: 10.1080/15384101.2015.1007809.
 15. Yilmaz I., Ozkaya A., Alkin Z., Yazici A.T. Intravitreal ranibizumab for bilateral choroidal neovascularisation in a patient with angioid streaks // *BMJ Case Rep.* 2014; 2014. pii: bcr2014204848. DOI: 10.1136/bcr-2014-204848.

Поступила в редакцию 31.12.2016

Утверждена к печати 30.06.2017

Уфимцева Марина Анатольевна, д-р мед. наук, зав. кафедрой кожных и венерических болезней, Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург.

Бочкарев Юрий Михайлович, канд. мед. наук, доцент, кафедра кожных и венерических болезней, Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург.

Лесная Ольга Дмитриевна, ординатор, кафедра дерматовенерологии, Оренбургский государственный медицинский университет, г. Оренбург.

Береснева Татьяна Алексеевна, аспирант, кафедра кожных и венерических болезней, Уральский государственный медицинский университет, г. Екатеринбург.

(✉) Уфимцева Марина Анатольевна, e-mail: mail-m@mail.ru.

УДК 616-018.27-007.17-039

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-185–191

For citation: Ufimtseva M.A., Bochkarev J.M., Lesnaya O.D., Beresneva T.A. Pseudoxanthoma elasticum: literature review and case reports. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2017; 16 (3): 185–191

Pseudoxanthoma elasticum: literature review and case reports

Ufimtseva M.A.¹, Bochkarev J.M.¹, Lesnaya O.D.², Beresneva T.A.¹

¹Ural State Medical University

3, Str. Repina, Ekaterinburg, 620028, Russian Federation

²Orenburg State Medical University

6, Str. Sovetskaya, Orenburg, 460000, Russian Federation

ABSTRACT

The article presents an up-to-date point of view of the etiology, pathogenesis, clinical aspects, diagnosis and treatment of pseudoxanthoma elasticum. A description of two cases of this disease involving connective tissue and manifested by skin pseudoxanthomas, flatfoot, scoliosis and mitral valve prolapse is included. Our results

demonstrate that polysystem involvement requires an interdisciplinary approach to diagnosing and treating the pathology of the disease.

Key words: pseudoxanthoma elasticum, connective tissue mineralization, interdisciplinary approach.

REFERENCES

1. Marconi B., Bobyr I., Campanati A., Molinelli E., Consales V., Brisigotti V., Scarpelli M., Racchini S., Offidani A. Pseudoxanthoma elasticum and skin: Clinical manifestations, histopathology, pathomechanism, perspectives of treatment // *Intractable Rare Dis. Res.* 2015; 4 (3): 113–122. DOI: 10.5582/irdr.2015.01014.
2. Uitto J., Li Q., Jiang Q. Pseudoxanthoma elasticum: molecular genetics and putative pathomechanisms // *J. of Invest. Dermatol.* 2010; 130 (3): 661–670. DOI: 10.1038/jid.2009.411.
3. Li Q., Kingman J., Sundberg J.P., Levine M.A., Uitto J. Etidronate prevents, but does not reverse, ectopic mineralization in a mouse model of pseudoxanthoma elasticum (Abcc6^{-/-}). // *Oncotarget*. 2016. DOI: 10.18632/oncotarget.10738.
4. Uitto J., Wang G. Molecular genetics of heritable skin diseases: pseudoxanthoma elasticum as a paradigm of China-US collaboration // *J. of invest. Dermatol.* 2015; 17.(1): 20–21. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/jidsymp.2015.17>.
5. Timokhov V.L., Rusanovskaya A.V. Sindrom Grenblada – Strandberga [Grönblad – Strandberg syndrome] // *Oftalmologicheskie vedomosti – Ophthalmology Journal*. 2014; 7(4): 69–72 (in Russian).
6. Li Q., Arányi T., Váradi A., Terry S.F., Uitto J. Research progress in pseudoxanthoma elasticum and related ectopic mineralization disorders // *J. Invest. Dermatol.* 2016; 136 (3): 550–556. DOI: 10.1016/j.jid.2015.10.065.
7. Matsuo F.S., Berbert A.V., Mantese S.O., Loyola A.M., Cardoso S.V., Faria P.R. Pseudoxanthoma elasticum of the skin with involvement of the oral cavity // *Case Rep. Dent.* 2013; 2013: 490785. DOI: 10.1155/2013/490785.
8. Lyakhovetskiy B.I., Glazkova L.K., Peretolchina T.F. Displaziya soedinitelnoy tkani: rol kollagenovykh belkov dermy [Connective tissue dysplasia: significance of dermal collagen proteins] // *Rossiyskiy zhurnal kozhnykh i venericheskikh bolezney – Russian Journal of Skin and Venereal Diseases*. 2012; 3: 19–22 (in Russian).
8. Ляховецкий Б.И., Глазкова Л.К., Перетолчина Т.Ф. Дисплазия соединительной ткани: роль коллагеновых белков дермы // *Российский журнал кожных и венерических болезней*. 2012; 3: 19–22.
9. Vilder Ey.G., Vanakker O.M. From variome to phenome: Pathogenesis, diagnosis and management of ectopic mineralization disorders // *World J. Clin. Cases*. 2015; 3 (7): 556–574. DOI: 10.12998/wjcc.v3.i7.556.
10. Kubota M., Hayashi T., Arai K. Choroidal neovascularization after blunt ocular trauma in angiod streak // *Clin. Ophthalmol.* 2013; 7: 1347–1351. DOI: 10.2147/OPHTH.S45818.
11. Prunier F., Terrien G., Le Corre Y., Apana A., Bière L., Kauffenstein G., Furber A., Bergen A., Gorgels T., Le Saux O., Leftheriotis G., Martin L. Pseudoxanthoma elasticum: cardiac findings in patients and abcc6-deficient mouse model // *PLoS ONE*. 2013; 8 (7). DOI: 10.1371/journal.pone.0068700.
12. Uitto J., Jiang Q., Váradi A., Bercovitch L.G., Terry S.F. Pseudoxanthoma elasticum: diagnostic features, classification, and treatment options // *Expert Opin. Orphan Drugs*. 2014; 2 (6): 567–577. <https://doi.org/10.1517/21678707.2014.908702>.
13. Guérin-Moreau M., Leftheriotis G., Le Corre Y., Etienne M., Amode R., Hamel J.F., Croué A. Le Saux O., Machet L., Martin L. High-frequency (20–50 MHz) ultrasonography of pseudoxanthoma elasticum skin lesions // *Br. J. Dermatol.* 2013; 169 (6): 1233–1239. DOI: 10.1111/bjd.12545.
14. Li Q., Sundberg J.P., Levine M.A., Terry S.F., Uitto J. The effects of bisphosphonates on ectopic soft tissue mineralization caused by mutations in the ABCC6 gene // *Cell Cycle*. 2015; 14 (7): 1082–1089. DOI: 10.1080/15384101.2015.1007809.
15. Yilmaz I., Ozkaya A., Alkin Z., Yazici A.T. Intravitreal ranibizumab for bilateral choroidal neovascularisation in a patient with angiod streaks // *BMJ Case Rep*. 2014; 2014. pii: bcr2014204848. DOI: 10.1136/bcr-2014-204848.

Received December 31.2016

Accepted June 30.2017

Ufimtseva Marina A., DM, Head of the Skin and Venereal Diseases Department, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation.

Bochkarev Juri M., PhD, Associate Professor, Skin and Venereal Diseases Department, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation.

Lesnsya Olga D., Clinical Intern of the Dermatovenereology Department, Orenburg State Medical University, Orenburg, Russian Federation.

Beresneva Tatiana A., Postgraduate Student of the Skin and Venereal Diseases Department, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation.

(✉) **Ufimtseva Marina A.**, e-mail: mail-m@mail.ru.

УДК 616-006.6:615.849:001.89

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-192–209

Для цитирования: Шейно И.Н., Ижевский П.В., Липенгольц А.А., Кулаков В.Н., Вагнер А.Р., Сухих Е.С., Варлачев В.А. Разработка бинарных технологий лучевой терапии злокачественных новообразований: состояние и проблемы. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 192–209

Разработка бинарных технологий лучевой терапии злокачественных новообразований: состояние и проблемы

Шейно И.Н.¹, Ижевский П.В.¹, Липенгольц А.А.¹, Кулаков В.Н.¹,
Вагнер А.Р.², Сухих Е.С.^{2,3}, Варлачев В.А.²

¹ Государственный научный центр Федеральный медицинский биофизический центр (ГНЦ ФМБЦ)
им. А.И. Бурназяна,
Россия, 123182, г. Москва, ул. Животисная, 46

² Национальный исследовательский Томский политехнический университет (НИ ТПУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 30

³ Томский областной онкологический диспансер (ТООД)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 115

РЕЗЮМЕ

Обзор посвящен проблемам развития бинарных технологий лучевой терапии – нейтрон- и фотон-захватной терапии злокачественных новообразований. В технологиях используется принцип биологического нацеливания: облучение опухоли с предварительно доставленными в нее специальными препаратами, повышающими выделение энергии и относительную биологическую эффективность первичного излучения. Описаны основы методов, характеристики источников внешнего облучения и используемых препаратов, этапы разработки технологий. Развитие и внедрение бинарных технологий привлекает большое количество исследователей, но сдерживается нехваткой действующих источников эпитепловых нейтронов (реакторов, генераторов нейтронов на основе ускорителей), отсутствием корректных систем дозиметрического планирования лучевой терапии с учетом динамики и накопления препаратов в опухолях.

Ключевые слова: злокачественные новообразования, нейтрон-захватная терапия, фотон-захватная терапия, бинарные технологии лучевой терапии, бор-10, гадолиний, золото, платина.

ВВЕДЕНИЕ

Ключевым моментом для повышения терапевтической эффективности лучевой терапии является контрастность, которая заключается в максимизации дозы ионизирующего излучения, подведенной к опухоли и минимизации дозы облучения, полученной здоровыми тканями и органами. Широко используемые современные методы лучевой терапии основаны на геометрическом нацеливании излучения на опухоль. Такое нацеливание реализуется за счет коллимации и фо-

кусировки внешнего пучка излучений на область расположения опухоли и создания объемного распределения дозы, максимально соответствующей объему опухоли. К таким технологиям можно отнести 3D-конформную лучевую терапию, терапию с модуляцией интенсивности (IMRT/IGRT/VMAT), а также методы стереотаксической лучевой терапии и радиохирургию.

Повышение геометрической точности нацеливания позволяет реализовывать технологии для повышения дозы излучения, получаемой опухолью, повысить биологически эффективную дозу, снижая физическую дозу облучения на близко

✉ Izhevskij Pavel V., e-mail: izhevsky09@gmail.com.

расположенные критические органы риска как за одну фракцию, так и за весь курс лучевой терапии. Главной сложностью геометрического нацеливания является точное определение границ опухоли и критических органов, что требует тщательной предварительной диагностической подготовки. Другим ограничением является то, что геометрическое нацеливание (высокая точность определения изоцентра терапевтической установки, укладка и фиксация пациента на лечебном столе, а также коллимация произвольной формы и фокусировка пучка ионизирующего излучения под визуальным контролем) развито только для фотонного излучения, что ограничивает применимость для опухолей с низкой радиочувствительностью.

Для обеспечения высокой контрастности при облучении может использоваться также физико-биологическое нацеливание, которое реализуется в так называемых бинарных технологиях лучевой терапии. В данном случае процесс терапии разбивается на две стадии: сначала в организм (опухоль) вводится некоторый препарат, который накапливается в опухоли так, что его концентрация в здоровых тканях существенно ниже. На втором этапе происходит облучение опухоли. За счет высокого сечения взаимодействия с препаратом энергетическое взаимодействие в опухолевых тканях существенно выше, чем в здоровых тканях. Таким образом, в бинарных технологиях наведение на цель выполняется повышенной концентрацией препаратов в опухоли, а не нацеливанием пучка излучения.

В настоящее время интенсивно развиваются следующие виды бинарных технологий лучевой терапии: нейтрон-захватная терапия (НЗТ) [1] и фотон-захватная терапия (ФЗТ) [2]. Для НЗТ первичное излучение – поток тепловых (эпитепловых) нейтронов, поглощающие элементы – ^{10}B или ^{157}Gd . Для ФЗТ первичное излучение – фотоны рентгеновских установок и медицинских ускорителей, а поглощающие элементы имеют атомный номер $Z > 53$.

В настоящей работе представлен обзор текущего состояния, проблем развития бинарных технологий в лучевой терапии: нейтрон- и фотон-захватной терапии злокачественных новообразований. Использовались данные, полученные из литературных источников, а также результаты исследований, проведенных с участием авторов настоящей работы.

НЕЙТРОН-ЗАХВАТНАЯ ТЕРАПИЯ

В основе технологии НЗТ лежит предварительное насыщение раковых клеток элементами,

обладающими высоким сечением захвата нейтронов. В последующем при облучении низкоэнергетическими (тепловыми) нейтронами происходит ядерная реакция с выходом короткопробежных частиц, приводящая к значительному локализованному энергопоглощению, что и влечет гибель клеток [1]. Элементы ^{10}B и ^{157}Gd обладают самым высоким сечением захвата нейтронов. Наибольшая эффективность ожидается при накоплении в клетках ^{10}B (борная НЗТ (БНЗТ)). Поглощение нейтронов бором приводит к образованию вторичных частиц (^4He и ^7Li) с высокой линейной передачей энергии (АПЭ) [3]. При использовании ^{157}Gd в технологии гадолиниевой НЗТ (ГНЗТ) вторичными частицами являются электроны конверсии и Оже-каскада.

Успех бинарных технологий зависит от селективного поглощения большего количества поглощающих элементов опухолевыми клетками по сравнению с нормальными. Это может быть достигнуто при использовании носителей, например борфенилаланина (ВРА). После введения ВРА (обычно внутривенно) область опухоли облучают эпитепловыми нейтронами, которые при последующем замедлении в ткани становятся тепловыми. Основными источниками облучения при НЗТ до сих пор являлись ядерные реакторы и генераторы нейтронов.

Одной из важнейших задач НЗТ является создание источников, реализующих оптимальный энергетический спектр нейтронов в опухоли. Для этого предлагается [4, 5] использовать пучки тепловых (F_{th}) (для обработки поверхностных опухолей) или (и) эпитепловых (F_{epi}) (для глубоко лежащих опухолей) нейтронов с энергиями $0,5 \text{ эВ} < E < 10 \text{ кэВ}$ высокой интенсивности с плотностью потока эпитепловых нейтронов $F_{epi} > 10^9$ нейтрон/(см² · с). При этом спектр пучка должен быть таким, чтобы в месте расположения опухоли получить максимум плотности потока тепловых нейтронов.

Пучок нейтронов должен быть максимально очищен от сопутствующего фотонного излучения и быстрых нейтронов с энергией $E > 10 \text{ кэВ}$. В работе [6] предложено суммировать паразитные для НЗТ компоненты дозы быстрых нейтронов D_{fast} и фотонов D_γ в пучке с учетом их биологической эффективности. В этом случае удельная доза быстрых нейтронов и фотонов ($3,2 \cdot D_{fast} + D_\gamma$) не должна превышать величины $2,8 \cdot 10^{-12} \text{ Гр-экв} \cdot \text{см}^2$. Указанным требованиям удовлетворяют далеко не все нейтронные пучки, используемые для НЗТ на исследовательских ядерных реакторах мира (рис. 1).



Рис. 1. Физические характеристики реакторных пучков для НЗТ в мире

Fig. 1. Physical characteristics of reactor beams for neutron-capture therapy in the world

В России предклинические исследования НЗТ проходили на пучке реактора ИРТ Московского инженерно-физического института (МИФИ) (г. Москва) [7]. Несмотря на то что характеристики пучка в канале ГЭК-4 реактора ИРТ МИФИ далеки от оптимальных, проведенные предклинические исследования эффективности технологии

НЗТ на 60 собаках со спонтанными опухолями с использованием препаратов ^{10}B и ^{157}Gd оказались весьма успешными (табл. 1). БНЗТ оказалась весьма эффективна при экстракорпоральном лечении на реакторе ИРТ МИФИ остеосаркомы и других форм злокачественных новообразований [8].

Таблица 1

Сопоставление различных методов лечения собак со спонтанными опухолями на канале ГЭК-4 реактора ИРТ МИФИ [9]				
Группа	Противораковый эффект, %		Рецидивы, %	Безрецидивный период, сут
	Неполная регрессия	Полная регрессия		
I (без лечения)	—	—	100	Эвтаназия 100%
II (хирургическое лечение)	—	—	100	26 ± 12
III (гамма-терапия)	12,5	12,5	100	30 ± 5
IV (нейтронная терапия)	80	20	100	60 ± 5
V (БНЗТ)	25	75	14	150 ± 9
VI (ГНЗТ)	54	46	66	106 ± 7

До недавнего времени исследования в этом направлении интенсивно велись во многих странах мира (США, Евросоюз, Япония, Аргентина, Китай и др.). Основное применение НЗТ находит для лечения неоперабельных и радиорезистентных злокачественных новообразований, особенно в тех случаях, когда другие методы лечения оказываются бессильными.

После проведения успешных предклинических испытаний было решено организовать на канале ГЭК-1 реактора ИРТ МИФИ медицинскую облучательную базу с комбинированным пучком

тепловых (эпитепловых) нейтронов для клинических исследований [10]. Однако с 2008 г. реактор ИРТ МИФИ находится на реконструкции, сроки возобновления его работы неизвестны, так как срок службы реактора достиг своего предела. Аналогичная судьба постигла практически все ядерные реакторы в мире, на которых проводились исследования НЗТ.

В связи с остановкой реактора ИРТ МИФИ в настоящее время проводятся подготовительные работы по проведению исследований НЗТ на базе ядерного реактора ИРТ-Т НИ ТПУ. В настоя-

щее время проводится определение спектрометрических характеристик ГЭК-1 реактора ИРТ-Т ТПУ и создание условий для проведения экспериментальных работ на клеточных культурах и лабораторных животных. Очевидно, что реализация метода НЗТ требует весьма дорогостоящих и небезопасных источников излучений, так как до настоящего времени необходимую плотность потока тепловых и эпитепловых нейтронов необходимой интенсивности можно получить только на ядерном реакторе, что делает реактор ИРТ-Т ТПУ уникальным объектом для создания в России базы для предклинических и клинических исследований.

Попытки создания альтернативного источника для НЗТ – генератора эпитепловых нейтронов на основе компактных протонных ускорителей – продолжаются до настоящего времени в Японии [11–13] и России [14, 15]. В случае

успеха в этом направлении можно надеяться на ускорение развития технологии НЗТ во всем мире.

ФОТОН-ЗАХВАТНАЯ ТЕРАПИЯ

Метод ФЗТ, использующий более доступные фотонные источники излучений, может оказаться более перспективным. При ФЗТ увеличение локального энерговыделения достигается присутствием препаратов с тяжелыми (большим Z) элементами: ^{53}I , ^{64}Gd , ^{78}Pt , ^{79}Au и др. Поражение клеток опухоли формируется за счет вторичного короткопробежного излучения, возникающего в результате взаимодействия фотонов с атомами тяжелых элементов. Расчеты величины относительного увеличения энерговыделения показали [16, 17] заметный эффект увеличения поглощенной дозы в зависимости от внутритканевого спектра фотонов (рис. 2).

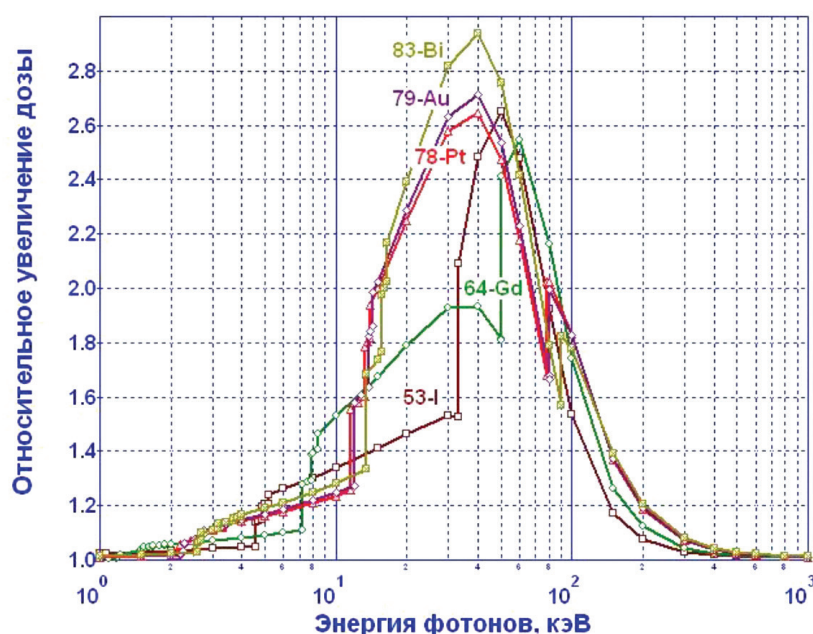


Рис. 2. Относительное увеличение поглощенной дозы в биологической ткани при введении в нее элементов с $Z \geq 53$ с концентрацией 1% в зависимости от энергии фотонов

Fig. 2. Relative increase in the absorbed dose in biological tissue upon introduction of elements with $Z \geq 53$ with a concentration of 1% depending on the photon energy

Результаты применения технологии ФЗТ для лечения перевивных опухолей у мышей показали возможность эффективного подавления роста опухоли [18–20].

Термин «фотон-захватная терапия» предложен авторами патента [2] ввиду его аналогии с процессами, протекающими при НЗТ, и считается общепризнанным в России [21]. За рубежом технология имеет следующие наименова-

ния: Photon Activation Therapy (PAT) (США) или Photon Activation Therapy with Platinum (PAT-Plat) (Франция); Contrast-Enhanced Radiation Therapy (CERT) (Франция, Великобритания, Германия, США, Мексика, Австралия); Gold Nanoparticles Radiation Therapy (GNRT) (Великобритания, Германия, США, Австралия и др.). Каждое из названий отражает нюансы применения, связанные с использованием того или иного

препарата, содержащего элемент с большим зарядовым числом Z .

Технология фотон-активационной терапии (РАТ). Технология РАТ была предложена в 1984–1985 гг. для лечения мультиформной глиобластомы [22, 23]. Она предполагает включение тяжелых атомов в структуру ДНК с последующей их активацией фотонами, индуцирующими фотоэлектрический эффект и Оже-каскад.

В начале исследования проводились с моноэнергетическими фотонами, получаемыми на синхротронах, предполагая лишь активацию К-уровня тяжелых атомов. Получение монохроматических пучков фотонов сопряжено со значительными техническими трудностями, поэтому S.J. Karnas et al. [24] пытались использовать облучение клеток китайского хомячка в присутствии IUdR фотонами обычных рентгеновских установок, варьируя фильтры и напряжение на трубке. Эксперименты подтвердили эффективность этой технологии.

В Европейском Центре синхротронных пучков (ESRF, Гренобль, Франция) проводились исследования с йодсодержащими (^{127}I) и платиносодержащими (^{195}Pt) препаратами. Рассматривались как внеклеточные йодсодержащие средства (Iodpamidol, Iomeron), так и внутриклеточные (IUdR). Из платиносодержащих препаратов рассматривались цисплатин и карбоплатин. В работе [25] предложено лечение радиорезистентных злокачественных глиом посредством комбинации облучения с интрацеребральным введением цисплатина.

В работах J. Rousseau et al. [26, 27] на крысах с глиомой F98 использовали карбоплатин в сочетании с облучением фотонами 6 МВ линейного ускорителя и монохроматического синхротронного источника 89 кэВ ESRF. Полученные результаты показали терапевтическую эффективность комбинации карбоплатина с облучением фотонами 6 MV или 80 кэВ. Исследователи оптимистично оценивают развитие методов лечения как в направлении РАТ-Plat, так и с применением йодсодержащих контрастных препаратов.

Значимые результаты получены M.C. Biston et al. [28]. Сочетание платиносодержащих препаратов (3 мкг CDDP) с облучением в дозе 15 Гр привело к самому большому времени выживаемости (медиана 206 сут). Даже через 1 год около 34% крыс были живы. Это результаты, подтвержденные молекулярным анализом, являются наибольшим сроком выживания экспериментальных животных с глиомой при лечении по этой технологии. В дальнейшем [29, 30] предполагалось использовать синхротронное излучение в качестве инновационной стратегии радиотерапии.

Монохроматические синхротронные рентгеновские пучки позволяют фотоактивировать тяжелые элементы, которые будут введены в пределах или вблизи опухоли. Это открывает возможность применения йодированных контрастных агентов (технология CERT), используемых для визуализации опухоли (терапия с помощью компьютерной томографии), а также платинированных агентов, используемых в химиотерапии (РАТ-Plat). M.C. Biston et al. [25] рассмотрели молекулярные и клеточные механизмы, участвующие в этих подходах. Проведенные в ESRF исследования по лечению злокачественной глиомы посредством комбинации облучения монохроматическими фотонами при интрацеребральном введении препаратов с ^{195}Pt показали, что технология по эффективности сравнима с БНЗТ [31].

По-видимому, авторы пытались заинтересовать инвесторов имеющимися в ESRF мощными источниками монохроматического рентгеновского излучения (ID17 Medical Beamline), представляя их как новые инструменты для лечения рака [32]. Однако последующие эксперименты, проведенные на фотонах 6 МВ линейного ускорителя, показали практически одинаковые результаты с облучением моноэнергетическими фотонами 78,8 кэВ синхротрона [31, 33, 34]. На наш взгляд, обычный линейный ускоритель можно использовать в качестве источника излучения для этой технологии, что позволит значительно расширить клиническую применимость такого подхода по сравнению с синхротронной лучевой терапией, которая может быть осуществлена только на очень небольшом количестве специализированных облучательных установках.

Радикальные изменения в подходе связаны с участием в работах ESRF в качестве коллаборатора Рольфа Барта (США), известного своими фундаментальными работами в области НЗТ [35–37]. Работы по развитию РАТ-Plat в настоящее время переместились из Франции в США [36, 38].

В дальнейших исследованиях РАТ-Plat рассматриваются эффективные средства доставки платиносодержащих препаратов в опухоль – метод CED [33, 34] и фармакологические формы [39, 40]. Метод CED предлагается также и для доставки борсодержащих препаратов для НЗТ [41, 42]. Данные по выживаемости крыс с перевивной глиомой F98 могут обеспечить основу для I фазы клинических испытаний по оценке безопасности и потенциальной терапевтической эффективности CED-доставки карбоплатина у пациентов с рецидивирующей глиобластомой, а в дальнейшем и проведение II фазы клинических испытаний по

применению карбоплатина в комбинации с радиационной терапией [33, 34].

Таким образом, фактически РАТ-Plat является развитием стандартных протоколов химиолучевой терапии. Значительное улучшение результатов лечения рака этим методом объяснялось синергетическим эффектом, наблюдаемого при одновременном действии радиации и содержащих платину цитостатиков. Впервые на это указал Seiwert et al. [43]. Исследования по выяснению механизмов взаимодействия проводились давно [44, 45], но объяснение радиосенсибилизации, происходящей из-за Оже-процесса на атомах платины при облучении фотонами, сформировалось недавно [46, 47]. Исследования на крысах с перевивными опухолями с применением различных концентраций Pt-содержащих препаратов и спектров облучательных установок опубликованы в последнее время [48, 49]. Сопрежение цисплатины с золотыми наночастицами (GNPs-Pt) привело к повышению синергии между цисплатином и облучением, в результате была достигнута полная абляция клеток глиобластомы *in vitro* [50]. Таким образом, разработка новых подходов химиолучевой терапии на основе представлений о радиосенсибилизации препаратами платины при различных режимах облучения является актуальной задачей [48].

Радиотерапия с использованием контрастных препаратов. Технология CERT. В 1999 г. A.V. Mesa et al. [51] предложили использовать компьютерную томографию (КТ) для повышения дозы через фотоэлектрический эффект. Они преобразовали диагностический КТ в терапевтический рентгеновский аппарат и применяли йод и гадолиний как рентген-контрастные препараты. Позднее F. Verhaegen et al. [52] предложили называть этот подход CERT.

В работе J.F. Adam et al. [53] проведено исследование *in vivo* воздействия на глиому F98 сочетания инфузии йодконтрастного вещества и облучения. Средняя продолжительность жизни увеличилась на 44% по сравнению с необлученными и на 20% с облученными больными крысами. В 2004 г. S. Corde et al. [54] провели *in vitro* исследование воздействия синхротронного монохроматического пучка фотонов с энергиями ниже и выше К-уровня йода: 32,8; 33,5; 50; 70 кэВ на клетки человека линии SQ20B при добавлении в клеточную среду 10 мг/мл контрастного вещества Iodopamidol. Исследовался эффект выживаемости клоногенов на уровне 10%, который оказался близок к величине 2,0. Одновременно исследовалась выживаемость клоногенов

при суспендированном введении IUdR при концентрации 10 мкМ. Максимальный эффект (2,6 раза!) наблюдался при облучении с энергией 50 кэВ в присутствии йода в опухоли.

В работе [55] также на крысах с глиомой F98 при облучении в дозе 15 Гр зафиксировано увеличение продолжительности жизни на 91, 116 и 169% соответственно без йода, после инфузии йода и маннитола внутривенно, а также после внутривенной инъекции. В дальнейшем было показано, что успех CERT прямо зависит от концентрации йода в опухоли [56]. В последние годы CERT интенсивно развивалась во Франции [57], Германии [58], Мексике [59, 60]. Технология находится на стадии подготовки к клиническим испытаниям.

Особое внимание уделяется использованию гадолиния ($Z = 64$). Наиболее изученным соединением гадолиния как радиосенсибилизатора является Motexafin gadolinium (MGd, торговое наименование Xcytrin). MGd визуализируется при МРТ и в настоящее время проходит III фазу клинических испытаний для облучения опухолей головного мозга [61, 62]. Использование других препаратов с Gd (Magnevist®, Dorarem®) проводилось лишь с целью оценки и сравнения радиосенсибилизирующего свойства наночастиц гадолиния [63].

Разработан новый тип *тераностического* препарата на основе гадолиния AGuIX® для использования в технологии MRI&IGRT (автоматизированное нацеливание излучения на изображение опухоли, получаемое с помощью МРТ). Его частицы (5 нм) состоят из полисилоксановой сети в окружении ряда хелатов гадолиния. Наночастицы AGuIX хорошо переносятся даже при очень высоких дозах, поскольку их биораспределение почти идеально подходит для диагностических и терапевтических целей: значительная часть их накапливается в опухоли, а остальные быстро элиминируются почками [64].

В ряде исследований *in vitro*, в том числе на различных радиорезистентных клеточных линиях, при различных энергиях и источниках излучения показано, что наночастицы AGuIX являются эффективными радиосенсибилизаторами [65]. Доклинические исследования *in vivo* также продемонстрировали эффект применения этих частиц на разные гетеротопические и ортотопические опухоли как при интратуморальном, так и при внутривенном способах введения. Значительный терапевтический эффект наблюдался во всех случаях. Кроме того, было доказано, что мониторинг МРТ позволяет эффективно определить

протокол лучевой терапии и оценки эволюции опухоли после лечения. Сравнение эффективности использования наночастиц AGuIX и молекулярных комплексов, таких как хелаты гадолиния (DOTAREM®), показало большую эффективность наночастиц [65, 66].

Использование эффективных магнитно-резонансных контрастных агентов обеспечивает более четкую визуализацию опухоли и, следовательно, лучшее наведение по изображению при планировании лучевой терапии, одновременно обеспечивающее терапевтическое действие, что открывает широкие возможности использования технологии IGRT в ФЗТ [67].

Терапия с использованием наночастиц золота (технология GNRT). В последние годы в технологиях лечения рака наибольший интерес вызывает использование золота (^{79}Au) в виде наночастиц, обладающих как высокой биосовместимостью (нетоксичность и биоразлагаемость), так и опухолевой специфичностью [78]. При воздействии фотонов наночастицы испускают Оже-электроны и производят радикалы, которые вызывают локальное поражение ДНК и клеточных мембран.

Важной вехой в области применения наночастиц золота (GNPs) в технологии ФЗТ стала работа J.F. Hainfeld et al. [68], когда *in vivo* была показана потенциальная возможность их использования для лечения рака при лучевой терапии. Опухоли ЕМТ-6, имплантированные мышам, получавшим внутривенно 1,35 г GNPs/кг, были полностью ликвидированы в течение 30 сут после облучения на рентгеновской установке 250 кВ.

Большое количество последующих работ по применению наночастиц золота при облучении киловольтными и мегавольтными клиническими пучками фотонов привели к возрождению интереса к технологии ФЗТ в мире [80–91]. Особое внимание уделяется наноструктурам, усиливающим возможности рентгенотерапии за счет увеличения поглощения радиации в опухолевых клетках. Ряд наноконструкций позволяет производить специфическое нацеливание на отдельные структуры в клетках [96]. Исследования показали, что повышение радиосенсибилизации зависит от количества интернализированных наночастиц [69]. В более поздних исследованиях *in vivo* J.F. Hainfeld et al. [70] показали эффективность применения наночастиц золота в технологии ФЗТ на мышах с трансплантированной глиомой Tu-2449, достигнута выживаемость в 50% случаев.

Показана возможность получения эффекта увеличения дозы с меньшей концентрацией GNPs в перевивных опухолях у мышей в сочетании с

облучением, применяемой в условиях клиники электронными пучками [71]. Кроме того, имеются указания на рост накопления GNPs в опухоли по сравнению с опухолевой периферией, когда облучение было проведено через 24 ч после их введения. Это может быть связано с повышенным эффектом проницаемости и удерживания, наблюдаемом в сосудистой сети опухоли [72, 73]. Эти исследования послужили основой для использования наночастиц с модифицированной поверхностью для усиления таргетирования [74].

Каков механизм сенсибилизации GNPs? Для понимания его следует рассмотреть распределения наночастиц в клетках опухоли при лучевой терапии в экспериментах *in vivo*. Считается, что основной мишенью излучений является ядерная ДНК. Однако становится все более очевидным, что повреждения в митохондриях и в клеточной мембране также могут способствовать цитотоксическому эффекту излучения [75, 76]. Предполагается, что взаимодействие GNPs с клетками может стать еще одним механизмом, посредством которого происходит сенсибилизация. Если сенсибилизация – это в первую очередь эффект взаимодействия излучения с GNPs, то требуется оценить роль образующихся радикалов, гипоксии и повреждения клеточных сигнальных путей.

ОБСУЖДЕНИЕ

Наблюдается тенденция отхода от терминологии PAT, PAT-Plat, CERT, GNRT, NPRT и т.п. Принцип ФЗТ все чаще трактуется как эффект радиосенсибилизации тканей атомами тяжелых элементов и рассматривается наряду с другими радиосенсибилизаторами, основанными на иных механизмах действия [77, 78].

Ранее механизм радиосенсибилизации тяжелыми элементами объяснялся более высоким коэффициентом поглощения энергии атомами этих элементов по сравнению с другими атомами. Добавление небольшой концентрации атомов тяжелых элементов позволяет увеличить локальное энерговыделение при взаимодействии с внешним излучением и вызываемую этим гибель клеток. Поэтому преимущественная доставка препаратов с тяжелыми элементами в опухоль улучшает степень конформности дозового распределения к опухоли и тем самым способствует увеличению эффективности лучевой терапии.

В последние годы показано, что эффективность ФЗТ не является простой функцией поглощенной дозы. Существует большое количество экспериментальных данных, свидетельствующих о существенной радиосенсибилизации при не-

значительном повышении поглощенной дозы, вызванной добавлением в биологическую среду тяжелых элементов в малых концентрациях [79]. В ряде исследований отмечена заметная радиосенсибилизация при использовании мегавольтовых ускорителей в качестве источников фотонов [80]. Это противоречит теоретическим результатам, показывающим, что степень увеличения поглощенной дозы сильно зависит от энергии и становится пренебрежимо малой при увеличении энергии фотонов (см. рис. 2).

Помимо этого, продолжается дискуссия о механизмах биологического действия тяжелых элементов при облучении как фотонами, так и другими типами ионизирующих частиц (например, адронами). J.C. Polf et al. [81] сообщили о снижении выживаемости клеток опухоли предстательной железы, когда клетки, нагруженные наночастицами золота, облучали пучком протонов энергией в 160 МэВ в распределенном пике Брэгга (SOBP). Авторы интерпретируют этот эффект как повышение дозы в результате увеличения числа низкоэнергетического фотонов в опухолевых клетках. Кроме того, они объясняют изменение формы кривой выживания в присутствии атомов золота как результат взаимодействия протонов с атомами золота, что приводит к увеличению плотности ионизации атомов. С этим выводом не согласны C. LeSech, K. Kobayashi, N. Usami et al. [82]. Они приводят свои результаты по изучению эффектов комбинации облучения ионизирующими излучениями, такими как монохроматические фотоны, протоны и ионы, при добавлении в биологическую среду атомов платины, гадолиния или золота, содержащихся в молекулах или наночастицах.

В работах, проводимых на «фотонной фабрике» и медицинском ускорителе тяжелых ионов (HIMAC), расположенных в Tsukuba и Chiba (Япония) [83–90], показано, что вторичные электроны, генерируемые на треках первичных падающих ионов, способны индуцировать ионизацию внутренних оболочек тяжелых атомов. Релаксации возбужденных ядер происходит в основном в виде каскада электронов Оже. Вклад флуоресценции имеет гораздо меньшее значение. Непосредственное возбуждение при воздействии падающего иона на тяжелые атомы возможно, но, как было определено, вероятность такого механизма невелика. Как показали опыты, выполненные в присутствии поглотителей свободных радикалов, Оже – электроны, испускаемые тяжелыми атомами, вызывают радиоллиз окружающих молекул воды. Свободные радикалы, в частности гидро-

ксильные радикалы $\text{HO}\cdot$, индуцируют молекулярные повреждения, вызывая гибель клеток из-за большого окислительного стресса. При этом тяжелым атомам необязательно находиться в ядре клетки, чтобы вызвать значительное усиление клеточной гибели. Иными словами, нет никакого увеличения поглощения энергии, а имеет место преобразование энергии в энергию вторичных электронов при снятии возбуждения тяжелых атомов. В результате электроны Оже вследствие радиолиза воды вызывают большой окислительный стресс, индуцирующий повышение гибели клеток. Понятие повышение дозы (dose enhancement), которое обычно используется, частично вводит в заблуждение исследователей. Вместо этих понятий следует использовать терминологию «усиление эффекта дозы». Последнее понятие связано с привычным понятием «относительная биологическая эффективность» (ОБЭ).

Как указано выше, в бинарных технологиях лучевой терапии, таких как нейтрон-захватная терапия или фотон-захватная терапия, наблюдается существенная локализация поглощенной энергии на клеточном уровне. При этом имеет место явно выраженное неоднородное микрораспределение поглощенной дозы, обусловленное точечными источниками выделенной энергии, которое образуется при активации атомов тяжелых элементов при облучении фотонами или реакциях нейтронного захвата на ^{10}B или ^{157}Gd . Показано [80], что локальное повышение дозы вблизи наночастиц в нанометровом масштабе может достигать сотен Грей, сохраняя при этом среднюю макроскопическую дозу на стандартном уровне (например, 2 Гр за фракцию).

Влияние столь неоднородного распределения дозы на клеточном уровне на величину ОБЭ компонента дозы от вторичных частиц исследовалось многими авторами [84–88]. Показано, что на величину ОБЭ влияет расположение тяжелых элементов в клетке (вне клеточном пространстве), а также расстояние до определенных субклеточных мишеней, определяющих эффект клеточной гибели. Исследования, проведенные с наночастицами тяжелых элементов, выявили их возможность усиливать воздействия излучения, даже когда они остаются локализованными в цитоплазме [66]. L. Štefančnková et al. показали, что присутствие гадолиниевых наночастиц (GdNPs) в цитоплазме не увеличивает индукцию DSB в ядерной ДНК и не влияет на их последующее восстановление. Отсюда сделан вывод, что радиосенсибилизация GdNPs является цитоплазматическим событием, которое не зависит от разрыва ядерной

ДНК, – явления, общепринятого в качестве объяснения биологических эффектов радиации. Если эта информация подтвердится – локализация в цитоплазме наночастиц тяжелых элементов, определяющую радиосенсибилизацию, – то открываются новые перспективы их использования для улучшения лучевой терапии без эскалации риска патологий, связанных с генетическими повреждениями. Указанные исследования чрезвычайно важны для корректной оценки ОБЭ компонентов дозы вторичного излучения и имеют критическое значение для дозиметрического планирования как ФЗТ, так и НЗТ [5].

Следует отметить, что наиболее простым и достаточно удобным способом получения источников фотонов для фотон-захватной терапии является использование «ортовольтовых» рентгеновских аппаратов с различными фильтрами, которые позволяют создавать в ткани определенную форму распределения энергетического спектра первичных фотонов, оптимальной для протекания физических процессов, на которых основана технология ФЗТ. Однако неглубокое распространение рентгеновских фотонов в ткани ограничивает лечение методом ФЗТ лишь поверхностных опухолей. Поэтому очень важно найти способы применения клинических мегавольтовых ускорителей как источников фотонов, что существенно увеличит область применения технологии ФЗТ [86].

Таким образом, эффект ФЗТ в качестве радиосенсибилизации опухолей атомами тяжелых элементов открывает большие возможности, позволяет шире взглянуть на проблему. Этот подход позволяет объяснить действие принятых схем химиолучевой терапии с установленной клинической эффективностью [79].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методы физического нацеливания излучения на опухоль, такие как трехмерная конформная лучевая терапия (3D CRT), радиотерапия с модуляцией интенсивности (IMRT), лучевая терапия под визуальным контролем (IGRT), стереотаксическая радиохирургия (SRT), обеспечивающие максимально точное подведение дозы излучений к опухолевой мишени, достигли своего предела совершенствования [87]. Одновременно в эффективности лучевой терапии достигнут значительный прогресс в результате применения комбинированных методов, в том числе химиолучевой терапии [88].

Однако, несмотря на последние значительные достижения в области радиационной онкологии,

результаты лечения и выживаемость значительно различаются у отдельных пациентов. Дальнейшее улучшение эффективности лучевой терапии может быть достигнуто путем применения радиационных сенсibilizаторов. Важным качеством радиосенсибилизаторов должно быть их дифференцированное отношение к нормальным тканям и опухолям. Для этого были разработаны различные подходы, включая последние разработки молекулярных таргетных препаратов [89].

История НЗТ полна впечатляющих достижений и разочарований [3, 5]. Одной из проблем НЗТ является отсутствие (либо недоступность) источников нейтронов необходимой интенсивности потока и энергетического спектра. До сих пор клинические исследования проводились на ядерных реакторах, большая часть которых сейчас остановлена. Помимо этого, используемый в НЗТ пучок нейтронов должен быть максимально очищен от сопутствующих фотонов и быстрых нейтронов, что оказалось чрезвычайно сложной технической задачей. Тем не менее развитие метода НЗТ как метода внутриклеточной терапии привлекает большое количество исследователей.

Работы по созданию технологии ФЗТ начаты в последние годы. Интерес к этому методу лечения обусловлен необходимостью разработки новых и эффективных методов лучевой терапии на существующих облучательных установках, ее возможностью массового применения в медицинских учреждениях.

Развитие технологии ФЗТ в мире идет по пути разработки бифункциональных препаратов, содержащих тяжелые элементы, и исследования возможности их применения на существующих медицинских облучательных устройствах IMRT, в технологии автоматизированного нацеливания по изображению (IGRT&MRI или IGRT&KT), используя их контрастирующие свойства [66].

Наиболее широкое распространение в исследованиях радиосенсибилизации в мире получили элементы: гадолиний ($Z = 64$), платина ($Z = 78$) и золото ($Z = 79$). Все более и более сложные стратегии мультифункционализации привели к новой терминологии, такой как тераностика, где элемент предназначен как для терапевтических, так и диагностических целей [90, 91]. Особое внимание уделяется использованию гадолиния (^{64}Gd) в качестве тераностического агента из-за сочетания свойств парамагнетика и радиосенсибилизатора.

Основной проблемой клинического применения бинарных лучевых технологий (как ФЗТ, так и НЗТ) злокачественных новообразований являет-

ся невозможность корректного дозиметрического планирования, связанного со значительной неопределенностью в данных биораспределения препаратов, а также в оценке относительной биологической эффективности отдельных компонентов поглощенной дозы. Для решения последней задачи необходима корректная оценка неоднородности микрораспределения поглощенной дозы в биологической среде, образующейся при активации атомов тяжелых элементов фотонами или в результате нейтрон-захватных реакций, а также образования и диффузии радикалов. Решение этих задач позволит преодолеть существующие противоречия между теоретически ожидаемыми и экспериментальными данными о выживаемости клеток в условиях нейтрон (фотон-захватной терапии).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии источников финансирования при проведении исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sauerwein W., Wittig A., Moss R., Nakagawa Y. (eds). Neutron capture therapy: principles and applications. Springer; 2012: 553. doi:10.1007/978-3-642-31334-9.
2. Хохлов В.Ф., Шейно И.Н., Кулаков В.Н. и др. Способ фотон-захватной терапии злокачественных опухолей // Патент РФ 2270045, 2006. Заявитель ГНЦ-Институт Биофизики ФМБА России.
3. Rolf F. Barth, Graca M., Vicente H., Harling Otto K., Kiger III W.S., Kent J. Riley, Peter J. Binns, Franz M. Wagner, Minoru Suzuki, Teruhito Aihara, Itsuro Kato, Shinji Kawabata. Current status of boron neutron capture therapy of high grade gliomas and recurrent head and neck cancer // *Radiation Oncology*. 2012; 7: 146.
4. Moss R.L., Aizawa O., Beynon D., Brugger R., Constantine G., Harling O., Liu H.B., Watkins P. The requirements and development of neutron beams for neutron capture therapy of brain cancer // *Journal of Neuro-Oncology*. 1997; 33: 27–40.
5. IAEA-TECDOC-1223 «Current status of neutron capture therapy», 2001.
6. Harling O.K., Riley K.J. Fission reactor neutron sources for neutron capture therapy – a critical review // *Journal of Neuro-Oncology*. 2003; 82: 7–17.
7. Zaitsev K.N., Portnov A.A., Mishcherina O.V., Kulakov V.N., Khokhlov V.F., Meshcherikova V.V., Mitin V.N., Koslovskaya N.G., Sheino I.N.. Neutron capture therapy at the MEPhI reactor // *International Journal of Nuclear Science and Technology*. 2004; 1: 83–101.
8. Mitin V.N., Kulakov V.N., Khokhlov V.F., Sheino I.N., Bass L.P., Kozlovskaya N.G., Zaitsev K.N., Portnov A.A., Yagnikov S.A., Shiryayev S.V. BNCT of canine osteosarcoma // 12th International Congress on Neutron Capture Therapy. “From the Past to the Future”, October 9–13, 2006, Takamatsu, Kagawa, ed.: Nakagawa Y., Kobayashi T., Fukuda H. Japan, 2006: 135–138.
9. Mitin V.N., Kulakov V.N., Khokhlov V.F., Sheino I.N., Ar-nopolskaya A.M., Kozlovskaya N.G., Zaitsev K.N., Portnov A.A. Comparison of BNCT and GdNCT efficacy in treatment of canine cancer // *Applied Radiation and Isotopes*. 2009; 67: 299–301.
10. Зайцев К.Н., Портнов А.А., Сахаров В.К., Трошин В.С., Квасов В.И., Савкин В.А., Мищерина О.В., Липенгольц А.А., Хохлов В.Ф., Кулаков В.Н., Митин В.Н., Козловская Н.Г., Шейно И.Н. Разработка технологии нейтрон-захватной терапии злокачественных опухолей и проведение предклинических исследований на ядерном реакторе ИРТ МИФИ // *Инженерная физика*. 2007; 2: 122–140.
11. Mitsumoto T., Fujita K., Ogasawara T., Tsutsui H., Yajima S., Maruhashi A., Sakurai Y., Tanaka H.. BNCT system using 30 MeV H-cyclotron. Proceedings of Cyclotrons Lanzhou, China, 2010: 430–432.
12. Abe Y., Fuse M., Fujii R., Nakamura M., Imahoru Y., Itami J. Hospital based boron neutron capture therapy in National Cancer Center. An installation design for the accelerator- based epithermal neutron source. In: Abstracts of 15th International Congress on Neutron Capture Therapy. 2012, Sept. 10–14; Tsukuba, Japan: 109–110.
13. Kumada H., Kurihara H., Yoshioka M., Kobayashi H., Matsumoto H., Sugano T. et al. Development of beryllium-based neutron target system with three-layer structure for accelerator-based neutron source for boron neutron capture therapy // *Appl. Radiat. Isot.* 2015; 106: 78–83.
14. Таскаев С.Ю. Ускорительный источник эпитепловых нейтронов // *Физика элементарных частиц и атомного ядра*. 2015; 46 (6): 1770–830.
15. Зайди Л., Кашаева Е.А., Лежнин С.И., Малышкин Г.Н., Самарин С.И., Сычева Т.В., Таскаев С.Ю., Фролов С.А. Система формирования пучка нейтронов для бор-нейтронозахватной терапии // *Ядерная физика*. 2017; 80 (1): 63–69.
16. Sheino I.N. Dose-supplementary therapy of malignant tumors. Advances in Neutron Capture Therapy 2006. Proceedings of 12th International Congress on Neutron Capture Therapy. “From the Past to the Future”, October 9–13, 2006; Takamatsu, Kagawa, ed.: Nakagawa Y., Kobayashi T., Fukuda H. Japan, 2006: 531–534.
17. McMahon S.J., Paganetti H., Prise K.M. Optimising element choice for nanoparticle radiosensitisers // *Nanoscale*. 2016; 8 (1): 581–589. doi:10.1039/c5nr07089a.
18. Lipengolts A.A., Khokhlov V.F., Kulakov V.N., Nasonova T.A., Dobrynina O.A., Sheino I.N. Photon capture

- therapy – process analog of neutron capture therapy. first experimental results of melanoma treatment in Mice. New Challenges in Neutron Capture Therapy 2010. Proceedings of 14th International Congress on Neutron Capture Therapy, October 25–29, 2010, Buenos Aires, Argentina, 2010: 105–106.
19. Lipengolts A.A., Cherepanov A.A., Kulakov V.N., Grigorieva E.Y., Sheino I.N., Klimanov V.A. Antitumor efficacy of extracellular complexes with gadolinium in Binary Radiotherapy // *Applied Radiation and Isotopes*. 2015; 106: 233–236. doi:10.1016/j.apradiso.2015.07.051.
 20. Lipengolts A., Cherepanov A., Kulakov V., Sheino I., Grigorieva E., Klimanov V. Gadolinium enhanced x-rays radiotherapy of murine adenocarcinoma Ca755 // *Radiotherapy & Oncology*. 2016; 119 (1): 958–959.
 21. Apanasevitsch V.I., Lukjanov P.A., Lagureva A.V., Polkovnikova A.S. et al. Sposob foton-zachvatnoj terapii opucholey [The method of photon-capture therapy of tumors]. Patent RF № 2533267, 2013. http://www.freepatent.ru/images/img_patents/2/2533/2533267/patent-2533267.pdf (in Russian).
 22. Fairchild R., Bond V.P. Photon activation therapy // *Strahlentherapie*. 1984; 160: 758–763.
 23. Fairchild R.G., Laster B.H., Popenoe E.A. et al. Photon-activation therapy (PAT) // *Med. Phys.* 1985; 12: 536.
 24. Karnas S.J., Yu E., McGarryk R.C., Battista J.J. Optimal photon energies for IUDR K-edge radiosensitization with filtered x-ray and radioisotope sources // *Phys. Med. Biol.* 1999; 44: 2537–2549.
 25. Biston M.C., Joubert A., Charvet A.M., Balosso J., Foray N. In vitro and in vivo optimization of an anti-glioma modality based on synchrotron X-ray photoactivation of platinated drugs // *Radiat. Res.* 2009; 172 (3): 348–358. doi: 10.1667/RR1650.1
 26. Rousseau J., Boudou C., Barth R.F. et al. Enhanced survival and cure of f98 glioma-bearing rats following intracerebral delivery of carboplatin in combination with photon irradiation // *Clin. Cancer Res.* 2007; 13: 5195–5201.
 27. Rousseau J., Barth R.F., Moeschberger M.L., Elleaume H. Efficacy of intracerebral delivery of Carboplatin in combination with photon irradiation for treatment of F98 glioma-bearing rats // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2009; 73: 530–536.
 28. Biston M.C., Joubert A., Adam J.F., Elleaume H., Bohic S., Charvet A.M., Estève F., Foray N., Balosso J. Cure of Fisher rats bearing radioresistant F98 glioma treated with cis-platinum and irradiated with monochromatic synchrotron X-rays // *Cancer Res.* 2004; 1, 64 (7): 2317–2323.
 29. Estève F., Adam J., Biston M.C., Joubert A., Corde S., Boudou C., Rousseau J., Gastaldo J., Bencokova Z., Charvet A.M., Foray N., Le Bas J.F., Balosso J., Elleaume H. High-Z compounds for synchrotron stereotactic radiotherapy: developments and perspectives // *Contrast Media Mol. Imaging*. 2006; 1 (2): 60 17193619 (P, S, E, B, D).
 30. Bencokova Z., Balosso J., Foray N. Radiobiological features of the anti-cancer strategies involving synchrotron X-rays // *J. Synchrotron Rad.* 2008; 15: 74–85.
 31. Rousseau J., Barth R.F., Fernandez M., Adam J.F., Balosso J., Estève F., Elleaume H. Efficacy of intracerebral delivery of cisplatin in combination with photon irradiation for treatment of brain tumors // *J. Neurooncol.* 2010; 98(3): 287–295.
 32. Adam J.F., Balosso J., Bobyk L., Charvet A.M., Edouard M., Elleaume H., Estève F., Le Bas J.F., Rousseau J., Joubert A. Radiation Therapy Using Synchrotron Radiation: Preclinical Studies Toward Clinical Trials // *Synchrotron radiation news*. 2011; 24 (2).
 33. Yang W., Huo T., Barth R.F., Gupta N., Weldon M., Grcula J.C., Ross B.D., Hoff B.A., Chou T.C., Rousseau J., Elleaume H. Convection enhanced delivery of carboplatin in combination with radiotherapy for the treatment of brain tumors // *J. Neurooncol.* 2011; 101(3): 379–390.
 34. Bobyk L., Edouard M., Deman P., Rousseau J., Adam J.F., Ravanat J.L., Estève F., Balosso J., Barth R.F., Elleaume H. Intracerebral delivery of carboplatin in combination with either 6 MV photons or monoenergetic synchrotron X-rays are equally efficacious for treatment of the F98 rat glioma // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2012; 20 (31): 78.
 35. Barth R.F., Coderre J.A., Graza M., Vicente H., Blue T.E. Boron Neutron Capture Therapy of Cancer: Current Status and Future Prospects // *Clinical Cancer Research*. 2005; 11: 3987–4002.
 36. Barth R.F., Joensuu H. Boron neutron capture therapy for the treatment of glioblastomas and extracranial tumours: As effective, more effective or less effective than photon irradiation? // *Radiotherapy and Oncology*. 2007; 82(2): 119–122.
 37. Barth R.F. Boron neutron capture therapy at the crossroads: Challenges and opportunities // *Applied Radiation and Isotopes*. 2009; 67: 53–56.
 38. Huo T., Barth R.F., Yang W., Nakkula R.J., Koynova R., Tenchov B., Chaudhury A.R., Agius L., Boulikas T., Elleaume H., Lee R.J. Preparation, biodistribution and neurotoxicity of liposomal cisplatin following convection enhanced delivery in normal and F98 glioma bearing rats // *PLoS One*. 2012; 7 (11).
 39. Coquery N., Pannetier N., Farion R., Herbette A., Azurmendi L., Clarencon D., Bauge S., Josserand V., Rome C., Coll J.L., Sun J.S., Barbier E.L., Dutreix M., Remy C.C. Distribution and radiosensitizing effect of cholesterol-coupled Dbait molecule in rat model of glioblastoma // *PLoS One*. 2012; 7 (7).
 40. Li R., Wu W., Liu Q., Wu P., Xie L., Zhu Z., Yang M., Qian X., Ding Y., Yu L., Jiang X., Guan W., Liu B. Intelligently targeted drug delivery and enhanced antitumor effect by gelatinase-responsive nanoparticles // *PLoS One*. 2013.
 41. Yang W., Barth R.F., Wu G., Huo T., Tjarks W., Ciesielski M., Fenstermaker R.A., Ross B.D., Wikstrand C.J., Riley K.J., Binns P.J. Convection enhanced delivery of boronated EGF as a molecular targeting agent for neu-

- tron capture therapy of brain tumors // *J. Neurooncol.* 2009; 95 (3): 355–365.
42. Kawabata S., Yang W., Barth R.F., Wu G., Huo T., Binns P.J., Riley K.J., Ongayi O., Gottumukala V., Vicente M.G. Convection enhanced delivery of carboranylporphyrins for neutron capture therapy of brain tumors // *J. Neurooncol.* 2011; 103 (2): 175–185.
 43. Seiwert T.Y., Salama J.K., Vokes E.E. The concurrent chemoradiation paradigm - general principles // *Nature Clinical Practice Oncology.* 2007; 4 (2): 86–100.
 44. Chadwick K.H., Leenhouts H.P., Szumiel I. et al. An analysis of the interaction of a platinum complex and radiation with CHO cells using the molecular theory of cell survival // *Int. J. Radiat. Biol.* 1976; 30: 511–524.
 45. Yapp D.T., Lloyd D.K., Zhu J. et al. The potentiation of the effect of radiation treatment by intratumoral delivery of cisplatin // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1998; 42: 413–420.
 46. Montenegro M., Nahar S.N., Pradhan A.K. et al. Monte Carlo simulations and atomic calculations for Auger processes in biomedical nanotheranostics // *J. Phys. Chem A.* 2009; 113: 12364–12369.
 47. Lim S.N., Pradhan A.K., Barth R.F., Nahar S.N., Nakku-la R.J., Yang W., Palmer A.M., Turro C., Weldon M., Bell E.H., Mo X. Tumoricidal activity of low-energy 160-KV versus 6-MV X-rays against platinum-sensitized F98 glioma cells // *J. Radiat. Res.* 2015; 56 (1): 77–89. doi: 10.1093/jrr/rru084.
 48. Shi M., Fortin D., Sanche L., Paquette B. Convection-enhancement delivery of platinum-based drugs and Lipoplatin™ to optimize the concomitant effect with radiotherapy in F98 glioma rat model // *Invest. New Drugs.* 2015; 33 (3): 555–563. doi:10.1007/s10637-015-0228-4.
 49. Yang W., Barth R.F., Huo T. et al. Radiation therapy combined with intracerebral administration of carboplatin for the treatment for brain tumors // *Radiat Oncol.* 2014; 9: 25.
 50. Setua S., Ouberaï M., Piccirillo S.G., Watts C., Welland M. Cisplatin-tethered gold nanospheres for multimodal chemo-radiotherapy of glioblastoma // *Nanoscale.* 2014; 6: 10865–10873. doi: 10.1039/c4nr03693j.
 51. Mesa A.V., Norman A., Solberg T.D. Dose distributions using kilovoltage X-rays and dose enhancement from iodine contrast agents // *Phys. Med. Biol.* 1999; 44: 19–55.
 52. Verhaegen F., Reniers B., Deblois F., Devic S., Seuntjens J., Hristov D. Dosimetric and microdosimetric study of contrast-enhanced radiotherapy with kilovolt x-rays // *Phys. Med. Biol.* 2005; 50: 3555–3569.
 53. Adam J.F., Elleaume H., Joubert A., Biston M.C., Charvet A.M., Balosso J., Le Bas J.F., Estève F. Synchrotron radiation therapy of malignant brain glioma loaded with an iodinated contrast agent: First trial on rats bearing F98 gliomas // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2003; 157 (5): 1413–1426.
 54. Corde S., Joubert A., Adam J.F., Charvet A.M., Le Bas J.F., Estève F., Elleaume H., Balosso J. Synchrotron radiation-based experimental determination of the optimal energy for cell radiotoxicity enhancement following photoelectric effect on stable iodinated compounds // *Br. J. Cancer.* 2004; 2; 91 (3): 544–551.
 55. Adam J. F., Joubert A., Biston M.C., Charvet A.M., Peoc'h M., Le Bas J.F., Balosso J., Estève F., Elleaume H. Prolonged survival of Fischer rats bearing F98 glioma after iodine-enhanced synchrotron stereotactic radiotherapy // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2005a; 7: 16338098.
 56. Adam J.F., Biston M.C., Joubert A., Charvet A.M., Le Bas J.F., Estève F., Elleaume H. Enhanced delivery of iodine for synchrotron stereotactic radiotherapy by means of intracarotid injection and blood-brain barrier disruption: quantitative iodine biodistribution studies and associated dosimetry // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2005 b; 15, 61 (4): 1173–1182.
 57. Edouard M., Broggio D., Prezado Y., Estève F., Elleaume H., Adam J.F. Treatment plans optimization for contrast-enhanced synchrotron stereotactic radiotherapy // *Med. Phys.* 2010; 37 (6): 5487–5504.
 58. Schultz B.-J., Wust P., Ludemann L., Jost G., Pietsch H. Monte Carlo simulation of contrast-enhanced whole brain radiotherapy on a CT scanner // *Med. Phys.* 2011; 38 (8).
 59. Garnica-Garza H.M. Contrast-enhanced radiotherapy: feasibility and characteristics of the physical absorbed dose distribution for deep seated tumors // *Phys. Med. Biol.* 2009; 54: 5411–5425.
 60. Perez-Lopez C.E., Garnica-Garza H.M. Monte Carlo modeling and optimization of contrast-enhanced radiotherapy of brain tumors // *Phys. Med. Biol.* 2011; 56: 4059–4072.
 61. Francis D., Richards G.M., Forouzannia A., Mehta M.P., Khuntia D. Motexafin gadolinium: a novel radiosensitizer for brain tumors // *Expert Opin Pharmacother.* 2009; 10: 2171–2180.
 62. Coulter J.A., Hyland W.B., Nicol J., Currell F.J. Radiosensitising nanoparticles as novel cancer therapeutics--pipe dream or realistic prospect? // *Clin. Oncol. (R Coll Radiol).* 2013; 25: 593–603. 10.1016/j.clon.2013.06.011.
 63. Taupin F., Flaender M., Delorme R., Brochard T., Mayol J.-F., Arnaud J., Perriat P., Sancey L., Lux F., Barth R., Carrière M., Ravanat J.-L., Elleaume H. Gadolinium nanoparticles and contrast agent as radiation sensitizers // *Physics in Medicine and Biology.* 2015; 60 4449.
 64. Sancey L., Lux F., Kotb S., Roux S., Dufort S., Bianchi A. et al. The use of theranostic gadolinium-based nanoprobes to improve radiotherapy efficacy // *Br. J. Radiol.* 2014; 87: 20140134. doi:10.1259/bjr.20140134.
 65. Detappe A., Kunjachan S., Rottmann J., Robar J., Tsiamas P., Korideck H., Tillement O., Ross Berbeco R. AGuIX nanoparticles as a promising platform for image-guided radiation therapy // *Cancer Nano.* 2015; 6: 4. DOI 10.1186/s12645-015-0012-3.
 66. LeDuc G., Roux S., Paruta-Tuarez A., Dufort S., Brauer E., Marais A., Truillet C., Sancey L., Perriat P., Lux F.,

- Tillement O. Advantages of gadolinium based ultrasmall nanoparticles vs molecular gadolinium chelates for radiotherapy guided by MRI for glioma treatment // *Cancer Nanotechnology*. 2014, 5: 4. doi:10.1186/s12645-014-0004-8.
67. Schmidt M.A., Payne G.S. Radiotherapy planning using MRI // *Phys. Med. Biol.* 2015; 60: 323–361.
 68. Hainfeld J.F., Slatkin D.N., Smilowitz H.M. The use of gold nanoparticles to enhance radiotherapy in mice // *Phys. Med. Biol.* 2004; 49: 309–315.
 69. Chithrani B.D.; Jelveh S.; Jalali F.; Van Prooijen, M.; Allen C.; Bristow R.G.; Hill R.P.; Jaffray D.A. Gold nanoparticles as a radiation sensitizer in cancer therapy // *Radiat. Res.* 2010; 173: 719–728.
 70. Hainfeld J.F. et al. Gold nanoparticle imaging and radiotherapy of brain tumors in mice // *Nanomedicine*. 2013; 8 (10): 1601–1609.
 71. Chang M.-Y., Shiau, A.-L., Chen, Y.-H., Chang, C.-J., Chen, H.H.-W., Wu C.-L. Increased apoptotic potential and dose-enhancing effect of gold nanoparticles in combination with singledose clinical electron beams on tumor-bearing mice // *Cancer Sci.* 2008; 99: 1479–1484.
 72. Maeda H. The enhanced permeability and retention (EPR) effect in tumor vasculature: The key role of tumor-selective macromolecular drug targeting // *Adv. Enzyme Regul.* 2001; 41: 189–207.
 73. Greish K. Enhanced permeability and retention of macromolecular drugs in solid tumors: A royal gate for targeted anticancer nanomedicines // *J. Drug Target.* 2007; 15: 457–464.
 74. Choi C.H.; Alabi C.A.; Webster P.; Davis M.E. Mechanism of active targeting in solid tumors with transferrin-containing gold nanoparticles // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010; 107: 1235–1240.
 75. Prise K.M.; Schettino G.; Folkard M.; Held K.D. New insights on cell death from radiation exposure // *Lancet Oncol.* 2005; 6: 520–528.
 76. McMahon S.J.; McNamara A.L.; Schuemann J., Prise K.M., Paganetti H. Mitochondria as a target for radiosensitisation by gold nanoparticles // *Journal of Physics: Conference Series*. 2017; 777 (1): 012008. DOI: 10.1088/1742-6596/777/1/012008.
 77. Pignol J., Rakovitch E., Beachey D., LeSech C. Clinical significance of atomic inner shell ionization (ISI) and Auger cascade for radiosensitization using IUDR, BUDR, platinum salts, or gadolinium porphyrin compounds // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2003; 15, 55 (4): 1082–1091.
 78. Lehnert S. Radiosensitizers and radiochemotherapy in the treatment of cancer. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL, USA, 2015: 515.
 79. Butterworth K.T., McMahon S.J., Currell F.J., Prise K.M.. Physical basis and biological mechanisms of gold nanoparticle radiosensitization // *Nanoscale*. 2012; 4: 4830–4838.
 80. Tsiamas P., Liu B., Cifter F., Ngwa W. F., Berbeco R.I., Kappas C., Theodorou K., Marcus K., Makrigiorgos M.G., Sajo E., Zygmanski P. Impact of beam quality on megavoltage radiotherapy treatment techniques utilizing gold nanoparticles for dose enhancement // *Phys. Med. Biol.* 2013; 58: 451–464. doi:10.1088/0031-9155/58/3/451.
 81. Polf J.C., Bronk L.F., Driessen W.H.P., Arap W., Pasqualini R., Gillin M. Enhanced relative biological effectiveness of proton radiotherapy in tumor cells with internalized gold nanoparticles // *Appl. Phys. Lett.* 2011; 98: 193702. <http://dx.doi.org/10.1063/1.3589914>.
 82. LeSech C., Kobayashi K., Usami N., Furusawa Y., Porcel S. Lacombe. Comment on “Enhanced relative biological effectiveness of proton radiotherapy in tumor cells with internalized gold nanoparticles” // *Appl. Phys. Lett.* 2011; 98: 193702. <http://dx.doi.org/10.1063/1.3675570>.
 83. Kobayashi K. et al. Enhancement of X-ray-induced breaks in DNA bound to molecules containing platinum: a possible application to hadrontherapy // *Radiat. Res.* 2002; 157: 32. [http://dx.doi.org/10.1667/0033-7587\(2002\)157\[0032:EOXRIB\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1667/0033-7587(2002)157[0032:EOXRIB]2.0.CO;2).
 84. Lechtman E., Mashouf S., Chattopadhyay N., Keller B., Lai P., Cai Z., Reilly R., Pignol J. A Monte Carlo-based model of gold nanoparticle radiosensitization accounting for increased radiobiological effectiveness // *Phys. Med. Biol.* 2013; 58 (10): 3075–3087. doi: 10.1088/0031-9155/58/10/3075.
 85. Štefančíková L., Lacombe S., Salado D., Porcel E., Pagáčová E., Tillement O., Lux F., Дегель D., Kozubek S., Falk M. Effect of gadolinium-based nanoparticles on nuclear DNA damage and repair in glioblastoma tumor cells // *Journal of Nanobiotechnology*. 2016; 14: 63. doi: 10.1186/s12951-016-0215-8.
 86. Detappe A., Kunjachan S., Draný P., Kotb S., Myronakis M., Biancur D.E., Ireland T., Wagar M., Lux F., Tillement O., Berbeco R. Key clinical beam parameters for nanoparticle-mediated radiation dose amplification // *Sci. Rep.* 2016; 6: 34040. doi: 10.1038/srep34040.
 87. Jacob Van Dyk. Advances in modern radiation therapy, Medical Physics Pub. Corp. 2005.
 88. Connell P.P., Hellman S. Advances in radiotherapy and implications for the next century: a historical perspective // *Cancer Res.* 2009; 69: 383–392. 10.1158/0008-5472.CAN-07-6871
 89. Bergs J.W., Wacker M.G., Hehlhans S., Piiper A., Multihoff G., Rödell C., Rödell F. The role of recent nanotechnology in enhancing the efficacy of radiation therapy // *BBA – Reviews on Cancer*. 2015. doi: 10.1016/j.bbcan.2015.06.008.
 90. Espinoza-Castaneda M., de la Escosura-Muniz A., Gonzalez-Ortiz G., Martin-Orue S.M, Perez J.F., Merkoci A. Casein modified gold nanoparticles for future theranostic applications // *Biosens Bioelectron.* 2013; 40 (1): 271–276.
 91. Retif P., Pinel S., Toussaint M., Frochot C., Chouikrat R., Bastogne T., Barberi-Heyob M. Nanoparticles for radiation therapy Enhancement: the key parameters // *Theranostics*. 2015; 5 (9): 1030–1045.

Поступила в редакцию 22.03.2017

Утверждена к печати 30.06.2017

Шейно Игорь Николаевич, канд. физ.-мат. наук, зав. лабораторией, ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна, г. Москва.

Ижевский Павел Владимирович, канд. мед. наук, доцент, вед. науч. сотрудник, ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна, г. Москва.

Липенгольц Алексей Андреевич, канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотрудник, ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна, г. Москва.

Кулаков Виктор Николаевич, д-р хим. наук, вед. науч. сотрудник, ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна, г. Москва.

Вагнер Александр Рудольфович, канд. физ.-мат. наук, НИ ТПУ, г. Томск.

Варлачев Валерий Александрович, д-р техн. наук, профессор, зав. лабораторией, НИ ТПУ, г. Томск.

Сухих Евгения Сергеевна, канд. физ.-мат. наук, медицинский физик, ТООД; ст. преподаватель, НИ ТПУ, г. Томск.

(✉) Ижевский Павел Владимирович, e-mail: izhevsky09@gmail.com.

УДК 616-006.6:615.849:001.89

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-192-209

For citation: Sheino I.N., Izhevskij P.V., Lipengolts A.A., Kulakov V.N., Wagner A.A., Sukhikh E.S., Varlachev V.A. Development of binary technologies of radiotherapy of malignant neoplasms: condition and problems. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 192–209

Development of binary technologies of radiotherapy of malignant neoplasms: condition and problems

Sheino I.N.¹, Izhevskij P.V.¹, Lipengolts A.A.¹, Kulakov V.N.¹,
Wagner A.A.², Sukhikh E.S.^{2,3}, Varlachev V.A.²

¹ A.I. Burnazian Federal Medical Biophysical Center
46, Givopisnaya Str., Moscow, 123182, Russian Federation

² National Research Tomsk Polytechnic University
30, Lenin Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

³ Tomsk Regional Oncology Center
115, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

REFERENCES

The review is devoted to the problems of the development of binary technologies of radiation therapy - neutron and photon-capture therapy of malignant neoplasms. These technologies are based on the principle of "biological" targeting: irradiation of a tumor with pre-delivered special preparations increasing energy release and the relative biological efficiency of primary radiation. The basis of methods, characteristics of sources of external irradiation and used preparations, and stages of development of technologies are described. The development and implementation of binary technologies attract a great number of researchers but are restrained by the shortage of operating sources of epithermal neutrons (reactors, neutron generators based on accelerators) and the lack of accurate radiation dosimetry planning systems that takes into account the dynamics and accumulation of drugs in tumors.

Key words: malignant neoplasms, neutron-capture therapy, photon-capture therapy, binary technologies of radiotherapy, boron-10, gadolinium, gold, platinum.

REFERENCES

1. Sauerwein W., Wittig A., Moss R., Nakagawa Y. (eds). Neutron capture therapy: principles and applications. Springer; 2012: 553. doi:10.1007/978-3-642-31334-9.

2. Khokhlov V.F., Sheino I.N., Kulakov V.N. et al. Sposob foton-zachvatnoj terapii zlocatchestvennich opucholej [The method of photon-capture therapy of malignant tumors] Patent RF 2270045, 2006. <http://bd.patent.su/2270000-2270999/pat/servlet/servlet0c2a.html> (in Russian).

3. Rolf F. Barth, Graca M., Vicente H., Harling Otto K., Kiger III W.S., Kent J. Riley, Peter J. Binns, Franz M. Wagner, Minoru Suzuki, Teruhito Aihara, Itsuro Kato, Shinji Kawabata. Current status of boron neutron capture therapy of high grade gliomas and recurrent head and neck cancer // *Radiation Oncology*. 2012; 7: 146.
4. Moss R.L., Aizawa O., Beynon D., Brugger R., Constantine G., Harling O., Liu H.B., Watkins P. The requirements and development of neutron beams for neutron capture therapy of brain cancer // *Journal of Neuro-Oncology*. 1997; 33: 27–40.
5. IAEA-TECDOC-1223 «Current status of neutron capture therapy», 2001.
6. Harling O.K., Riley K.J. Fission reactor neutron sources for neutron capture therapy – a critical review // *Journal of Neuro-Oncology*. 2003; 82: 7–17.
7. Zaitsev K.N., Portnov A.A., Mishcherina O.V., Kulakov V.N., Khokhlov V.F., Meshcherikova V.V., Mitin V.N., Koslovskaya N.G., Sheino I.N.. Neutron capture therapy at the MPhI reactor // *International Journal of Nuclear Science and Technology*. 2004; 1: 83–101.
8. Mitin V.N., Kulakov V.N., Khokhlov V.F., Sheino I.N., Bass L.P., Kozlovskaya N.G., Zaitsev K.N., Portnov A.A., Yagnikov S.A., Shiryayev S.V. BNCT of canine osteosarcoma // 12th International Congress on Neutron Capture Therapy. “From the Past to the Future”, October 9–13, 2006, Takamatsu, Kagawa, ed.: Nakagawa Y., Kobayashi T., Fukuda H. Japan, 2006: 135–138.
9. Mitin V.N., Kulakov V.N., Khokhlov V.F., Sheino I.N., Ar-nopolskaya A.M., Kozlovskaya N.G., Zaitsev K.N., Portnov A.A. Comparison of BNCT and GdNCT efficacy in treatment of canine cancer // *Applied Radiation and Isotopes*. 2009; 67: 299–301.
10. Zaitsev K.N., Portnov A.A., Sacharov V.K., Troschin V.S., Kvasov V.I., Savkin V.A., Mitscherina O.V., Lipengolts A.A., Khokhlov V.F., Kulakov V.N., Mitin V.N., Kozlovskaya N.G., Sheino I.N. Rasrabotka technologii nejtron-zachvatnoj terapii zlocachestvennich opucholey i provedenie predcliniticheskikh issledovanij na jadernom reaktore MPhI [Development of neutron-capture therapy of malignant tumors and preclinical research at the IRT MPhI nuclear reactor]. *Inginernaaj Phisica – Engineering Physics*. 2007; 2: 122–140 (in Russian).
11. Mitsumoto T., Fujita K., Ogasawara T., Tsutsui H., Yajima S., Maruhashi A., Sakurai Y., Tanaka H.. BNCT system using 30 MeV H-cyclotron. Proceedings of Cyclotrons Lanzhou, China, 2010: 430–432.
12. Abe Y., Fuse M., Fujii R., Nakamura M., Imahoru Y., Itami J. Hospital based boron neutron capture therapy in National Cancer Center. An installation design for the accelerator- based epithermal neutron source. In: Abstracts of 15th International Congress on Neutron Capture Therapy. 2012, Sept. 10–14; Tsukuba, Japan: 109–110.
13. Kumada H., Kurihara H., Yoshioka M., Kobayashi H., Matsumoto H., Sugano T. et al. Development of beryllium-based neutron target system with three-layer structure for accelerator-based neutron source for boron neutron capture therapy // *Appl. Radiat. Isot.* 2015; 106: 78–83.
14. Taskaev S.Yu. Uskoritelnij istotschnic epiteplovich nejtronov [Accelerator Based Epithermal Neutron Source]. *Physics of elementarnich tschastic i atomnogo jadra – Physics of Particles and Nuclei*. 2015. 46 (6): 1770–1830 (in Russian).
15. Zaidi L., Kaschaeva E.A., Legnin S.I., Malischkin G.N., Samarin S.I., Sitcheva T.V., Taskaev S. Yu., Frolov S.A. Sistema formirovaniya puchka nejtronov dlaj bor-nejtron-zachvatnoj terapii [Neutron-beam-shaping assembly for boron neutron capture therapy]. *Phisica atomnogo jadra – Physics of Atomic Nuclei*. 2017. 80 (1): 63–66. doi: 10.7868/S0044002717010160 (in Russian).
16. Sheino I.N. Dose-supplementary therapy of malignant tumors // Advances in Neutron Capture Therapy 2006. Proceedings of 12th International Congress on Neutron Capture Therapy. “From the Past to the Future”, October 9–13, 2006; Takamatsu, Kagawa, ed.: Nakagawa Y., Kobayashi T., Fukuda H. Japan, 2006: 531–534.
17. McMahon S.J., Paganetti H., Prise K.M. Optimising element choice for nanoparticle radiosensitisers // *Nanoscale*. 2016; 8 (1): 581–589. doi:10.1039/c5nr07089a.
18. Lipengolts A.A., Khokhlov V.F., Kulakov V.N., Nasonova T.A., Dobrynina O.A., Sheino I.N. Photon capture therapy – process analog of neutron capture therapy. First Experimental Results of Melanoma Treatment in Mice. New Challenges in Neutron Capture Therapy 2010. Proceedings of 14th International Congress on Neutron Capture Therapy, October 25–29, 2010, Buenos Aires, Argentina, 2010: 105–106.
19. Lipengolts A.A., Cherepanov A.A., Kulakov V.N., Grigorieva E.Y., Sheino I.N., Klimanov V.A. Antitumor efficacy of extracellular complexes with gadolinium in Binary Radiotherapy // *Applied Radiation and Isotopes*. 2015; 106: 233–236. doi:10.1016/j.apradiso.2015.07.051.
20. Lipengolts A., Cherepanov A., Kulakov V., Sheino I., Grigorieva E., Klimanov V. Gadolinium enhanced x-rays radiotherapy of murine adenocarcinoma Ca755 // *Radiation Therapy & Oncology*. 2016; 119 (1): 958–959.
21. Apanasevich V.I., Lukjanov P.A., Lagureva A.V., Polkovnikova A.S. et al. Sposob foton-zachvatnoj terapii opucholey [The method of photon-capture therapy of tumors]. Patent RF № 2533267, 2013. http://www.freepatent.ru/images/img_patents/2/2533/2533267/patent-2533267.pdf (in Russian).
22. Fairchild R., Bond V.P. Photon activation therapy // *Strahlentherapie*. 1984; 160: 758–763.
23. Fairchild R.G., Laster B.H., Popenoe E.A. et al. Photon activation therapy (PAT) // *Med. Phys.* 1985; 12: 536.
24. Karnas S.J., Yu E., McGarryk R.C., Battista J.J. Optimal photon energies for IUDR K-edge radiosensitization with filtered x-ray and radioisotope sources // *Phys. Med. Biol.* 1999; 44: 2537–2549.

25. Biston M.C., Joubert A., Charvet A.M., Balosso J., Foray N. In vitro and in vivo optimization of an anti-glioma modality based on synchrotron X-ray photoactivation of platinated drugs // *Radiat. Res.* 2009; 172 (3): 348–358. doi: 10.1667/RR1650.1
26. Rousseau J., Boudou C., Barth R.F. et al. Enhanced survival and cure of F98 glioma-bearing rats following intracerebral delivery of carboplatin in combination with photon irradiation // *Clin. Cancer Res.* 2007; 13: 5195–5201.
27. Rousseau J., Barth R.F., Moeschberger M.L., Elleaume H. Efficacy of intracerebral delivery of Carboplatin in combination with photon irradiation for treatment of F98 glioma-bearing rats // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2009; 73: 530–536.
28. Biston M.C., Joubert A., Adam J.F., Elleaume H., Bohic S., Charvet A.M., Estive F., Foray N., Balosso J. Cure of Fisher rats bearing radioresistant F98 glioma treated with cis-platinum and irradiated with monochromatic synchrotron X-rays // *Cancer Res.* 2004; 64 (7): 2317–2323.
29. Estive F., Adam J., Biston M.C., Joubert A., Corde S., Boudou C., Rousseau J., Gastaldo J., Bencokova Z., Charvet A.M., Foray N., Le Bas J.F., Balosso J., Elleaume H. High-Z compounds for synchrotron stereotactic radiotherapy: developments and perspectives // *Contrast Media Mol. Imaging.* 2006; 1 (2): 60 17193619 (P, S, E, B, D).
30. Bencokova Z., Balosso J., Foray N. Radiobiological features of the anti-cancer strategies involving synchrotron X-rays // *J. Synchrotron Rad.* 2008; 15: 74–85.
31. Rousseau J., Barth R.F., Fernandez M., Adam J.F., Balosso J., Estive F., Elleaume H. Efficacy of intracerebral delivery of cisplatin in combination with photon irradiation for treatment of brain tumors // *J. Neurooncol.* 2010; 98(3): 287–295.
32. Adam J.F., Balosso J., Bobyk L., Charvet A.M., Edouard M., Elleaume H., Estive F., Le Bas J.F., Rousseau J., Joubert A. Radiation Therapy Using Synchrotron Radiation: Preclinical Studies Toward Clinical Trials // *Synchrotron radiation news.* 2011; 24 (2).
33. Yang W., Huo T., Barth R.F., Gupta N., Weldon M., Greco J.C., Ross B.D., Hoff B.A., Chou T.C., Rousseau J., Elleaume H. Convection enhanced delivery of carboplatin in combination with radiotherapy for the treatment of brain tumors // *J. Neurooncol.* 2011; 101(3): 379–390.
34. Bobyk L., Edouard M., Deman P., Rousseau J., Adam J.F., Ravanat J.L., Estive F., Balosso J., Barth R.F., Elleaume H. Intracerebral delivery of carboplatin in combination with either 6 MV photons or monoenergetic synchrotron X-rays are equally efficacious for treatment of the F98 rat glioma // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2012; 20 (31): 78.
35. Barth R.F., Coderre J.A., Graza M., Vicente H., Blue T.E. Boron neutron capture therapy of cancer: current status and future prospects // *Clinical Cancer Research.* 2005; 11: 3987–4002.
36. Barth R.F., Joensuu H. Boron neutron capture therapy for the treatment of glioblastomas and extracranial tumours: As effective, more effective or less effective than photon irradiation? // *Radiotherapy and Oncology.* 2007; 82(2): 119–122.
37. Barth R.F. Boron neutron capture therapy at the crossroads: Challenges and opportunities // *Applied Radiation and Isotopes.* 2009; 67: 53–56.
38. Huo T., Barth R.F., Yang W., Nakkula R.J., Koynova R., Tenchov B., Chaudhury A.R., Agius L., Boulikas T., Elleaume H., Lee R.J. Preparation, biodistribution and neurotoxicity of liposomal cisplatin following convection enhanced delivery in normal and F98 glioma bearing rats // *PLoS One.* 2012; 7 (11).
39. Coquery N., Pannetier N., Farion R., Herbet A., Azurmendi L., Clarencon D., Bauge S., Josserand V., Rome C., Coll J.L., Sun J.S., Barbier E.L., Dutreix M., Remy C.C. Distribution and radiosensitizing effect of cholesterol-coupled Dbait molecule in rat model of glioblastoma // *PLoS One.* 2012; 7 (7).
40. Li R., Wu W., Liu Q., Wu P., Xie L., Zhu Z., Yang M., Qian X., Ding Y., Yu L., Jiang X., Guan W., Liu B. Intelligently targeted drug delivery and enhanced antitumor effect by gelatinase-responsive nanoparticles // *PLoS One.* 2013.
41. Yang W., Barth R.F., Wu G., Huo T., Tjarks W., Ciesielski M., Fenstermaker R.A., Ross B.D., Wikstrand C.J., Riley K.J., Binns P.J. Convection enhanced delivery of boronated EGF as a molecular targeting agent for neutron capture therapy of brain tumors // *J. Neurooncol.* 2009; 95 (3): 355–365.
42. Kawabata S., Yang W., Barth R.F., Wu G., Huo T., Binns P.J., Riley K.J., Ongayi O., Gottumukala V., Vicente M.G. Convection enhanced delivery of carboranylporphyrins for neutron capture therapy of brain tumors // *J. Neurooncol.* 2011; 103 (2): 175–185.
43. Seiwert T.Y., Salama J.K., Vokes E.E. The concurrent chemoradiation paradigm - general principles // *Nature Clinical Practice Oncology.* 2007; 4 (2): 86–100.
44. Chadwick K.H., Leenhouts H.P., Szumiel I. et al. An analysis of the interaction of a platinum complex and radiation with CHO cells using the molecular theory of cell survival // *Int. J. Radiat. Biol.* 1976; 30: 511–524.
45. Yapp D.T., Lloyd D.K., Zhu J. et al. The potentiation of the effect of radiation treatment by intratumoral delivery of cisplatin // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1998; 42: 413–420.
46. Montenegro M., Nahar S.N., Pradhan A.K. et al. Monte Carlo simulations and atomic calculations for Auger processes in biomedical nanotheranostics // *J. Phys. Chem A.* 2009; 113: 12364–12369.
47. Lim S.N., Pradhan A.K., Barth R.F., Nahar S.N., Nakkula R.J., Yang W., Palmer A.M., Turro C., Weldon M., Bell E.H., Mo X. Tumoricidal activity of low-energy 160-KV versus 6-MV X-rays against platinum-sensitized F98 glioma cells // *J. Radiat. Res.* 2015; 56 (1): 77–89. doi: 10.1093/jrr/rru084.

48. Shi M., Fortin D., Sanche L., Paquette B. Convection-enhancement delivery of platinum-based drugs and Lipoplatin™ to optimize the concomitant effect with radiotherapy in F98 glioma rat model // *Invest. New Drugs*. 2015; 33 (3): 555–563. doi:10.1007/s10637-015-0228-4.
49. Yang W., Barth R.F., Huo T. et al. Radiation therapy combined with intracerebral administration of carboplatin for the treatment for brain tumors // *Radiat Oncol*. 2014; 9: 25.
50. Setua S., Ouberaï M., Piccirillo S.G., Watts C., Welland M. Cisplatin-tethered gold nanospheres for multimodal chemo-radiotherapy of glioblastoma // *Nanoscale*. 2014; 6: 10865–10873. doi: 10.1039/c4nr03693j.
51. Mesa A.V., Norman A., Solberg T.D. Dose distributions using kilovoltage X-rays and dose enhancement from iodine contrast agents // *Phys. Med. Biol.* 1999; 44: 19–55.
52. Verhaegen F., Reniers B., Deblois F., Devic S., Seuntjens J., Hristov D. Dosimetric and microdosimetric study of contrast-enhanced radiotherapy with kilovolt x-rays // *Phys. Med. Biol.* 2005; 50: 3555–3569.
53. Adam J.F., Elleaume H., Joubert A., Biston M.C., Charvet A.M., Balosso J., Le Bas J.F., Estève F. Synchrotron radiation therapy of malignant brain glioma loaded with an iodinated contrast agent: First trial on rats bearing F98 gliomas // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2003; 1 57 (5): 1413–1426.
54. Corde S., Joubert A., Adam J.F., Charvet A.M., Le Bas J.F., Estève F., Elleaume H., Balosso J. Synchrotron radiation-based experimental determination of the optimal energy for cell radiotoxicity enhancement following photoelectric effect on stable iodinated compounds // *Br. J. Cancer*. 2004, 2; 91 (3): 544–551.
55. Adam J. F., Joubert A., Biston M.C., Charvet A.M., Peoc'h M., Le Bas J.F., Balosso J., Estève F., Elleaume H. Prolonged survival of Fischer rats bearing F98 glioma after iodine-enhanced synchrotron stereotactic radiotherapy // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2005a; 7: 16338098.
56. Adam J.F., Biston M.C., Joubert A., Charvet A.M., Le Bas J.F., Estève F., Elleaume H. Enhanced delivery of iodine for synchrotron stereotactic radiotherapy by means of intracarotid injection and blood-brain barrier disruption: quantitative iodine biodistribution studies and associated dosimetry // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2005 b; 15, 61 (4): 1173–1182.
57. Edouard M., Broggio D., Prezado Y., Estève F., Elleaume H., Adam J.F. Treatment plans optimization for contrast-enhanced synchrotron stereotactic radiotherapy // *Med. Phys.* 2010; 37 (6): 5487–5504.
58. Schultz B.-J., Wust P., Ludemann L., Jost G., Pietsch H. Monte Carlo simulation of contrast-enhanced whole brain radiotherapy on a CT scanner // *Med. Phys.* 2011; 38 (8).
59. Garnica-Garza H.M. Contrast-enhanced radiotherapy: feasibility and characteristics of the physical absorbed dose distribution for deep seated tumors // *Phys. Med. Biol.* 2009; 54: 5411–5425.
60. Perez-Lopez C.E., Garnica-Garza H.M. Monte Carlo modeling and optimization of contrast-enhanced radiotherapy of brain tumors // *Phys. Med. Biol.* 2011; 56: 4059–4072.
61. Francis D., Richards G.M., Forouzannia A., Mehta M.P., Khuntia D. Motexafin gadolinium: a novel radiosensitizer for brain tumors // *Expert Opin Pharmacother.* 2009; 10: 2171–2180.
62. Coulter J.A., Hyland W.B., Nicol J., Currell F.J. Radiosensitising nanoparticles as novel cancer therapeutics—pipe dream or realistic prospect? // *Clin. Oncol. (R Coll Radiol)*. 2013; 25: 593–603. 10.1016/j.clon.2013.06.011.
63. Taupin F., Flaender M., Delorme R., Brochard T., Mayol J.-F., Arnaud J., Perriat P., Sancey L., Lux F., Barth R., Carrière M., Ravanat J.-L., Elleaume H. Gadolinium nanoparticles and contrast agent as radiation sensitizers // *Physics in Medicine and Biology*. 2015; 60 4449.
64. Sancey L., Lux F., Kotb S., Roux S., Dufort S., Bianchi A. et al. The use of theranostic gadolinium-based nanoprobes to improve radiotherapy efficacy // *Br. J. Radiol.* 2014; 87: 20140134. doi:10.1259/bjr.20140134.
65. Detappe A., Kunjachan S., Rottmann J., Robar J., Tsimas P., Korideck H., Tillement O., Ross Berbeco R. AGuIX nanoparticles as a promising platform for image-guided radiation therapy // *Cancer Nano*. 2015; 6: 4. DOI 10.1186/s12645-015-0012-3.
66. LeDuc G., Roux S., Paruta-Tuarez A., Dufort S., Brauer E., Marais A., Truillet C., Sancey L., Perriat P., Lux F., Tillement O. Advantages of gadolinium based ultrasmall nanoparticles vs molecular gadolinium chelates for radiotherapy guided by MRI for glioma treatment // *Cancer Nanotechnology*. 2014, 5: 4. doi:10.1186/s12645-014-0004-8.
67. Schmidt M.A., Payne G.S. Radiotherapy planning using MRI // *Phys. Med. Biol.* 2015; 60: 323–361.
68. Hainfeld J.F., Slatkin D.N., Smilowitz H.M. The use of gold nanoparticles to enhance radiotherapy in mice // *Phys. Med. Biol.* 2004; 49: 309–315.
69. Chithrani B.D.; Jelveh S.; Jalali F.; Van Prooijen, M.; Allen C.; Bristow R.G.; Hill R.P.; Jaffray D.A. Gold nanoparticles as a radiation sensitizer in cancer therapy // *Radiat. Res.* 2010; 173: 719–728.
70. Hainfeld J.F. et al. Gold nanoparticle imaging and radiotherapy of brain tumors in mice // *Nanomedicine*. 2013; 8 (10): 1601–1609.
71. Chang M.-Y., Shiau, A.-L., Chen, Y.-H., Chang, C.-J., Chen, H.H.-W., Wu C.-L. Increased apoptotic potential and dose-enhancing effect of gold nanoparticles in combination with singledose clinical electron beams on tumor-bearing mice // *Cancer Sci.* 2008; 99: 1479–1484.
72. Maeda H. The enhanced permeability and retention (EPR) effect in tumor vasculature: The key role of tumor-selective macromolecular drug targeting // *Adv. Enzyme Regul.* 2001; 41: 189–207.
73. Greish K. Enhanced permeability and retention of macromolecular drugs in solid tumors: A royal gate for tar-

- geted anticancer nanomedicines // *J. Drug Target.* 2007; 15: 457–464.
74. Choi C.H.; Alabi C.A.; Webster P.; Davis M.E. Mechanism of active targeting in solid tumors with transferin-containing gold nanoparticles // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010; 107: 1235–1240.
 75. Prise K.M.; Schettino G.; Folkard M.; Held K.D. New insights on cell death from radiation exposure // *Lancet Oncol.* 2005; 6: 520–528.
 76. McMahon S.J.; McNamara A.L.; Schuermann J.; Prise K.M.; Paganetti H. Mitochondria as a target for radiosensitization by gold nanoparticles // *Journal of Physics: Conference Series.* 2017; 777 (1): 012008. DOI: 10.1088/1742-6596/777/1/012008.
 77. Pignol J., Rakovitch E., Beachey D., LeSech C. Clinical significance of atomic inner shell ionization (ISI) and Auger cascade for radiosensitization using IUdR, BUdR, platinum salts, or gadolinium porphyrin compounds // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2003; 15, 55 (4): 1082–1091.
 78. Lehnert S. Radiosensitizers and radiochemotherapy in the treatment of cancer. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, FL, USA, 2015: 515.
 79. Butterworth K.T., McMahon S.J., Currell F.J., Prise K.M.. Physical basis and biological mechanisms of gold nanoparticle radiosensitization // *Nanoscale.* 2012; 4: 4830–4838.
 80. Tsiamas P., Liu B., Cifter F., Ngwa W. F., Berbeco R.I., Kappas C., Theodorou K., Marcus K., Makrigiorgos M.G., Sajo E., Zygmanski P. Impact of beam quality on megavoltage radiotherapy treatment techniques utilizing gold nanoparticles for dose enhancement // *Phys. Med. Biol.* 2013; 58: 451–464. doi:10.1088/0031-9155/58/3/451.
 81. Polf J.C., Bronk L.F., Driessen W.H.P., Arap W., Pasqualini R., Gillin M. Enhanced relative biological effectiveness of proton radiotherapy in tumor cells with internalized gold nanoparticles // *Appl. Phys. Lett.* 2011; 98: 193702. <http://dx.doi.org/10.1063/1.3589914>.
 82. LeSech C., Kobayashi K., Usami N., Furusawa Y., Porcel S. Lacombe. Comment on “Enhanced relative biological effectiveness of proton radiotherapy in tumor cells with internalized gold nanoparticles” // *Appl. Phys. Lett.* 2011; 98: 193702. <http://dx.doi.org/10.1063/1.3675570>.
 83. Kobayashi K. et al. Enhancement of X-ray-induced breaks in DNA bound to molecules containing platinum: a possible application to hadrontherapy // *Radiat. Res.* 2002; 157: 32. [http://dx.doi.org/10.1667/0033-7587\(2002\)157\[0032:EOXRIB\]2.0.CO;2](http://dx.doi.org/10.1667/0033-7587(2002)157[0032:EOXRIB]2.0.CO;2).
 84. Lechtman E., Mashouf S., Chattopadhyay N., Keller B., Lai P., Cai Z., Reilly R., Pignol J. A Monte Carlo-based model of gold nanoparticle radiosensitization accounting for increased radiobiological effectiveness // *Phys. Med. Biol.* 2013; 58 (10): 3075–3087. doi: 10.1088/0031-9155/58/10/3075.
 85. Štefančíková L., Lacombe S., Salado D., Porcel E., Pagáčová E., Tillement O., Lux F., Дегер D., Kozubek S., Falk M. Effect of gadolinium-based nanoparticles on nuclear DNA damage and repair in glioblastoma tumor cells // *Journal of Nanobiotechnology.* 2016; 14: 63. doi: 10.1186/s12951-016-0215-8.
 86. Detappe A., Kunjachan S., Draný P., Kotb S., Myronakis M., Biancur D.E., Ireland T., Wagar M., Lux F., Tillement O., Berbeco R. Key clinical beam parameters for nanoparticle-mediated radiation dose amplification // *Sci. Rep.* 2016; 6: 34040. doi: 10.1038/srep34040.
 87. Jacob Van Dyk. Advances in modern radiation therapy, Medical Physics Pub. Corp. 2005.
 88. Connell P.P., Hellman S. Advances in radiotherapy and implications for the next century: a historical perspective // *Cancer Res.* 2009; 69: 383–392. 10.1158/0008-5472.CAN-07-6871
 89. Bergs J.W., Wacker M.G., Hehlhans S., Piiper A., Muthhoff G., Rödell C., Rödell F. The role of recent nanotechnology in enhancing the efficacy of radiation therapy // *BBA – Reviews on Cancer.* 2015. doi: 10.1016/j.bbcan.2015.06.008.
 90. Espinoza-Castaneda M., de la Escosura-Muniz A., Gonzalez-Ortiz G., Martin-Orue S.M., Perez J.F., Merkoci A. Casein modified gold nanoparticles for future theranostic applications // *Biosens Bioelectron.* 2013; 40 (1): 271–276.
 91. Retif P., Pinel S., Toussaint M., Frochot C., Chouikrat R., Bastogne T., Barberi-Heyob M. Nanoparticles for radiation therapy Enhancement: the key parameters // *Theranostics.* 2015; 5 (9): 1030–1045.

Received March 22.2017

Accepted June 30.2017

Sheino Igor N., PhD, Head of Laboratory, A.I. Burnazian Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russian Federation.
 Izhevskij Pavel V., PhD, Leading Researcher, A.I. Burnazian Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russian Federation.
 Lipengolts Alexey A., PhD, Senior Researcher, A.I. Burnazian Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russian Federation.

Kulakov Victor N., DChSc, Leading Researcher, A.I. Burnazian Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russian Federation.

Wagner Alexander A., PhD, Head of Laboratory, National Research Tomsk Polytechnic University, Russian Federation.
 Varlachev Valery A., DTSc, Professor, Head of Laboratory, National Research Tomsk Polytechnic University, Russian Federation.

Sukhikh Evgeniya S., PhD, Tomsk Regional Oncology Center, Medical Physicist; Senior Lecturer, National Research Tomsk Polytechnic University, Russian Federation.

(✉) Izhevskij Pavel V., e-mail: izhevsky09@gmail.com

УДК 616-008.9-056.7

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-210–217

Для цитирования: Федосеева И.Ф., Попонникова Т.В., Галиева Г.Ю., Илясова О.В. Клинические наблюдения поздней младенческой и юношеской форм болезни Ниманна – Пика, тип С. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 210–217

Клинические наблюдения поздней младенческой и юношеской форм болезни Ниманна – Пика, тип С

Федосеева И.Ф.¹, Попонникова Т.В.¹, Галиева Г.Ю.², Илясова О.В.²

¹ Кемеровский государственный медицинский университет (КемГМУ)

Россия, 650029, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22а

² Кемеровская областная клиническая больница

Россия, 650000, г. Кемерово, Октябрьский пр., 22

РЕЗЮМЕ

Приводится клиническое описание и анализ случаев болезни Ниманна – Пика, тип С, у двух детей. Сложность диагностики обусловлена полиморфизмом клинических проявлений, вариативностью возраста манифестации, редкостью заболевания в популяции, а также отсутствием простого диагностического теста для массового скрининга. При юношеской и поздней младенческой форме болезни Ниманна – Пика, тип С, выявляется изолированная гепатоспленомегалия. Неврологическая симптоматика проявляется постепенным снижением когнитивных функций; геластической катаплексией, эпилептическими приступами, экстрапирамидными нарушениями. Уточнение диагноза в представленных случаях происходило в течение 4–7 лет и стало возможным лишь при применении ДНК-диагностики мутаций генов *NPC1* и *NPC2*.

Ключевые слова: болезнь Ниманна – Пика, тип С, дети, эпилептические приступы, гепатоспленомегалия, офтальмопарез.

ВВЕДЕНИЕ

Развитие медицинской генетики в последние годы привело к расширению возможностей диагностики и повышению интереса к изучению орфанных заболеваний. Болезнь Ниманна – Пика является редким наследственным заболеванием обмена веществ и относится к группе лизосомных болезней накопления, включающей 45 нозологических форм [1]. По данным современных исследований, болезнь Ниманна – Пика представляет собой гетерогенную группу прогрессирующих нейровисцеральных лизосомных липидных болезней накопления. Заболевание возникает вследствие мутации генов *NPC1* (95%) и *NPC2* (4%). Известно около 300 возможных мутаций *NPC1* и

более 20 *NPC2*. Дефицит белка *NPC2* – внутрилизосомного транспортера холестерина – приводит к нарушению внутриклеточного транспорта и вторичному нарушению процессов расщепления гликофинголипидов и их накоплению внутри лизосом [2]. Заболевание характеризуется отложением сфингомиелина и других липидов преимущественно в клетках ретикулоэндотелиальной и нервной ткани.

Вариативность клинических проявлений, возраста начала заболевания, интенсивности накопления липидов в тканях, степени тяжести и течения заболевания определила выделение четырех типов в составе болезни Ниманна – Пика [3]. Тип А характеризуется ранним тяжелым поражением центральной нервной системы (ЦНС) и массивным повреждением тканей в результате патологического клеточного накопления. При

✉ Федосеева Ирина Фансовна, e-mail: irenf1@yandex.ru.

типе В поражаются преимущественно паренхиматозные органы. Для типов С и D характерны умеренная выраженность висцеральных проявлений, подострое течение, поражение нервной системы и относительно медленное прогрессирование [4]. Болезнь Ниманна – Пика, тип С – наиболее распространенный тип заболевания, наследуется по аутосомно-рецессивному типу и встречается с частотой 1 : 120 000–150 000 случаев новорожденных [5]. Возраст дебюта заболевания, темп прогрессирования, а также продолжительность жизни значительно различаются [2]. Летальный исход зависит от формы заболевания и наступает в первом – третьем десятилетии жизни [5]. Низкая специфичность и изолированность начальных симптомов заболевания, а также недостаточная возможность применения генетической диагностики приводят к удлинению сроков диагностики. Уточнение диагноза происходит в среднем в течение 5–6 лет [6]. В Российской Федерации диагностика болезни Ниманна – Пика типа С проводится с 2008 г. К 2013 г. выявлено 11 больных (из них 10 детей) [7].

При болезни Ниманна – Пика типа С органами мишенями являются головной мозг, легкие, печень, селезенка. Висцеральные проявления предшествуют неврологическим симптомам. Возраст начала манифестации висцеральных симптомов не связан с возрастом начала неврологических проявлений [8]. В зависимости от сроков манифестации выделяют несколько форм болезни Ниманна – Пика типа С: неонатальная (тяжелая младенческая), ранняя младенческая (возраст 3 мес – 2 года), поздняя младенческая (2–6 лет), юношеская (6–15 лет), взрослая (старше 15 лет). Неврологическая симптоматика заболевания включает вертикальный надъядерный паралич взора, церебеллярную атаксию и геластическую катаплексию. Другие неврологические нарушения – дизартрия, дистония, дисфагия, эпилептические припадки и нейросенсорная тугоухость – имеют более низкую специфичность и в дебюте заболевания встречаются реже [5, 8]. Основным методом диагностики является молекулярно-генетический анализ – прямая ДНК-диагностика мутаций генов *NPC1* и *NPC2*. В большинстве случаев требуется полное секвенирование гена *NPC1*, при отсутствии в нем мутаций проводится сиквенс гена *NPC2*. Большое диагностическое значение имеет филипиновый тест – окрашивание культуры фибробластов филипином – вызывает флуоресцентное свечение перинуклеарных скоплений неэстерифицированного холестерина.

КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ

Больная М., 15 лет, поступила в отделение для детей с поражением ЦНС, нарушением психики и опорно-двигательного аппарата Кемеровской областной клинической больницы с жалобами на нарушение глотания, речи, снижение памяти, неустойчивость внимания, тремор рук, пароксизмальные состояния в виде снижения мышечного тонуса с пропульсией, катаплексии. Из анамнеза жизни известно, что ребенок от первой беременности, протекавшей с хронической фетоплацентарной недостаточностью, хронической гипоксией плода, протеинурией, изосенсибилизацией по системе АВ0. Роды состоялись в 39 нед, самостоятельные. Вес при рождении 2 900 г, длина тела 51 см. Оценка по шкале Апгар 6–7 баллов. Наблюдалась неонатальная желтуха в течение 1 нед после рождения. Темпы психомоторного развития соответствовали возрастным нормам. На первом году жизни наблюдалась у невролога по поводу нарушений сна.

Анамнез заболевания. В возрасте семи лет родители начали отмечать снижение памяти у ребенка. С девяти лет появились пароксизмальные состояния в виде пропульсивных движений головы, впоследствии присоединились приступы мышечной атонии, позже – приступы падения. Пациентка наблюдалась у невролога с диагнозом «эпилепсия», получала антиэпилептическую терапию вальпроатами. Положительной динамики на фоне проводимой терапии не отмечено. Проведен видео-электроэнцефалографический (ЭЭГ) мониторинг сна, эпилептической активности не выявлено. Диагноз «эпилепсия» был снят, и в дальнейшем ребенок наблюдался с диагнозом «обсессивно-компульсивное расстройство». В возрасте 10–11 лет появилась и прогрессировала неловкость при ходьбе. В 11 лет при ультразвуковом исследовании (УЗИ) выявлено умеренное увеличение селезенки. Магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга в 2011 г. (в возрасте 12 лет) выявила асимметрию боковых желудочков. В связи с прогрессированием заболевания в круг дифференциальной диагностики включены наследственные болезни обмена. Исследование спектра аминокислот крови и скрининг-тестов мочи патологии не выявило. Хромосомная патология исключена методом кариотипирования (кариотип 46,XX). В возрасте 13 лет (2012 г.) обследована в НИИ медицинской генетики (г. Томск). Нарушений обмена жирных, органических кислот, аминокислот методом tandemной масс-спектрометрии не выявлено.

В связи с прогрессирующим снижением когнитивных функций проведена позитронно-эмиссионная томография головного мозга в Санкт-Петербургском научно-исследовательском психоневрологическом институте им. В.М. Бехтерева, отмечены множественные очаги гипометаболизма. В возрасте 15 лет (2014 г.) диагностирована деменция вследствие прогрессирующих дегенеративно-дистрофических процессов в лобно-височной области с поражением левого зрительного бугра, мозжечка и ствола мозга (высока вероятность синдрома Ниманна – Пика, тип С). В апреле 2014 г. ЭЭГ-мониторинг в течение 2 ч показал мультифокальную эпилептическую активность. При МРТ головного мозга выявлена заместительная гидроцефалия. Методом позитронно-эмиссионной томографии головного мозга с дезоксиглюкозой определен гипометаболизм глюкозы в медиальной коре лобных долей, конвекситальной коре лобной и височной долей левого полушария, левом зрительном бугре, в стволе и мозжечке. УЗИ органов брюшной полости выявило наличие добавочной доли селезенки. Содержание меди в сыворотке крови соответствовало норме. Наблюдались сонливость, ухудшение речи и чтения. В мае 2014 г. появились генерализованные тонико-клонические судороги во время дневного и ночного сна с частотой два раза в сутки. В июне 2014 г. появились аутомоторные пароксизмы в бодрствовании и во сне ежедневно, в связи с этим девочка была госпитализирована в отделение для детей с поражением ЦНС, нарушением психики и опорно-двигательного аппарата.

Неврологический статус. Глазные щели и зрачки симметричны. Выявлен вертикальный парез зра, слабость конвергенции. Реакции зрачков на свет и конвергенцию живые. Отмечены асимметрия носогубных складок $D < S$, девиация языка влево, дизартрия, дисфагия. Фокация не нарушена. Глоточный рефлекс живой. Тонус мышц равномерно снижен, силовых нарушений нет. Сухожильные и надкостничные рефлексy с верхних конечностей выражены умеренно, симметричны. Сухожильные рефлексy в ногах снижены, симметричны, патологические стопные рефлексy выявлены с двух сторон. Наблюдались неловкость моторики, легкая интенция при проведении пальценосовой пробы справа, адиадохокинез. Коленно-пяточная проба отрицательная. Девочка медлительна, лицо гипомимично, интеллект снижен. Катаплексия.

Стимуляционная электромиография (ЭМГ) мышц конечностей патологических измене-

ний не выявила. Ультразвуковое исследование брюшной полости показало увеличение размеров селезенки. Липидограмма: общий холестерин 3,7 ммоль/л; триглицериды 0,9 ммоль/л; липопротеиды высокой плотности 1,1 ммоль/л; липопротеиды низкой плотности 2,2 ммоль/л; коэффициент атерогенности 2,2. Биохимический анализ крови (билирубин, сахар, ионограмма и др.) патологических изменений не выявил. Сурдолог патологии слуха не отметил. Электроэнцефалографическое исследование выявило преобладание медленно-волновой активности в лобно-теменно-височных отделах. Эпилептиформная активность зарегистрирована в виде разрядов билатерально-синхронных комплексов «острая – медленная волна». Отмечены выраженные изменения биоэлектрической активности головного мозга. Проводилась противоэпилептическая терапия (вальпроаты с постепенным увеличением дозировки), метаболическая, ноотропная, гормональная терапия (метилпреднизолон). За время пребывания в отделении дневных эпилептических приступов не наблюдалось, ночные приступы стали более редкими (уменьшение на 50%).

Молекулярно-генетический анализ. Проведен полный анализ гена *NPC1*. Методом прямого секвенирования проанализированы следующие экзоны гена: 1–17, 18–22, 23, 24, 25. Выявлен полиморфный вариант в гомозиготном с.387T > C, с.1757 + 60G > A, с.1926C > G, с.2572A > G, с.2793C > T, с.2911 + 28T > C и гетерозиготном с.644A > G состоянии. Выявлены две мутации: в экзоне 20 (p.Pro1007Ala, с.3019C > G) в гетерозиготном состоянии и экзоне 3 (p.Cys74Tyr, с.221G > A) в гетерозиготном состоянии. Молекулярная диагностика родителей и брата пробанда выявила у брата и матери мутацию в экзоне 20 в гетерозиготном состоянии, у отца – в экзоне 3 в гетерозиготном состоянии. Все являются гетерозиготными носителями. Болезнь Ниманна – Пика, тип С, подтверждена молекулярно-генетическими методами.

На основании выявленной неврологической симптоматики в виде эпилептического синдрома, когнитивных нарушений, синдрома пирамидно-мозжечковой недостаточности, соматической патологии (спленомегалия), прогрессирующего течения заболевания, а также органического многоочагового поражения головного мозга, подтвержденного методами нейровизуализации, с учетом результатов молекулярно-генетического анализа, выставлен диагноз: дегенеративное заболевание нервной системы. Болезнь Ниманна – Пика, тип С, юношеская форма, экстрапирамид-

но-мозжечковый синдром. Симптоматическая эпилепсия, катаплексия, синдром когнитивных нарушений.

Пациент Е., девять лет, госпитализирован в отделение для детей с поражением ЦНС, нарушением психики и опорно-двигательного аппарата Кемеровской областной клинической больницы с жалобами на ежедневные миоклонии в левых конечностях, языке, губах, практически постоянные в течение 1 мес; приступы «замирания» с заведением глазных яблок вверх, периодически – с пропульсией, длительностью от секунд до нескольких минут, преимущественно во время еды; эпизоды эмоционального возбуждения; приступы при пробуждении в виде утраты сознания, миоклонии в мимических мышцах, тонико-клонических судорог длительностью 1–2 мин частотой 1–2 раза в неделю; нарушение глотания, жевания, отсутствие речи; отмечена выраженная задержка психомоторного развития (не сидит, не переворачивается), функции тазовых органов не контролирует.

Анамнез жизни. Ребенок от четвертой беременности, вторых родов, которым предшествовали два медицинских аборта. Беременность протекала на фоне хронического двустороннего аднексита. Отмечалась хроническая фетоплацентарная недостаточность, хроническая гипоксия плода, гестоз, многоводие. Роды кесаревым сечением в период 40–41 нед. Вес при рождении 3 700 г, длина тела 55 см. Оценка по шкале Апгар составляла 7 баллов. Темпы психомоторного развития на первом году жизни соответствовали норме. Голову держит с 1-го мес, сидит с 5-го

мес, ходит с 12-го мес. Простые слова говорит с первого года. Перенесенные заболевания: ветряная оспа, редкие острые респираторные вирусные инфекции, аденомотомия. Наследственность не отягощена.

Анамнез заболевания. С 2–3 лет отмечалась задержка речевого развития. В пять лет речь состояла из отдельных слов, простых фраз. В быту был организован, выполнял инструкции, тазовые функции контролировал. У невролога не наблюдался, лечение не получал. С трех лет появилась патологическая прибавка в весе, диагностировано ожирение 2-й степени. В возрасте четырех лет (январь 2011 г.) впервые возникли пароксизмы в виде внезапного смеха с утратой равновесия. В возрасте пяти лет выявлен реактивный гепатит (гепатомегалия), по поводу которого ребенок получал регулярные курсы гепатотропной терапии. По результатам видео-ЭЭГ-мониторинга в пять лет (ноябрь 2011 г.) выявлены умеренные изменения биоэлектрической активности головного мозга за счет диффузного продолженного замедления, медленных волн. Острые волны зарегистрированы в затылочных отделах. По данным ЭЭГ в 2011 и 2013 гг. выявлена эпилептическая активность в виде единичных комплексов «острая – медленная волна» в лобных отделах (рис. 1). При проведении мультиспиральной компьютерной томографии головного мозга в 2011 г. выявлена гидроцефалия открытого типа. В шесть лет (апрель 2012 г.) по результатам МРТ головного мозга отмечалась смешанная, преимущественно внутренняя, гидроцефалия (рис. 2).

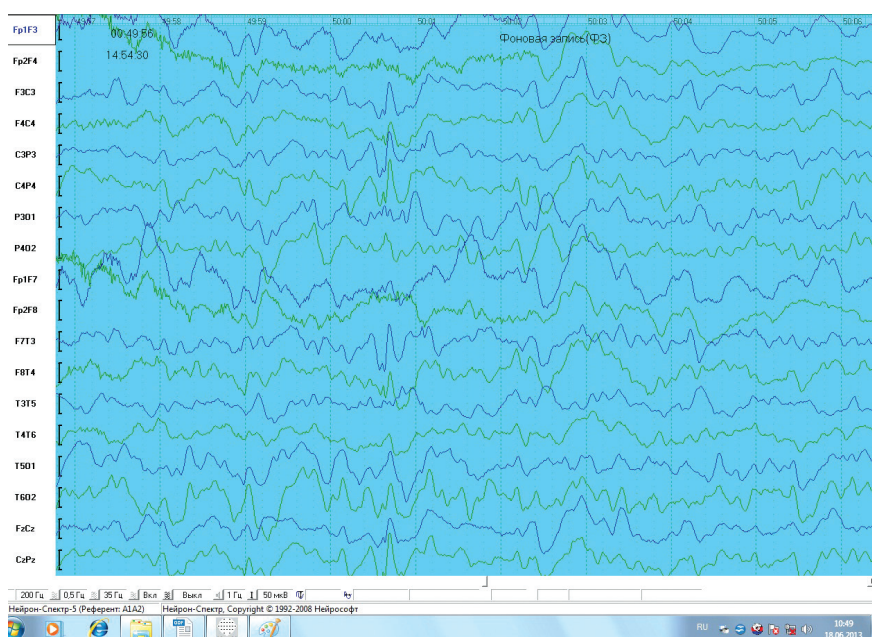


Рис. 1. Электроэнцефалограмма больного Е., семь лет (дата рождения 02.2006): изменения биоэлектрической активности головного мозга в виде диффузного замедления, асимметрии. Эпилептическая активность в виде единичных комплексов «острая – медленная волна» зарегистрирована в лобных отделах, больше слева

Fig. 1. Patient E., 7 years (date of birth 02.2006): changes in the bioelectrical activity of the brain in the form of diffuse deceleration, asymmetry. Epileptic activity in the form of single complexes, an acute slow wave is recorded in the frontal regions, greater on the left (electroencephalogram)

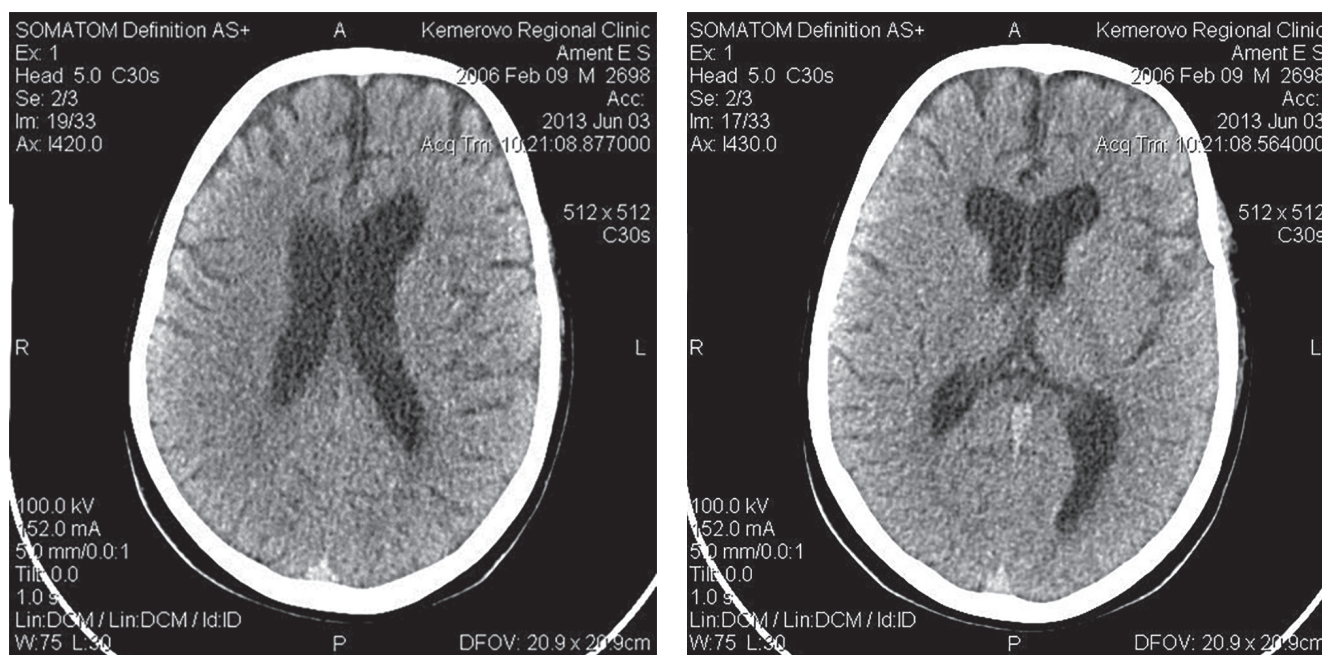


Рис. 2. МРТ головного мозга больного Е., семь лет: смешанная, преимущественно внутренняя открытая гидроцефалия (расширение боковых желудочков головного мозга (индекс их тел около 33%), третьего желудочка – до 8 мм)

Fig. 2. Patient E., 7 years old: mixed, predominantly internal open hydrocephalus, widening of the lateral ventricles of the brain (their body index – about 33%), the third ventricle – up to 8 mm (MRT)

С целью исключения генной патологии проведено исследование спектра аминокислот крови и скрининг-тестов мочи, патологии не выявлено. Хромосомная патология исключена методом кариотипирования (кариотип 46,XY). Молекулярно-генетический анализ на болезнь Ниманна – Пика А/В (июль 2013 г.) патологии не выявил. Психиатр диагностировал умеренную умственную отсталость (F71.9). В возрасте семи лет у ребенка появились приступы в виде утраты мышечного тонуса с внезапным падением, иногда связанные со смехом, с тоническими судорогами в руках и последующим криком. С января 2013 г. отмечено присоединение вторично-генерализованных приступов с развитием тождовского правостороннего гемипареза; приступы длительные, со склонностью к статусному течению. Противосудорожная терапия (финлепсин, макситопир) была малоэффективна. С февраля 2013 г. получал левитирацетам в течение 10 дней, на этом фоне участились бессудорожные атонические приступы, перестал контролировать тазовые функции. С апреля 2013 г. отмечались прогрессирующая утрата навыков, речи, ожирение; участились вторично-генерализованные тонико-клонические приступы с последующей атонией или гемипарезом справа; внезапные падения без утраты сознания, прово-

цируемые вертикализацией, эмоциями, до 20–30 раз в день.

Неврологический статус. Черепно-мозговая иннервация не нарушена. Мышечный тонус повышен по пластическому типу, сухожильные рефлексы высокие, в руках – без убедительной разницы, коленные рефлексы выше справа, клонус стопы справа. Пирамидные кистевые и стопные знаки выявлены с двух сторон. Сидит уверенно, ходит самостоятельно. Походка переваливающаяся, с легкой рекурвацией правой ноги. Словарный запас 5–6 слов, обращенную речь понимает плохо, инструкции не выполняет. Узнает маму. Не ориентирован в схеме тела, возрасте, не узнает животных. Тазовые функции не контролирует. Утрачены навыки самообслуживания: самостоятельно не ест, не одевается. Игровая деятельность примитивна: перебирает игрушки, грызет и бросает их. При осмотре выявлены оромандибулярные и кистевые стереотипии. Наблюдаются черты аутоагрессии. Биохимический анализ крови: билирубин общий 9,5 мкмоль/л; билирубин прямой 2,1 мкмоль/л; билирубин непрямой 7,4 мкмоль/л; аспартатаминотрансфераза 75 Е/л (норма 15–60 Ед/л); аланинаминотрансфераза 28 Е/л; ЛДГ 395 Е/л (норма 170–378 Е/л). Исследование ионограммы, содержания глюкозы в крови патологических изменений не выявило. При УЗИ брюшной поло-

сти (диффузные изменения паренхимы печени, гепатоспленомегалия), стимуляционной ЭМГ (признаки переднерогового, мышечного поражения), офтальмоскопии патологии не выявлено.

Молекулярно-генетический анализ. Проведен полный анализ гена *NPC1*. Методом прямого секвенирования проанализированы следующие экзоны гена: 1–17, 18–22, 23, 24, 25. Выявлены полиморфные варианты в гомозиготном состоянии с.387T > C, с.644A > G, с.1757 + 60G > A, с.1926: C > G, с.2572A > G. Выявлены две мутации в компаунд-гетерозиготном состоянии, описанные в базе данных NGMD: мутация с. 3019C > G (p.Pro1007Ala) и мутация с.2728G > A (p.Gly910Ser).

Энзимодиагностика: бета-D-галактозидаза 197,9 нм/мг/ч (норма 98,3–323,9 нм/мг/ч), сфингомиелиназа 1,5 нм/мг/ч (норма 0,56–3,24 нм/мг/ч). Болезнь Ниманна – Пика, тип A/B, исключена.

Лечение включало: депакин хроносфера 1 000 мг/сут, топамакс 50 мг/сут, преднизолон 1 мг/кг/сут. На фоне лечения продолжалось прогрессирование когнитивных и экстрапирамидных нарушений.

На основании неврологической симптоматики в виде эпилептического синдрома, когнитивных нарушений, спастического тетрапареза, синдрома экстрапирамидной недостаточности, соматической патологии (гепатоспленомегалия), прогрессирующего течения заболевания, а также органического поражения головного мозга, подтвержденного методами нейровизуализации, с учетом результатов молекулярно-генетического анализа, поставлен диагноз: дегенеративное заболевание ЦНС. Болезнь Ниманна – Пика, тип C, поздняя младенческая форма, эпилептический синдром в виде частых пропульсивных и вторично-генерализованных судорожных приступов, фармакорезистентный; синдром экстрапирамидных нарушений; спастический тетрапарез тяжелой степени с формированием контрактур голеностопных и лучезапястных суставов; тотальная апраксия, дисфагия; синдром когнитивных нарушений.

После подтверждения диагноза «болезнь Ниманна – Пика, тип C» обоим больным была начата субстрат-редуцирующая терапия препаратом завеска (миглустат), ингибирующим глюкозилцерамидсинтазу и способствующим снижению накопления ганглиозидов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диагностика болезни Ниманна – Пика, тип C, особенно на стадии начальных проявлений существенно затруднена. Сложность диагностики

обусловлена полиморфизмом клинических проявлений, вариабельностью возраста манифестации, редкостью заболевания в популяции, а также отсутствием простого диагностического теста для массового скрининга. При юношеской и поздней младенческой форме болезни Ниманна – Пика, тип C, выявляется изолированная гепатоспленомегалия. Неврологическая симптоматика проявляется постепенным снижением когнитивных функций, геластической катаплексией, эпилептическими приступами, экстрапирамидными нарушениями. Позже развивается офтальмопарез. Уточнение диагноза в представленных случаях происходило в течение 4–7 лет и стало возможным лишь при применении ДНК-диагностики мутаций генов *NPC1* и *NPC2*. Продолжительная диагностика болезни Ниманна – Пика, тип C, замедляет последующий процесс коррекции состояния больных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии источников финансирования при проведении исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Barranger J.A., Cabrera-Salazar M.A. Lysosomal Storage Disorders. New York: Springer, 2007: 562.
2. Yanjanin N. et al. Linear clinical progression, independent of age of onset, in Niemann–Pick disease, type C // *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*. 2010; 153 (1): 132–140.
3. Vanier M.T. Niemann–Pick disease type C // *Orphanet J. Rare Dis*. 2010; 5: 16. Orphanet Report Series – Prevalence of rare diseases: Bibliographic data – November 2011. Number 1 // www.orpha.net.]
4. Mengel E. et al. Niemann–Pick disease type C symptomatology: an expert-based clinical description // *Orphanet J. Rare Dis*. 2013; 8: 166.
5. Михайлова С.В., Захарова Е.Ю. Болезнь Ниманна – Пика, тип C // М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014: 48.
6. Ключников С.А. Алгоритмы диагностики болезни Ниманна – Пика, тип C // *Нервные болезни*. 2012; 3: 8–12.
7. Новиков П.В. Болезнь Ниманна – Пика типа C: диагностика, динамическое наблюдение и лечение больных в России // *Эффективная фармакотерапия. Педиатрия*. 2013; 4 (42): 64–71.
8. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению болезни Ниманна – Пика, тип C // М., 2013: 35.

Поступила в редакцию 16.11.2016

Утверждена к печати 30.06.2017

Федосеева Ирина Фаисовна, канд. мед. наук, доцент, кафедра неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики, КемГМУ, г. Кемерово.

Попонникова Татьяна Владимировна, д-р мед. наук, профессор, кафедра неврологии, нейрохирургии и медицинской генетики, КемГМУ, г. Кемерово.

Галиева Галина Юрьевна, канд. мед. наук, зав. отделением для детей с поражением ЦНС, нарушением психики и опорно-двигательного аппарата, Кемеровская областная клиническая больница, г. Кемерово.

Илясова Ольга Викторовна, врач-невролог, Кемеровская областная клиническая больница, г. Кемерово.

(✉) Федосеева Ирина Фаисовна, e-mail: irenfl@yandex.ru

УДК 616-008.9-056.7

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-210-217

For citation: Fedoseeva I.F., Poponnikova T.V., Galieva G.Yu., Ilyasova O.V. Clinical observations of late infantile and juvenile forms of Niemann – Pick disease type C. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 210–217

Clinical observations of late infantile and juvenile forms of Niemann – Pick disease type C

Fedoseeva I.F.¹, Poponnikova T.V.¹, Galieva G.Yu.², Ilyasova O.V.²

¹ Kemerovo State Medical University
22a, Voroshilov Str., Kemerovo, 650029, Russian Federation

² Kemerovo Regional Clinical Hospital
22a, Oktyabrskiy Av., Kemerovo, 650000, Russian Federation

ABSTRACT

A clinical description and analysis of cases of Niemann – Pick disease type C in two children are presented. The difficulty of the diagnosis is due to the polymorphism of clinical manifestations, variability in the age of manifestation, rarity of the disease in the population, and the lack of a simple diagnostic test for mass screening. Isolated hepatosplenomegaly was revealed in the juvenile and late infantile form of Niemann-Pick disease type C. Neurological symptoms are manifested by a gradual decrease in cognitive function, gelastic cataplexy, epileptic seizures, and extrapyramidal disorders. The possibility of clarifying the diagnosis in the presented cases occurs from ages 4 – 7 due to the DNA diagnosis of NPC1 and NPC2 gene mutations.

Key words: Niemann – Pick disease, type C, children, epileptic seizures, hepatosplenomegaly.

REFERENCES

1. Barranger J.A., Cabrera-Salazar M.A. Lysosomal Storage Disorders. New York: Springer, 2007: 562.
2. Yanjanin N. et al. Linear clinical progression, independent of age of onset, in Niemann – Pick disease, type C // *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*. 2010; 153 (1): 132–140.
3. Vanier M.T. Niemann – Pick disease type C // *Orphanet J. Rare Dis*. 2010; 5: 16. Orphanet Report Series – Prevalence of rare diseases: Bibliographic data – November 2011. Number 1 // www.orphanet.net]
4. Mengel E. et al. Niemann – Pick disease type C symptomatology: an expert-based clinical description // *Orphanet J. Rare Dis*. 2013; 8: 166.
5. Mikhailova S.V., Zakharova E.Yu. Bolezn Nimanna – Pika, tip C [Niemann – Pick disease type C]. M.: GEOTAR-Media Publ., 2014: 48 (in Russian).
6. Klyushnikov S.A. Algoritmi diagnostiki bolezni Nimanna – Pika, tip C [Algorithms for diagnosis of Niemann – Pick disease type C] // *Nervnie bolezni – The Nervous Disease*. 2012; 3: 8–12 (in Russian).
7. Novikov P.V. Bolezn Nimanna – Pika, tip C: diagnostika, dinamicheskoe nabludenie i lechenie bolnich v Rossii

[Niemann – Pick disease type C: diagnostics, dynamic observation and treatment of patients in Russia] // *Effektivnaya farmakoterapiya. Peditria – Effective Pharmacotherapy. Pediatrics*. 2013; 4 (42): 64–71 (in Russian).

8. Federalnie klinicheskie rekomendacii po diagnostike i lecheniyu bolezni Nimanna – Pika tip C [Federal clinical guidelines for diagnosis and treatment of Niemann – Pick disease type C]. Moscow, 2013: 35 (in Russian).

Received November 16.2016

Accepted June 30.2017

Fedoseeva Irina F., PhD, Associate Professor, Department of Neurology, Neurosurgery and Medical Genetics, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation.

Poponnikova Tatyana V., DM, Professor, Department of Neurology, Neurosurgery and Medical Genetics, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation.

Galieva Galina Yu., PhD, Head of the Department for Children with CNS Disease, Mental and Musculoskeletal System, Kemerovo Regional Clinical Hospital, Kemerovo, Russian Federation.

Ilyasova Olga V., Doctor Neurologist, Kemerovo Regional Clinical Hospital, Kemerovo, Russian Federation.

(✉) **Fedoseeva Irina F.**, e-mail: irenfl@yandex.ru

УДК 616.831.71-091.93-039:616.65-006.66

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-218–223

Для цитирования: Королёва Е.С., Алифирова В.М., Рязанцева А.А., Кощавцева Ю.И. Паранеопластическая мозжечковая дегенерация у пациента с антителами anti-Yo и аденокарциномой простаты. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 218–223

Паранеопластическая мозжечковая дегенерация у пациента с антителами anti-Yo и аденокарциномой простаты

Королёва Е.С., Алифирова В.М., Рязанцева А.А., Кощавцева Ю.И.

Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)
Россия, 634050, г. Томск, Московский тр., 2

РЕЗЮМЕ

Паранеопластическая мозжечковая дегенерация представляет собой поражение клеток Пуркинье мозжечка антителами anti-Yo, синтезируемыми иммунной системой в ответ на выработку нейрональных белков злокачественными клетками аденокарциномы простаты в 25% случаев. Неврологические симптомы поражения мозжечка опережают манифестацию рака в среднем на два года у 70% пациентов. Уже на ранних стадиях заболевания, когда опухоль еще не визуализируется и клинически себя не проявляет, отмечается высокий титр антител anti-Yo в спинномозговой жидкости больных.

У 90–98% больных с мозжечковой атаксией и наличием антител anti-Yo обнаруживают рак простаты с клинически скрытым течением. Онконейральные аутоантитела класса IgG хорошо детектируются в сыворотке крови методами иммуноблоттинга и непрямой иммунофлуоресценции. Гибель клеток Пуркинье зернистого и молекулярного слоев коры мозжечка, умеренная периваскулярная лимфоцитарная инфильтрация, дальнейшая пролиферация микроглии приводят к атрофии. Воспалительные инфильтраты могут также быть в стволе и коре головного мозга, хотя их значительно меньше, чем в мозжечке. Этим объясняется наличие дополнительных неврологических симптомов. Результаты томографии головного мозга на начальных стадиях паранеопластической мозжечковой дегенерации мало информативны и только через несколько месяцев по мере нарастания неврологического дефицита обнаруживаются дегенеративные изменения мозжечка. Удаление злокачественной опухоли приводит к регрессу неврологической симптоматики в 80% случаев. Это свидетельствует о целесообразности проведения направленного онкологического поиска у пациентов с симптомами паранеопластической мозжечковой дегенерации и обнаруженными в крови онконейральными антителами. Иммуномодулирующая терапия, включающая применение внутривенных иммуноглобулинов, плазмафереза, гормонотерапии, также эффективна в лечении неврологических нарушений.

В статье описан клинический случай паранеопластической мозжечковой дегенерации у мужчины 65 лет с возникновением неврологических симптомов за 5 мес до диагностики аденокарциномы простаты. Обсуждены трудности дифференциальной диагностики неврологического расстройства и течение неврологического заболевания на фоне удаления опухоли и проводимой иммунотерапии.

Ключевые слова: паранеопластическая мозжечковая дегенерация, аденокарцинома простаты, онко-нейральные антитела anti-Yo.

ВВЕДЕНИЕ

Паранеопластическая мозжечковая дегенерация (ПМД), также известная как подострая мозжечковая атаксия, является наиболее распространенным паранеопластическим заболеванием головного мозга. Она характеризуется тяжелой мозжечковой дисфункцией, начинающейся, как правило, с атаксии, прогрессирующей в течение нескольких недель или месяцев, до потери способности свободно передвигаться. Часто сопровождается дизартрией, саккадическим взглядом и нистагмом. В структуре паранеопластического неврологического синдрома частота встречаемости ПМД составляет около 30%, при аденокарциноме простаты и раке молочной железы – 25%, при раке яичников и мелкоклеточной карциноме легкого – 50% [1].

Впервые подострую дегенерацию мозжечка при раке яичников описал В. Brouwer в 1919 г. Патогенез ПМД обусловлен потерей клеток Пуркинье и наличием в сыворотке крови и цереброспинальной жидкости пациентов высоко специфичных онконейвальных антител. Экспрессированные на поверхности раковых клеток перекрестные антигены, идентичные белкам клеток Пуркинье, запускают аутоиммунный ответ с выработкой антител против клеток мозжечка. Согласно литературным данным, при ПМД обнаруживают следующие онконейвальные антитела, появляющиеся в сыворотке крови пациентов в среднем за два года до диагностики рака и вызывающие дебют неврологических симптомов: anti-CV2/CRMP5, anti-Hu, anti-Yo, anti-amphiphysin, anti-mGluR, anti-VGCC, atypical anti-neuronal, anti-NA [2, 3].

У 90–98% пациентов с мозжечковой атаксией и наличием антител anti-Yo обнаруживают рак простаты. Антитела anti-Yo – это цитоплазматические антитела к тканеспецифичному белку с молекулярной массой 52 кДа, содержащему домен helix-leucine zipper фактора с-мус транскрипции в N-конце, который является нормальным ДНК-связывающим белком цитоплазмы клеток Пуркинье мозжечка. Назван К. Peterson в 1992 г. Yo-антигеном. В своих исследованиях Е. Dropcho (1987), Н. Fathallah-Shaykh (1991), К. Sakai (1990) идентифицировали три типа антигенов ПМД: cdr 34, cdr 62-1 и cdr 62-2. Анализ РНК, проведенный J. Corradi в 1997 г., показал, что только cerebellar degeneration related protein 2 (cdr 62-2) был транскрибирован у человека с ПМД. Иммунопреципитация *in vitro* подтвердила, что cdr 62-2 и с-мус взаимодействуют друг

с другом и локализуются в цитоплазме клеток Пуркинье. Функционально cdr 62-2 действует как блокатор транскрипционной активности регуляторного генома с-мус. Антитела anti-Yo направлены на разрушение в клетках Пуркинье соединения cdr 62-2/с-мус, что приводит к избыточной активности с-мус, которая может вызывать апоптоз в делящихся клетках. Недавние исследования позволяют предположить, что дизрегуляция гомеостаза кальция антителами anti-Yo и увеличение его внутриклеточного уровня может быть первоначальным механизмом гибели клеток Пуркинье [4].

Клинические симптомы ПМД развиваются подостро. Головокружение, сопровождающееся тошнотой и рвотой, неустойчивость при ходьбе в течение в среднем 6 мес перерастают в мозжечковую атаксию. Характерными неврологическими симптомами являются также диплопия, нистагм, дискоординация взгляда, дизартрия, орофарингеальная дисфагия. Течение болезни хроническое прогрессирующее. Таким образом, гибель клеток Пуркинье зернистого и молекулярного слоев коры мозжечка, умеренная периваскулярная лимфоцитарная инфильтрация, дальнейшая пролиферация микроглии приводят к атрофии, нарастанию неврологического дефицита и глубокой инвалидации пациентов. Воспалительные инфильтраты могут также быть в стволе и коре головного мозга, хотя их значительно меньше, чем в мозжечке [5].

На начальных стадиях заболевания неврологические расстройства могут носить односторонний, преходящий характер и регрессировать в течение нескольких часов, что вызывает трудности дифференциальной диагностики ПМД с транзиторной ишемической атакой. Кроме того, головокружение часто интерпретируется как периферический вестибулярный синдром. Результаты томографии головного мозга на начальных стадиях паранеопластической мозжечковой дегенерации диагностически неинформативны, и только через несколько месяцев по мере нарастания неврологического дефицита обнаруживаются дегенеративные изменения мозжечка. У 20% пациентов отмечается мозжечковый когнитивно-аффективный синдром, обусловленный поражением корково-мосто-мозжечкового и оливо-мосто-мозжечкового трактов, представляющих более 50% всех нейронов мозга, а также мозжечково-таламо-корковых путей, мозжечково-ретикулярной, мозжечково-гипоталамической и мозжечково-лимбической систем [6].

Удаление злокачественной опухоли приводит к регрессу неврологической симптоматики в 80%

случаев. Это свидетельствует о целесообразности проведения направленного онкологического поиска у пациентов с симптомами паранеопластической мозжечковой дегенерацией и обнаруженными в крови онконейвральными антителами. Иммуномодулирующая терапия, включающая применение внутривенных иммуноглобулинов, плазмафереза, гормонотерапии, также эффективна в лечении неврологических нарушений [2]. Учитывая все вышесказанное, представляется интересным описание клинического случая антителоопозитивной ПМД у пациента с аденокарциномой простаты.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Больной М., 65 лет, впервые обратился к неврологу в декабре 2014 г. с жалобами на выраженную общую мышечную слабость, быструю утомляемость, шаткость при ходьбе. Был поставлен диагноз: миастения. Генерализованная форма. Назначено лечение: калимин и преднизолон.

В марте 2015 г. было обнаружено злокачественное новообразование простаты. Поставлен диагноз: рак предстательной железы III степени (T3N0M0). Гистологический анализ образца предстательной железы выявил аденокарциному. Лечился амбулаторно в НИИ онкологии (г. Томск), получал курсы химиотерапии препаратами касодекс, золадекс.

Рентгенография органов грудной клетки от 26.06.2015 г.: без патологии.

Утром 30.06.2015 г. на фоне высокого артериального давления (АД) (180/120 мм рт. ст.) у пациента остро возникли головная боль распирающего характера в затылочной области; головокружение системного характера; тошнота и рвота на пике головной боли; шаткость при ходьбе; двоение. В порядке скорой помощи обратился в Областную клиническую больницу (г. Томск) с подозрением на инсульт. Компьютерная томография (КТ) головного мозга от 30.06.2015 г.: умеренная заместительная гидроцефалия, данных за острое нарушение мозгового кровообращения нет.

В неврологическом статусе отклонения от нормы: походка атактическая; диплопия при взгляде вправо и вверх; нистагм горизонтальный при взгляде вправо, вертикальный при взгляде вверх; интенция с двух сторон при выполнении пальце-носовой пробы, атаксия в ногах с двух сторон при выполнении пяточно-коленной пробы; адиадохокинез в обеих руках, асинергия Бабинского. Через 8 ч состояние пациента улучшилось. Неврологические симптомы регрессировали почти полностью. Пациент был госпитализирован в дежурный неврологический стационар с диагнозом:

транзиторная ишемическая атака в вертебро-базиллярном бассейне. Фон: гипертоническая болезнь II стадии, артериальная гипертензия I степени, риск 4. Дислипидемия. Ожирение I степени.

В апреле 2016 г. проведены радикальная простатэктомия с адьювантной лучевой и гормонотерапией. После операции у пациента неврологическая симптоматика быстро прогрессировала. В порядке самообращения поступил в неврологическую клинику СибГМУ с диагнозом «генерализованная миастения, периферический умеренно выраженный тетрапарез с нарушением функции ходьбы, кризовое течение». Находился на лечении в период 19–29.09.2016 г. *Жалобы пациента при поступлении в стационар*: двоение, поперхивание при приеме твердой пищи, осиплость голоса, нарушение речи (трудно выговаривать слова), шаткость при ходьбе, изменение почерка (стал более крупным и размашистым); общая слабость; быстрая утомляемость. Сидеть прямо или ходить без посторонней помощи не мог.

Анамнез жизни. Родился в Красноярском крае, первым ребенком из четырех. Рос и развивался соответственно возрасту. Детские инфекции: не помнит. В школу пошел в семь лет, закончил 10 классов, затем Красноярский политехнический институт по специальности «инженер по эксплуатации и ремонту автотранспорта». В 1973–1975 гг. служил в армии. Работал по специальности 20 лет. В настоящее время работает в строительной компании заместителем директора. Ранее на диспансерном учете у невролога и онколога не состоял. Анамнез со стороны онкологических и нервно-психических заболеваний неотягощен. Вредные привычки отрицает.

Соматический статус. Нормостенического телосложения. Кожные покровы чистые, язык влажный, обложен белым налетом, видимые слизистые чистые. АД 130/80 мм рт. ст. Дыхание везикулярное, хрипы при аускультации не выслушиваются. Частота дыхательных движений 16 в минуту. Сердечный ритм правильный, ритмичный. Частота сердечных сокращений 70 в минуту. Пульс 70 в минуту. Живот мягкий безболезненный. Стул и диурез в норме.

Неврологический статус при поступлении. Походка атактическая. Объем движений глазных яблок полный. Глазные щели D = S. Зрачки округлой формы, D = S. Фотореакции живые. Конвергенция ослаблена. Носогубные складки равные, диплопии нет. Нистагм: горизонтальный – при взгляде вправо, вертикальный – при взгляде вверх. Мягкое небо фонировано хорошо. Глоточный рефлекс живой. Легкая дизартрия.

Рефлексы орального автоматизма: хоботковый. Объем движений в руках и ногах полный. Сила мышц верхних и нижних конечностей 5 баллов по всем мышечным группам. Диффузная мышечная гипотония. Сухожильные рефлексы верхних конечностей живые, равные. Коленные и ахилловы рефлексы низкие с двух сторон. Патологические кистевые и стопные знаки не обнаружены. Брюшные рефлексы отсутствуют. Чувствительных нарушений не выявлено. При выполнении пальце-носовой пробы – интенция с двух сторон, пяточно-коленной – атаксия с двух сторон. Адиadoхокинез. Асинергия Бабинского. Менингеальных знаков нет. Симптомов натяжения нет. Нарушение функции тазовых органов нет.

Данные дополнительных обследований. Общий и биохимический анализы крови, общий анализ мочи – без патологии. Электрокардиограмма – без выраженных изменений.

Магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга от 21.09.2016 г.: гипоплазия гемисфер мозжечка. Рентгенография органов грудной клетки от 29.09.2015 г.: воспалительной инфильтрации, очаговых теней нет.

С целью дифференциальной диагностики миастенического синдрома Ламберта –Итона пациенту была проведена электронейромиография от 22.09.2016 г.: декремент амплитуды М-ответа в норме, посттетанического истощения не выявлено. Для дифференциальной диагностики паранеопластического неврологического синдрома проведено исследование сыворотки крови на наличие онконевральных антител. Качественным методом иммуноблоттинга с помощью тест-полосок *in vitro* обнаружены антитела anti-Yo (рис.).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данное клиническое наблюдение наглядно показывает трудности диагностики паранеопластического неврологического синдрома на доклинической стадии опухолевого процесса. Дебют неврологического расстройства опережал диагностику рака на 5 мес. Это свидетельствует о важности грамотной тактики диагностического поиска. Выявленные у пациента клинические симптомы (мозжечковая атаксия, дизартрия и орофарингеальная дисфагия) коррелируют с дегенеративными изменениями коры мозжечка на МРТ. Согласно литературным данным, антитела anti-Yo ассоциированы с раком простаты и чаще других поражают клетки Пуркинью мозжечка. Поэтому обнаруженные в сыворотке крови данного больного позволяют верифицировать неврологический диагноз как паранеопластическую мозжечковую дегенерацию.

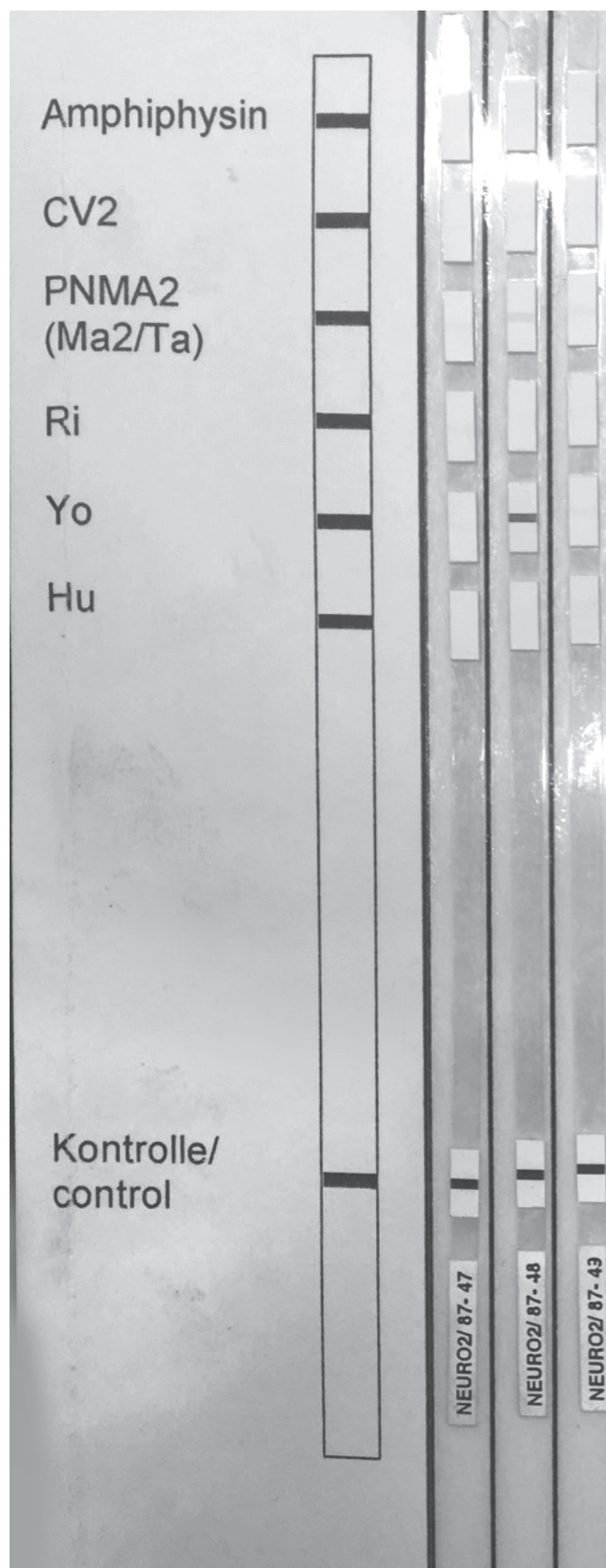


Рисунок. Диагностические тест-полоски с детектированными антителами anti-Yo у пациента с аденокарциномой простаты

Fig. Diagnostic test of the band with detected anti-Yo antibodies in a patient with prostate adenocarcinoma

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии источников финансирования при проведении исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hong M.K., Kong J., Namdarian B., Longano A., Grummet J., Hovens C.M., Costello A.J., Corcoran N.M. Paraneoplastic syndromes in prostate cancer // *Nature Reviews Urology*. 2010; 7 (12): 681–692. DOI: 10.1038/nrurol.2010.186.
2. Leypoldt F., Wandinger K.-P. Paraneoplastic neurological syndromes // *Clinical & experimental immunology*. 2014; 175 (3): 336–348. DOI: 10.1111/cei.12185.
3. Королева Е.С., Гольдберг В.Е., Алифирова В.М., Симолина Е.И. Роль онконевральных антител паранеопластической полиневропатии в ранней диагностике рака // *Сибирский онкологический журнал*. 2013; 1: 28–31.
4. Greenlee J.E., Clawson S.A., Hill K.E., Dechet C.B., Carlson N.G. Antineuronal autoantibodies in paraneoplastic cerebellar degeneration associated with adenocarcinoma of the prostate // *Journal of the Neurological Sciences*. 2010; 291 (1–2): 74–78. DOI: 10.1016/j.jns.2009.12.019
5. Anand Venkatraman, Puneet Opal. Paraneoplastic cerebellar degeneration with anti-Yo antibodies – a review // *Annals of Clinical and Translational Neurology*. 2016; 3 (8): 655–663. DOI: 10.1002/acn3.328.
6. Masangkay Neil, Basu Sandip, Moghbel Mateen, Kwee Thomas, Alavi Abass. Brain 18F-FDG-PET characteristics in patients with paraneoplastic neurological syndrome and its correlation with clinical and MRI findings // *Nuclear Medicine Communications*. 2014; 35 (10): 1038–1046. DOI: 10.1097/MNM.000000000000163.

Поступила в редакцию 03.02.2017

Утверждена к печати 30.06.2017

Королёва Екатерина Сергеевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск.
Алифирова Валентина Михайловна, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой неврологии и нейрохирургии, СибГМУ, г. Томск.

Рязанцева Анастасия Александровна, канд. мед. наук, врач-невролог неврологической клиники, СибГМУ, г. Томск.
Кошавцева Юлия Игоревна, студент 4-го курса, СибГМУ, г. Томск.

(✉) Королёва Екатерина Сергеевна, e-mail: kattorina@list.ru

УДК 616.831.71-091.93-039:616.65-006.66

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-218–223

For citation: Koroleva E.S., Alifirova V.M., Ryazantseva A.A., Koshavtseva Yu.I. Paraneoplastic cerebellar degeneration in a patient with anti-Yo antibodies and prostate adenocarcinoma. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 218–223

Paraneoplastic cerebellar degeneration in a patient with anti-Yo antibodies and prostate adenocarcinoma

Koroleva E.S., Alifirova V.M., Ryazantseva A.A., Koshavtseva Yu.I.

Siberian State Medical University
2, Moskow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

Paraneoplastic cerebellar degeneration is the damage to cerebellar Purkinje cells by anti-Yo antibodies synthesized by the immune system in response to the generation of neuronal proteins by malignant prostate adenocarcinoma cells in 25% of cases. Neurological symptoms of cerebellar lesions appear on average 2 years before cancer manifestation in 70% of patients. During the early stages of the disease, when the tumor cannot be visualized nor clinically manifested, a high titer of anti-Yo antibodies in the cerebrospinal fluid of patients. The presence of anti-Yo antibodies prostate cancer with a clinically latent course was present in 90–98% of patients with cerebellar ataxia. Onconeural autoantibodies (IgG) are well detected in serum by immunoblotting and indirect immunofluorescence.

The death of Purkinje cells of the granular and molecular layers of the cerebellar cortex, moderate perivascular lymphocytic infiltration, and further proliferation of microglia lead to atrophy. Inflammatory infiltrates may also be present in the brainstem and cortex, although in significantly less number in compar the cerebellum. This difference accounts for the presence of additional neurological symptoms. The results of the brain MR imaging at the initial stages of paraneoplastic cerebellar degeneration are of little informative value, and degenerative changes in the cerebellum are revealed only a few months later with a subsequent increase in neurological deficit. Removal of malignant tumors leads to the regression of neurological symptoms in 80% of cases. This finding confirms the advisability of a targeted oncological search in patients with symptoms of paraneoplastic cerebellar degeneration and positive onconeural antibodies in the serum. Immunomodulatory therapy, including the use of intravenous immunoglobulin, plasmapheresis, and hormone therapy, is also effective in the treatment of neurological disorders. This paper describes a clinical case of paraneoplastic cerebellar degeneration in a 65-year-old male, with the appearance of neurological symptoms 5 months before the diagnosis of prostate adenocarcinoma. The difficulties of differential diagnosis of this neurological disorder and the course of neurological diseases in the background of tumor removal and conducted immunotherapy are discussed.

Key words: paraneoplastic cerebellar degeneration, prostate adenocarcinoma, onconeural anti-Yo antibodies.

REFERENCES

1. Hong M.K., Kong J., Namdarian B., Longano A., Grummet J., Hovens C.M., Costello A.J., Corcoran N.M. Paraneoplastic syndromes in prostate cancer // *Nature Reviews Urology*. 2010; 7 (12): 681–692. DOI: 10.1038/nrrol.2010.186.
2. Leypoldt F., Wandinger K.-P. Paraneoplastic neurological syndromes // *Clinical & experimental immunology*. 2014; 175 (3): 336–348. DOI: 10.1111/cei.12185.
3. Koroleva E.S., Goldberg V.E., Alifirova V.M., Simolina E.I. Rol' onkoneural'nykh antitel paraneoplasticheskoy polinevropatii v ranney diagnostike raka [Role of onconeural antibodies of paraneoplastic polyneuropathy in early cancer detection] // *Sibirskiy onkologicheskii zhurnal – Siberian Journal of Oncology*. 2013; 1: 28–31 (in Russian).
4. Greenlee J.E., Clawson S.A., Hill K.E., Dechet C.B., Carlson N.G. Antineuronal autoantibodies in paraneoplastic cerebellar degeneration associated with adenocarcinoma of the prostate // *Journal of the Neurological Sciences*. 2010; 291 (1–2): 74–78. DOI: 10.1016/j.jns.2009.12.019
5. Anand Venkatraman, Puneet Opal. Paraneoplastic cerebellar degeneration with anti-Yo antibodies – a review // *Annals of Clinical and Translational Neurology*. 2016; 3 (8): 655–663. DOI: 10.1002/acn3.328.
6. Masangkay Neil, Basu Sandip, Moghbel Mateen, Kwee Thomas, Alavi Abass. Brain 18F-FDG-PET characteristics in patients with paraneoplastic neurological syndrome and its correlation with clinical and MRI findings // *Nuclear Medicine Communications*. 2014; 35 (10): 1038–1046. DOI: 10.1097/MNM.0000000000000163.

Received February 03.2017

Accepted June 30.2017

Koroleva Ekaterina S., PhD, Associate Professor, Department of Neurology and Neurosurgery, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Alifirova Valentina M., DM, Professor, Head of the Department of Neurology and Neurosurgery, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Ryazantseva Anastasia A., PhD, Doctor Neurologist of the Neurological Clinic, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

Koshavtseva Yulia I., Student of the 4 courses, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

(✉) **Koroleva Ekaterina S.**, e-mail: kattarina@list.ru.

УДК 616.72-002.2-022-053.2-073.7

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-224-234

Для цитирования: Кожевников А.Н., Поздеева Н.А., Конев М.А., Маричева О.Н., Афоничев К.А., Новик Г.А. Рентгенодиагностика хронического олигоартрита у детей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (3): 224–234

Рентгенодиагностика хронического олигоартрита у детей

Кожевников А.Н.^{1,2}, Поздеева Н.А.¹, Конев М.А.¹, Маричева О.Н.¹, Афоничев К.А.¹, Новик Г.А.²¹ Научно-исследовательский детский ортопедический институт (НИДОИ) имени Г.И. Турнера Россия, 196603, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, ул. Парковая, 64–68.² Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет (СПбГПМУ) Россия, 194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2

РЕЗЮМЕ

Несмотря на совершенствование клинико-иммунологических и инструментальных методов обследования, диагностика ювенильного артрита продолжает оставаться серьезной проблемой детской ревматологии. Клиническая гетерогенность, неспецифичность инструментальной картины и ограниченность применения некоторых методик обследования определяют сложность вопросов диагностики суставной патологии детского возраста. Хронический олигоартрит у детей представляет собой особую сложность в связи с нередким малозаметным началом и отсутствием жалоб у ребенка, что может приводить к позднему выявлению заболевания, высокому риску ранней инвалидизации.

В данной статье обозначена проблема диагностики артропатий детского возраста применительно к информативности, практичности и клинической значимости основных инструментальных методов визуализации хронического артрита. Ключевое внимание уделено частным проблемам рентгенодиагностики ювенильного олигоартрита, затронуты вопросы трактовки магнитно-резонансной томографии. Целью данной статьи является систематизирование и расширение представлений педиатров и врачей-ревматологов о значимости методов рентгенографии в структуре диагностики суставной патологии у детей.

Ключевые слова: ювенильный олигоартрит, хронический синовит, рентгеновская диагностика, МР-томография.

Проблемы семиотики суставной патологии у детей хорошо известны врачам различных специальностей, сложность вопроса диагностики которых заключается не только в необходимости динамической оценки, но и в сопоставлении клинической, инструментальной и лабораторной картин, нередко с отсутствием значимости параллелизма между ними. Анатомо-физиологические особенности опорно-двигательного аппарата детского возраста, характер течения заболевания, а также высокая частота встречаемости нетипичных случаев демонстрируют необходимость тщательного подхода в вопросах диагностики ювенильных артропатий.

Термин «ювенильный артрит» (ЮА) охватывает группу первично-хронических болезней суставов у детей неизвестной этиологии, в основе которых лежит идиопатический воспалительный процесс синовиальной оболочки (внутренний слой капсулы сустава), и характеризуется однотипными структурными, морфологическими и функциональными изменениями костно-суставной системы [1, 2]. Гетерогенность ювенильного артрита определяется разнообразием клинических форм артритов, объединенных между собой в подгруппы на основании характера течения и исхода заболевания. Артроз является одним из вариантов естественного неблагоприятного исхода ревматоидного артрита у детей [3–5].

✉ Кожевников Алексей Николаевич, e-mail: Infant_doc@mail.ru.

Хронический олигоартрит у детей – нередкая форма суставной патологии, на долю которого приходится не менее 60% от общего числа случаев ювенильного артрита. Согласно современным критериям (ILAR 1997; 2001; the Edmonton revision 2004), ювенильный олигоартрит – это фиксированный артрит 1–4 суставов неустраненной причины, присутствующий не менее 6 нед, возникший у ребенка в период до 16-летнего возраста, при условии исключения других неревматологических заболеваний. Хронический олигоартрит у детей может быть проявлением как идиопатического (ревматоидный), псориатического артрита, так и спондилоартропатии, нередко в форме энтезопатии. Собственно олигоартрит в структуре ЮА может быть персистирующим, распространившимся или иметь абортный вариант течения с выходом в стойкую ремиссию.

Персистирующий олигоартрит наиболее характерен для девочек с дебютом заболевания в период до 6–8-летнего возраста, пик которого приходится на 2–3 годы жизни, клинически чаще всего проявляющийся асимметричным поражением суставов нижних конечностей в сочетании с артритом (дактилитом) мелких суставов кистей и (или) стоп [6, 7]. Другим нетипичным вариантом персистирующего олигоартрита следует считать хронический артрит локтевого и (или) лучезапястного сустава с быстрым формированием осевой деформации и контрактуры, нередко с вовлечением мелких суставов одноименной кисти. Распространившийся олигоартрит в дебюте может не иметь клинических отличий от персистирующего, однако, характеризуется суставным синдромом с вовлечением более пяти суставов по истечении не менее 6 мес от начала заболевания. У 80% детей течение заболевания ассоциируется с повышенным антинуклеарным фактором (АНФ) в титре $>$ или $= 1 : 160$, который определяет характер течения артрита и отражает высокий риск поражения глаз (ревматоидный увеит или иридоциклит), нередко в форме асимптоматического увеита.

Лабораторная картина олигоартикулярного варианта ЮА хорошо изучена и, как правило, в период активной фазы заболевания характеризуется диспротеинемией, увеличенной скоростью оседания эритроцитов, повышенным уровнем неспецифических показателей воспаления крови, реакцией тромбоцитарного роста и анемией смешанного генеза. Однако до одной четверти детей, страдающих ЮА, могут иметь неяркий характер течения хронического моноартрита без признаков лабораторной воспалительной актив-

ности, картина которого может быть охарактеризована термином «немой» артрит.

Вовлечение двух и более суставов на раннем этапе в воспалительный процесс существенно облегчает диагностику артропатии. Наибольшие затруднения в диагностике олигоартрита, по собственным и литературным данным, как правило, отмечаются у детей с дебютом заболевания в возрасте до одного года, характером суставного поражения по типу «сухого» синовита с быстрым развитием болевой контрактуры, а также у детей с «немой» хроническим моноартритом [8–10].

Ювенильный артрит – это гетерогенная группа воспалительных артропатий детского возраста, первичная диагностика которых должна быть основана на специфике динамики клинической картины [11]. Методы инструментального обследования должны быть нацелены на поиск этиологического фактора артропатии, а в случае его отсутствия приоритетным считается визуализация стереотипных признаков хронического воспалительного процесса. Изменения лабораторных показателей не всегда сопровождают ювенильный артрит и не являются критериями постановки диагноза, равно как и повышенный титр АНФ. На сегодняшний день алгоритм инструментальной диагностики болезней суставов у детей включает рентгенографическое исследование и ультразвуковое сканирование. Диагностическая значимость объясняется не только информативностью полученных данных, но и простотой, широкой доступностью методики рентгенографии. К настоящему времени методология анализа позволила выработать стандартный протокол традиционных рентгенологических исследований у детей, опыт применения которых позволяет получить подробную информацию о строении и пространственной топографии суставов.

Подлежит рентгеновской оценке структура костной ткани и надкостницы, форма эпифизов и характеристика суставных поверхностей, состояние ростовой пластинки, а также степень изменения физиологических просветлений и периартикулярных мягких тканей. Первичная интерпретация полученных данных инструментального обследования и сопоставление их с клинической картиной являются приоритетной задачей лечащего врача. В связи с многочисленностью нозологических форм и омоложением болезней опорно-двигательного аппарата специалистам в области детской ортопедии и ревматологии все чаще и чаще приходится прибегать к дополнительным методам обследования. Наибольшую популярность и диагностическую значимость

среди специалистов имеют магнитно-резонансная и компьютерная томографии, артрография, 3-фазная остеосцинтиграфия, диагностическая артроскопия с биопсией синовиальной оболочки. Однако меньшая доступность и коммерческая составляющая данных видов исследований ограничивают их применение в амбулаторном звене, к тому же диагностическая артроскопия – это полноценное оперативное вмешательство. Поэтому первичная интерпретация характера суставного поражения должна быть основана на простых и дешевых инструментальных методах, таких как рентгенография и ультразвуковое сканирование, при оценке которых врачом должны быть четко определены цели и методы дополнительной диагностики в зависимости от возраста ребенка и предполагаемой группы артропатии [12–14].

Как известно, ЮА – это первичное хроническое воспалительное заболевание суставов, неотъемлемым диагностическим критерием которого является типичный параллелизм клинической и инструментальной картины [15–17]. Трактовка данных рентгенографии должна проводиться с учетом существующего ряда анатомо-физиологических особенностей костно-суставной системы у детей. Известно, что рентгеновское изображение костей и суставов детей отличается от изображения такового у взрослых целым рядом особенностей, которые предопределены непрерывным этапным энхондральным костеобразованием с видоизменениями формы и контуров хрящевых моделей эпифизов, образующих сустав, и собственно костной ткани. Информированность врача о комплексе особенностей нормальной возрастной рентгенанатомии в значительной степени предопределяет правильность диагностики болезней костно-суставной системы у детей [18–20]. В настоящее время инструментальная диагностика ЮА основана на модифицированной модели стереотипных изменений рентгеновской анатомии суставов при ревматоидном артрите, впервые описанной Штейнброкером [21–23].

Эпифизарный остеопороз, уплотнение периакулярных мягких тканей и контуров фиброзной капсулы, ускорение темпов роста, неравномерность и асимметрия оссификации хрящевых моделей эпифизов, образующих сустав, подверженный хроническому воспалению, – характеризуют рентгеновское изображение первой стадии ЮА (рис. 1). Рентгеновские признаки ускоренной оссификации хрящевых моделей и ее неравномерная асимметрия в эпифизах, образующих сустав, выглядят более наглядными у детей младшего возраста в дебюте и периоде разгара

заболевания. Это обусловлено непрерывной стимуляцией открытых метаэпифизарных ростковых зон на всем протяжении активной фазы болезни при непосредственном участии провоспалительных цитокинов и факторов роста: transforming growth factor-betas (TGF- β), insulin-like growth factor 1(IGF-1) и bone morphogenetic proteins (BMP). Следует обратить внимание, что данного рода изменения при ЮА должны наблюдаться во всех эпифизах, образующих сустав, подверженный артритическому процессу в различной степени выраженности без исключения.

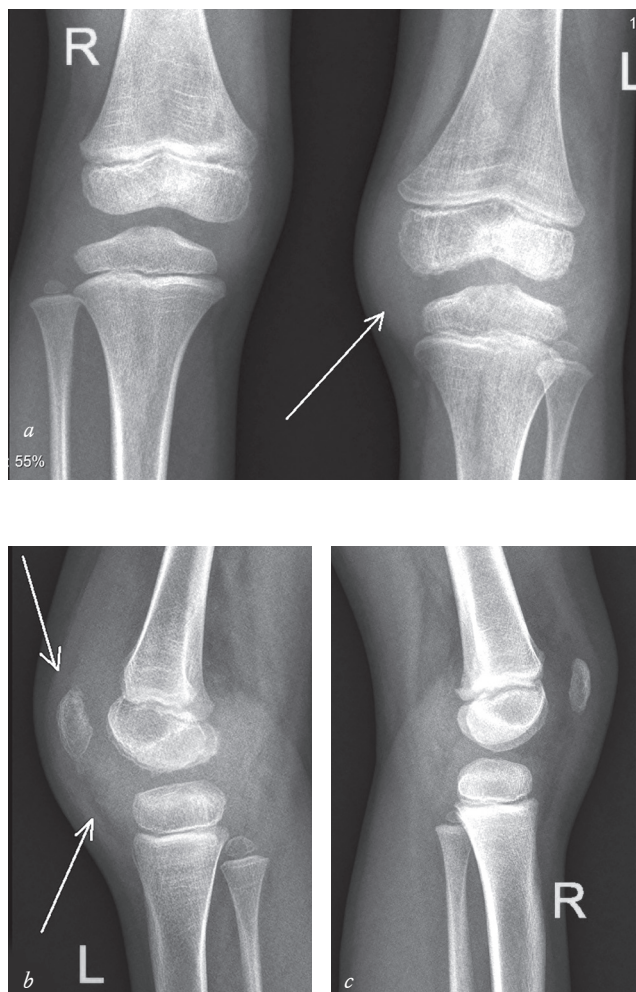


Рис. 1. Рентгеновские изменения первой стадии ювенильного артрита у ребенка с дебютом заболевания в раннем детском возрасте: *a* – увеличение размеров смежных эпиметафизарных отделов левой бедренной и большеберцовой костей за счет ускоренной оссификации, уплотнение контуров фиброзной капсулы левого коленного сустава; *b, c* – асимметрия оссификации надколенников S > D

Fig. 1. X-ray changes in the first stage of juvenile arthritis in a child with debut of the disease in early childhood: *a* – increase in the size of adjacent epimetaphyseal sections of the left femur and tibia due to accelerated ossification, consolidation of the fibrous capsule contours of the left knee joint; *b, c* – asymmetry of the ossification of the patella S > D

Данное правило может не распространяться на случаи суставного поражения по типу изолированной хронической энтезопатии. Реакция ростковых зон на хронический воспалительный процесс может выражаться в виде неспецифической усиленной неровности и бахромчатости контуров поверхности пластинки, неравномерности высоты и плавности линий, нередко в сочетании с кистовидной перестройкой. Для детей старшего возраста с синостозированными ростковыми зонами на ранней стадии ЮА, помимо регионарного остеопороза и кистовидной деформации костной структуры, более характерным является подчеркнутость контуров замыкательных пластинок суставных поверхностей за счет субхондрального остеосклероза (рис. 2).

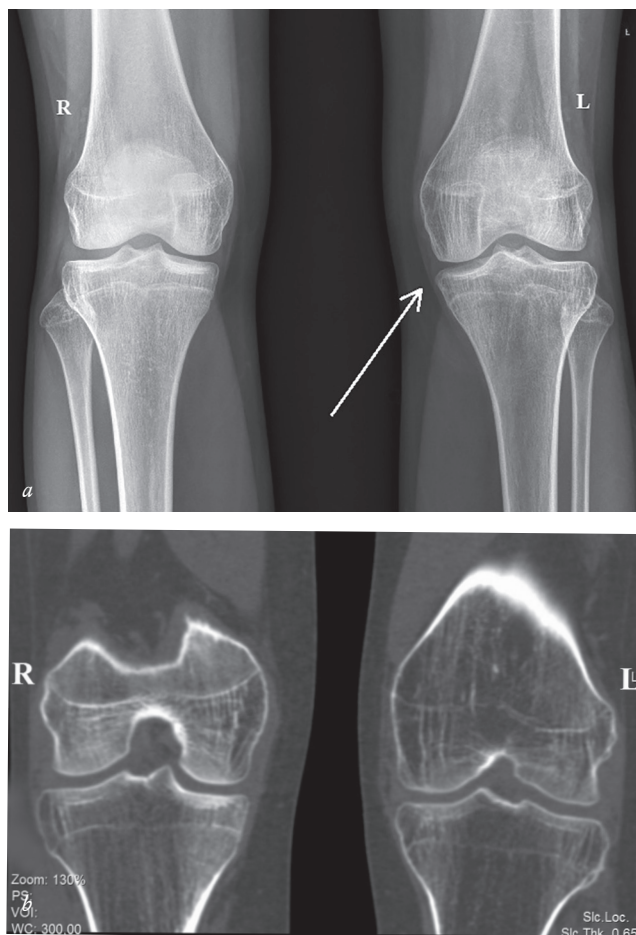


Рис. 2. Рентгеновские изменения первой стадии ювенильного артрита у ребенка с дебютом заболевания в старшем возрасте: *a* – регионарный остеопороз, деформация формы и контуров эпифизов левого коленного сустава; *b* – начальные признаки дистрофических изменений костной ткани

Fig. 2. X-ray changes in the first stage of juvenile arthritis in a child with debut of the disease in the adulthood: *a* – regional osteoporosis, deformity of the shape and contours of the epiphyses of the left knee joint; *b* – initial signs of dystrophic changes in bone tissue

По нашим данным, длительность неэрозивного периода течения олигоартрита у детей находится в прямой зависимости от степени агрессивности заболевания и характера изменения синовиальной оболочки.

Визуализация плоских нишеобразных углублений субхондральных отделов суставных поверхностей эпифизов по типу эрозий, а также начальное (непроекционное) сужение суставной щели сустава, подверженного воспалению, с обязательным наличием изменений различной степени выраженности, характеризующие первую стадию, свидетельствуют о наступлении второй рентгеновской стадии ЮА. Узурированность суставных поверхностей становится обозримой, как правило, на 2–3 году течения типичного олигоартрита при отсутствии должного лечения. Случаи нетипичного течения ЮА с преимущественным вовлечением суставов запястья или предплюсны могут характеризоваться образованием элементов рентгеновской узурации суставных поверхностей костей, образующих данные сочленения, намного раньше.

Противоревматическая терапия, прямо пропорциональная степени агрессивности заболевания, как правило, препятствует изменению хрящевого матрикса и прогрессированию эрозивного суставного компонента. Следует выделить высокую частоту визуализации дистрофических очагов или открытых кист субхондральных отделов суставных поверхностей эпифизов (ненагружаемых зон), которые носят псевдоэрозивный характер (рис. 3).

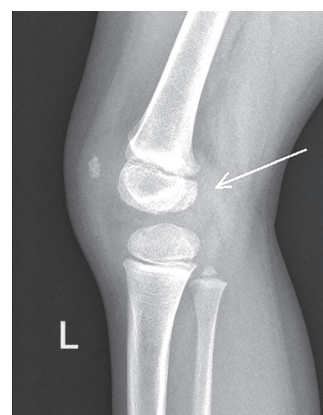


Рис. 3. Рентгенография коленного сустава в боковой проекции с признаками локальных дистрофических изменений задней поверхности мыщелка бедренной кости у ребенка с ювенильным артритом: ограниченная зона шероховатости заднего контура – ненагружаемая часть с признаками неравномерности структуры костной ткани и кистовидной перестройки

Fig. 3. Roentgenography of the knee joint in the lateral projection with signs of local dystrophic changes in the posterior surface of the femoral condyle in a child with juvenile arthritis: a limited zone of the roughness of the posterior contour – an unloaded part with signs of uneven bone structure and cyst-like reconstruction

Признаки истинных костно-хрящевых эрозий наиболее часто встречаются у детей с «сухим» синовитом, а также в случае течения заболевания по типу «упорного» экссудативно-пролиферативного артрита с формированием клеточного паннуса, что неминуемо указывает на прогрессирование заболевания. Образование типичных эрозивных изменений суставных поверхностей на

фоне неактивной стадии артрита, как правило, является обратимым процессом и характеризуется поэтапным полным склерозированием субхондральной зоны дефекта. Начальная или прогрессирующая истинная узурация костной ткани часто характеризуется размытостью контуров дефекта и наличием зоны локального трабекулярного отека с явлениями синовита (рис. 4).



Рис. 4. МР-картина неярко выраженного хронического синовита коленного сустава у ребенка с ювенильным артритом: *a* – костно-хрящевые эрозии суставных поверхностей эпифизов; *b* – явления локального трабекулярного отека костной ткани

Fig. 4. MR-picture of a non-clearly marked chronic synovitis of the knee joint in a child with juvenile arthritis: *a* – bone-cartilage erosions of the articular surfaces of the epiphyses; *b* – manifestations of local trabecular edema of bone tissue

Охарактеризовать «несвежие» эрозии можно по наличию подчеркнутости контуров и радиальному расположению зон остеосклероза, без МР-признаков отека костной ткани. В случае течения спондилоартропатии визуализация плоских нишеобразных углублений субхондральных отделов суставных поверхностей по типу эрозий на ранней стадии – явление нередкое.

Характер последующих рентгеновских изменений костно-суставной системы у детей при олигоартрите, как правило, предопределен возрастом и степенью агрессивности болезни. На фоне непрекращающейся активной фазы воспалительного процесса в суставе у детей младшего возраста отмечается появление очаговой, а затем распространенной узурации суставных поверхностей эпифизов. Гипокинезия вследствие болевого суставного синдрома, прогрессирующее сниже-

ние интенсивности осевой нагрузки и амплитуды движений в суставе, неконтролируемая гиперактивность остеокластов в условиях цитокиновой бури определяют смену стадии ускоренной оссификации эпифиза на деминерализацию кости с развитием признаков локального остеокитарного остеолизиса. Остеодефицит или прогрессирующее снижение минеральной плотности костной ткани, помимо остеопенического синдрома, проявляется образованием очаговой крупно- и среднекистовидной перестройки костной ткани с жировым перерождением, что нередко носит частично обратимый характер (рис. 5).

Сравнительная оценка характера и динамики рентгеновской картины у детей старшего возраста позволили выделить и полярно иной характер анатомических изменений при ЮА. Выяснилось, что у детей с дебютом ЮА в старшем возрасте или

у детей, которые достигли пубертатного периода к моменту наступления второй стадии рентгеновских изменений, как правило, картина поражения характеризуется признаками выраженного

субхондрального остеосклероза, патологической оссификацией и деформацией суставных поверхностей эпифизов, вплоть до разрастания краевых остеофитов.

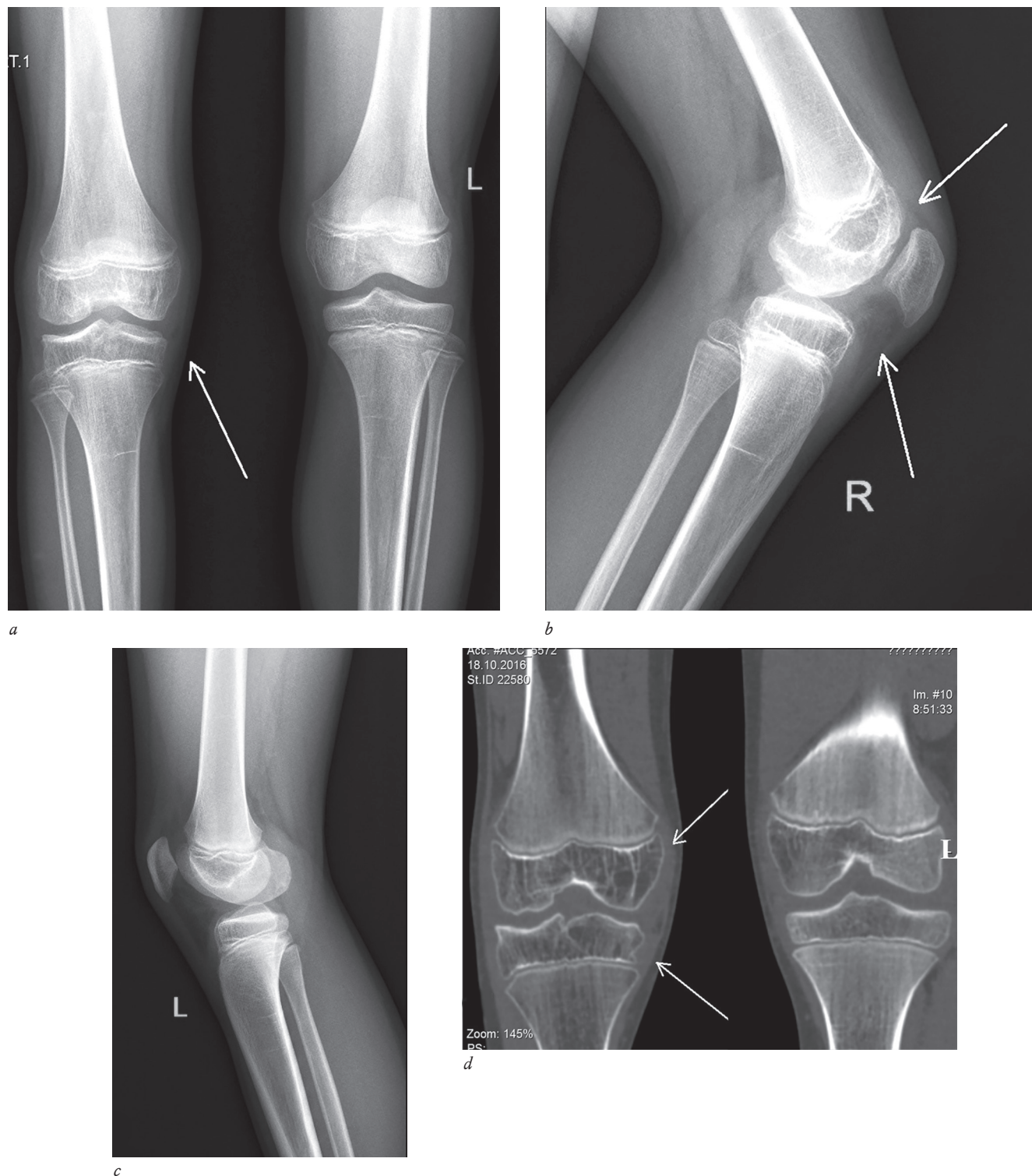


Рис. 5. Эрозивно-дистрофические изменения эпифизов, образующих правый коленный сустав, у ребенка с ювенильным артритом: *a, b, c* – рентгенограммы; *d* – мультиспиральные компьютерные томограммы

Fig. 5. Erosive-dystrophic changes in the epiphyses forming the right knee joint in a child with juvenile arthritis: *a, b, c* – roentgenograms; *d* – multispiral computer tomograms

К тому же степень выраженности эрозивного компонента суставных поверхностей и дистрофические изменения костной ткани не всегда носят столь явный характер, что не позволяет отнести

данные признаки к третьей рентгеновской стадии артрита. Данный характер деформации суставов по рентгеновскому описанию нередко соответствует остеоартрозу II степени (рис. 6).

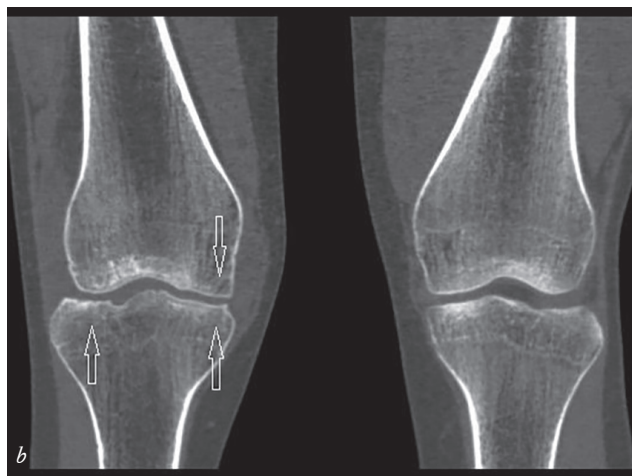
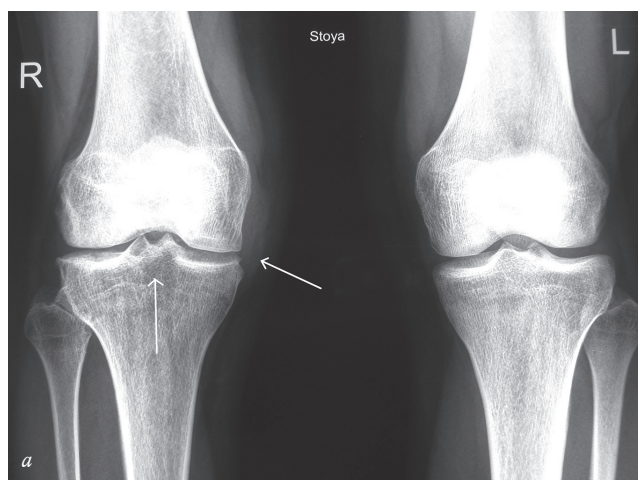


Рис. 6. Артроз – артрит правого коленного сустава у ребенка с ювенильным артритом: *a* – рентгенограмма; *b* – мультиспиральная компьютерная томограмма

Fig. 6. Arthrosis – arthritis of the right knee joint in a child with juvenile arthritis: *a* – roentgenogram; *b* – multispiral computer tomogram

Вероятно, данного рода изменения у детей старшего возраста обусловлены большим преобладанием неохондрогенеза над эрозивно-дистрофическим процессом. Биологическая модель данного варианта деформаций основана на превалировании процессов неохондрогенеза и ремоделирования поврежденной костной ткани, которые осуществляются посредством хондрогенной дифференцировки мезенхимальных клеток надкостницы и синовиальной оболочки под влиянием провоспалительных цитокинов и факторов роста (TGF- β , BMP, IGF-1) [24]. Следует подчеркнуть, что для детей старшего возраста с полиартикулярным вариантом ЮА характерен подобный вариант изменений костной ткани с развитием эрозивного артроз-артрита.

О наступлении III стадии ЮА по рентгеновской картине можно утверждать в случае появления глубоких костных эрозий, в том числе внесуставных зон с разрушением хрящевого матрикса, типичной инконгруэнтности суставных поверхностей с развитием осевых деформаций, распространенного остеопороза с дистрофией костной ткани. Эрозивный компонент деформации суставных поверхностей не имеет избирательности, что приводит к повсеместному неравномерному истончению хрящевого матрикса. Истинные эрозии, как правило, носят костно-хрящевой характер. Нередко выявляются крупные эрозивно-деструктивные изменения с явлениями остеолиза, вплоть до деформации контуров эпифизов. Обра-

зование костно-хрящевых очагов деструкций на ранней стадии или на фоне неизменной костной ткани, в том числе затрагивающих или пронизывающих ростовую пластинку, не является характерным инструментальным признаком ЮА. Истинная III стадия анатомических изменений ЮА отражает неблагоприятный прогноз с выходом в ранний артроз, что в большинстве случаев является необратимым процессом. Четвертая стадия ЮА характеризуется естественным исходом заболевания в костный или фиброзный анкилоз сустава, что является 100%-м показанием для тотального эндопротезирования или артропластики сустава.

Монотонное или рецидивирующее течение артрита, отсутствие вовлечения новых суставов за длительный период наблюдения, лабораторная воспалительная активность, не соответствующая характеру суставного поражения, а также раннее развитие очагов костно-хрящевой деструкции являются основными признаками нетипичного течения ревматической патологии. Хорошо известно, что у детей дифференциальная диагностика ювенильного олигоартрита помимо инфекционных и постинфекционных артропатий включает широкий спектр заболеваний хирургической, ортопедической, псевдоревматологической, опухолевой, а также сосудистой и гематологической природы. Термин «экссудативно-пролиферативный синовит» является лишь инструментальным признаком, который по своей сути отражает только вид

и характер воспалительных изменений в суставе и не может являться самостоятельным диагнозом. Трактовка суставного синдрома и его дифференциальная диагностика должна проводиться с учетом гендерных и возрастных особенностей детей.

Для детей младшего возраста с типичным классическим вариантом течения олигоартрита в структуре ЮА деформация синовиальной оболочки, как правило, характеризуется ее тотальным, неравномерным утолщением, вплоть до узловой или веретенообразной дегенерации. В

старшем возрасте характерным признаком ЮА является узнаваемый вид ворсинчатой пролиферации синовиальной оболочки от очаговой до субтотальной степени выраженности. Появление очаговой узловой, веретенообразной или тотальной гроздеподобной деформации синовиальной оболочки полости сустава, а также нетипичных кист, скорее, будет свидетельствовать о возможном перерождении в первичное опухолеподобное заболевание или формирование узлов сосудистой мальформации (рис. 7, 8).



Рис. 7. Выраженный хронический синовит: *a* – тотальное утолщение и пролиферация синовиальной оболочки; *b* – тотальная пролиферация синовиальной оболочки и формирование клеточного паннуса; *c* – тотальное утолщение синовиальной оболочки и «нежное» эрозирование суставной поверхности бедренной кости (магнитно-резонансная томограмма)

Fig. 7. Marked chronic synovitis: *a* – total thickening and proliferation of the synovial membrane; *b* – total proliferation of the synovial membrane and formation of the cell pannus; *c* – total thickening of the synovial membrane and “tender” erosion of the femur joint surface (MR-tomogram)



Рис. 8. Выраженный хронический синовит коленного сустава с локальной очаговой пролиферацией синовиальной оболочки (магнитно-резонансная томограмма)

Fig. 8. Marked chronic synovitis of the knee joint with local focal proliferation of the synovial membrane (MR-tomogram)

Таким образом, рентгеновская диагностика суставной патологии у детей наравне с клинической картиной имеет определяющее значение и позволяет на раннем этапе выделить ведущие клинко-инструментальные синдромы. В настоящее время назрела крайне высокая необходимость овладения навыками в области клинической рентгеноанатомии костно-суставной системы у детей. Грамотная оценка рентгеновской картины костей и суставов у детей с учетом возрастных особенностей будет способствовать снижению количества ошибок в работе врача-ревматолога и улучшению качества медицинской помощи.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева Е.И., Бзарова Т.М. Алгоритм диагностики и лечения ювенильного артрита // *Вопросы современной педиатрии*. 2010; 9 (6): 78–104.
2. Новик Г.А., Абакумова Л.Н., Летенкова Н.М., Слизовский Н.В., Слизовская Н.Н. Ювенильные артриты – опыт диагностики и лечения // *Лечащий врач*. 2008; 4: 23–27.
3. Рохлина Ф.В., Новик Г.А., Калинина Н.М., Бычкова Н.В. Фенотипы ювенильного идиопатического артрита // *Лечащий врач*. 2014; 8: 51–56.
4. Cimaz R., Lehman T.J.A., Asherson R. Children with juvenile idiopathic arthritis // *J. Rheumatol.* 2003; 30 (4): 825–828.
5. Ravelli A. Toward an understanding of the long-term outcome of juvenile idiopathic arthritis // *Clin. Exp. Rheumat.* 2004; 22: 271–275.
6. Cassidy J.T., Petty R.E. Juvenile rheumatoid arthritis. In: Textbook of Pediatric Rheumatology. 4th ed; eds. J.T. Cassidy, R.E. Petty. WB Saunders Company, Philadelphia, 2001: 233.
7. Hahn Y.S., Kim J.G. Pathogenesis and clinical manifestations of juvenile rheumatoid arthritis. // *Korean J. Pediatr.* 2010; 53 (11): 921–930.
8. Dop D., Niculescu C.E., Stănescu L., Niculescu D., Stepan A. Atypical debut manifestations in juvenile idiopathic arthritis // *Rom. J. Morphol. Embryol.* 2013; 54 (3): 669–673.
9. Habiba H.M., Shaheen D.A., Elsedfy G.O. et al. Clinical, laboratory and radiological predictors of extension of oligoarticular juvenile idiopathic arthritis: a prospective study // *Int. J. Clin. Pediatr.* 2012; 1: 76–81.
10. Prabhu A.S., Bala S. Approach to a child with monoarthritis // *Indian J. Pediatr.* 2010; 77: 997–1004.
11. Салмина А.Б., Емельянич Е.Ю., Михайлова А.К. Кириллова Е. П., Анциферова Л. Н., Аникина Е.А. Клиническая динамика ювенильного ревматоидного артрита у детей // *Лечащий врач*. 2011; 3: 71–74.
12. Bader-Meunier B., Wouters C., Job-Deslandre C. et al. Guidelines for diagnosis and treatment of oligoarticular and polyarticular juvenile idiopathic arthritis // *Arch. Pediatr.* 2010; 17 (7): 1085–1089.
13. Kakati P., Sodhi K.S., Sandhu M.S. et al. Clinical and ultrasound assessment of the knee in children with juvenile rheumatoid arthritis // *Indian. J. Pediatr.* 2007 Sep.; 74 (9): 831–836.
14. Ramos P.C., Ceccarelli F., Jousse-Joulin S. Role of ultrasound in the assessment of juvenile idiopathic arthritis // *Rheumatology*. 2012; 51: 10–12.
15. Oen K., Reed M., Malleson P.N. et al. Radiologic outcome and its relationship to functional disability in JRA // *J. Rheumatol.* 2003; 30: 832–840.
16. Sudol-Szopińska I., Matuszewska G., Gietka P. et al. Imaging of juvenile idiopathic arthritis. Part I: Clinical manifestation and radiography // *J. Ultrason.* 2016; Sep.; 16 (66): 225–236.
17. Tariq A., Rehman S., Naz S. Radiographic evaluation of joint changes in juvenile idiopathic arthritis // *Ann. King Edward Med. Uni.* Apr.–Jun. 2012; 18: 205–210.
18. Кожевников А.Н., Поздеева Н.А., Конев М.А., Селизов В.В., Москаленко А.В., Афоничев К.А., Новик Г.А. Ювенильный артрит: особенности клинко-инструментальной картины и дифференциальной диагностики // *Лечащий врач*. 2016; 4: 58–62.
19. Садофьева В.И. Нормальная рентгеноанатомия костно-суставной системы у детей. Л.: Медицина, 1990: 222.
20. Kim K.H., Kim D.S. Juvenile idiopathic arthritis: Diagnosis and differential diagnosis // *Korean J. Pediatr.* 2010; 53: 931–935.
21. Смирнов А.В., Каратеев Д.Е. Стадии рентгенологических изменений в суставах при ревматоидном артрите // *РМЖ*. 2014; 7: 551.
22. van Rossum M.A., Zwinderman A.H., Boers M. Radiologic features in juvenile idiopathic arthritis: a first step in the development of a standardized assessment method // *Arthritis Rheum.* 2003; 48: 507–515.
23. Selvaag A.M., Flato B., Dale K., Lien G., Vinje O., Smerdel-Ramoya A. et al. Radiographic and clinical outcome in early juvenile rheumatoid arthritis and juvenile spondyloarthritis: a 3-year prospective study // *J. Rheumatol.* 2006; 33 (7): 1382–1391.
24. Смирнов А.В. Атлас рентгенологической диагностики первичного остеоартроза. М.: ИМА-ПИРЕСС, 2010: 40.

Поступила в редакцию 27.04.2017

Утверждена к печати 30.06.2017

Кожевников Алексей Николаевич, канд. мед. наук, врач-ревматолог, отделение последствий травм и ревматоидного артрита, НИДОИ им. Г.И. Турнера; доцент кафедры педиатрии имени профессора И.М. Воронцова, СПбГПМУ, г. Санкт-Петербург. ORCID iD 0000-0003-0509-6198.

Поздеева Нина Анатольевна, канд. мед. наук, врач-ревматолог, зам. главного врача по лечебной работе, НИДОИ им. Г.И. Турнера, г. Санкт-Петербург. ORCID iD 0000-0002-7324-3332.

Конев Михаил Александрович, зав. отделением последствий травм и ревматоидного артрита, НИДОИ им. Г.И. Турнера, г. Санкт-Петербург. ORCID iD 0000-0002-4662-8069.

Маричева Ольга Николаевна, канд. мед. наук, врач-рентгенолог, зав. отделением лучевой диагностики, НИДОИ им. Г.И. Турнера, г. Санкт-Петербург. ORCID iD 0000-0003-1688-7569.

Афоничев Константин Александрович, д-р мед. наук, руководитель отделения последствий травм и ревматоидного артрита, НИДОИ им. Г.И. Турнера, г. Санкт-Петербург. ORCID iD 0000-0002-6460-2567.

Новик Геннадий Айзикович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой педиатрии имени профессора И.М. Воронцова, СПбГПМУ, г. Санкт-Петербург. ORCID iD 0000-0002-7571-5460.

(✉) Кожевников Алексей Николаевич, e-mail: Infant_doc@mail.ru

УДК 616.72-002.2-022-053.2-073.7

DOI 10.20538/1682-0363-2017-3-224-234

For citation: Kozhevnikov A.N., Pozdeeva N.A., Konev M.A., Maricheva O.N., Afonichev K.A., Novik G.A. X-ray diagnosis of juvenile chronic oligoarthritis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (3): 224–234

X-ray diagnosis of juvenile chronic oligoarthritis

Kozhevnikov A.N.^{1,2}, Pozdeeva N.A.¹, Konev M.A.¹, Maricheva O.N., Afonichev K.A.¹, Novik G.A.²

¹ The Turner Scientific and Research Institute for Children's Orthopedics
64–68, Str. Parcovaya, Pushkin, Saint-Petersburg, 196603, Russian Federation

² Saint-Petersburg State Pediatric Medical University
2, Str. Litovskaya, Saint-Petersburg, 194100, Russian Federation

ABSTRACT

Juvenile arthritis continues to be a serious diagnostic problem of pediatric rheumatology despite the improvement of clinical, immunological and instrumental methods of examination. Clinical heterogeneity, nonspecificity of instrumental picture and limited application of some examination methods account for the diagnostic difficulties of articular pathology in young children. Chronic oligoarthritis in young children presents a particular challenge due to a frequent vague onset and minimally symptomatic course which can result in a late diagnosis and a high risk of early disability. This paper identifies the problem of diagnosis of childhood arthropathy in relation to its informative value and the practical and clinical significance of basic instrumental methods of chronic arthritis visualization. Special attention is paid to particular roentgenologic features and interpretation of MR images in diagnosis of juvenile oligoarthritis. This article aims at systematizing and expanding the views of pediatricians and rheumatologists on the importance of radiography methods in the diagnosis of joint pathology in children.

Key words: juvenile oligoarthritis, chronic synovitis, roentgen diagnosis, MRT.

REFERENCES

1. Alekseyeva E.I., Bzarova T.M. Algoritm diagnostiki i lecheniya yuvenil'nogo artrita [Algorithm of diagnosis and treatment of juvenile arthritis] // *Voprosy sovremennoy pediatrii – Current Pediatrics*. 2010; 9 (6): 78–104 (in Russian).
2. Novik G.A., Abakumova L.N., Letenkova N.M., Slizovskiy N.V., Slizovskaya N.N. Yuvenil'nyye artrity - opyt diagnostiki i lecheniya [Juvenile arthritis – the experience of diagnosis and treatment] // *Lechaschiy vrach – Lechaschiy Vrach Journal*. 2008; 4: 23–27 (in Russian).
3. Rokhlina F.V., Novik G.A., Kalinina N.M., Bychkova N.V. Fenotipy yuvenil'nogo idiopatcheskogo artrita [Phenotypes of juvenile idiopathic arthritis] // *Lechaschiy vrach – Lechaschiy Vrach Journal*. 2014; 8: 51–56 (in Russian).
4. Cimaz R., Lehman T.J.A., Asherson R. Children with juvenile idiopathic arthritis // *J. Rheumatol*. 2003; 30 (4): 825–828.
5. Ravelli A. Toward an understanding of the long-term outcome of juvenile idiopathic arthritis // *Clin. Exp. Rheumat*. 2004; 22: 271–275.
6. Cassidy J.T., Petty R.E. Juvenile rheumatoid arthritis. In: Textbook of Pediatric Rheumatology. 4th ed; eds. J.T. Cassidy, R.E. Petty. WB Saunders Company, Philadelphia, 2001: 233.
7. Hahn Y.S., Kim J.G. Pathogenesis and clinical manifestations of juvenile rheumatoid arthritis. // *Korean J. Pediatr*. 2010; 53 (11): 921–930.
8. Dop D., Niculescu C.E., Stănescu L., Niculescu D., Stepan A. Atypical debut manifestations in juvenile idiopathic arthritis // *Rom. J. Morphol. Embryol*. 2013; 54 (3): 669–673.
9. Habiba H.M., Shaheen D.A., Elsedfy G.O. et al. Clinical, laboratory and radiological predictors of extension of oligoarticular juvenile idiopathic arthritis: a prospective study // *Int. J. Clin. Pediatr*. 2012; 1: 76–81.
10. Prabhu A.S., Bala S. Approach to a child with monoarthritis // *Indian J. Pediatr*. 2010; 77: 997–1004.
11. Salmina A.B., Yemel'yanchik Ye.Yu., Mikhaylova A.K., Kirillova Ye.P., Antsiferova L.N., Anikina Ye.A. Klinich-

- eskaya dinamika yuvenil'nogo revmatoidnogo artrita u detey [Clinical dynamics of juvenile rheumatoid arthritis in children] // *Lechaschiy vrach – Lechaschi Vrach Journal*. 2011; 3: 71–74 (in Russian).
12. Bader-Meunier B., Wouters C., Job-Deslandre C. et al. Guidelines for diagnosis and treatment of oligoarticular and polyarticular juvenile idiopathic arthritis // *Arch. Pediatr.* 2010; 17 (7): 1085–1089.
 13. Kakati P., Sodhi K.S., Sandhu M.S. et al. Clinical and ultrasound assessment of the knee in children with juvenile rheumatoid arthritis // *Indian. J. Pediatr.* 2007 Sep.; 74 (9): 831–836.
 14. Ramos P.C., Ceccarelli F., Jousse-Joulin S. Role of ultrasound in the assessment of juvenile idiopathic arthritis // *Rheumatology*. 2012; 51: 10–12.
 15. Oen K., Reed M., Malleson P.N. et al. Radiologic outcome and its relationship to functional disability in JRA // *J. Rheumatol.* 2003; 30: 832–840.
 16. Sudot-Szopińska I., Matuszewska G., Gietka P. et al. Imaging of juvenile idiopathic arthritis. Part I: Clinical manifestation and radiography // *J. Ultrason.* 2016; Sep.; 16 (66): 225–236.
 17. Tariq A., Rehman S., Naz S. Radiographic evaluation of joint changes in juvenile idiopathic arthritis // *Ann. King Edward Med. Uni.* Apr.–Jun. 2012; 18: 205–210.
 18. Kozhevnikov A.N., Pozdeyeva N.A., Konev M.A., Selizov V.V., Moskalenko A.V., Afonichev K.A., Novik G.A. Yuvenil'nyy artrit: osobennosti kliniko-instrumental'noy kartiny i differentsial'noy diagnostiki [Juvenile arthritis: clinical, instrumental picture and differential diagnosis] // *Lechaschiy vrach – Lechaschi Vrach Journal*. 2016; 4: 58–62 (in Russian).
 19. Sadof'yeva V.I. Normal'naya rentgenoanatomya kostno-sustavnoy sistemy u detey [Normal X-ray anatomy of the osteoarticular system in children]. L.: Meditsina Publ., 1990: 222 (in Russian).
 20. Kim K.H., Kim D.S. Juvenile idiopathic arthritis: Diagnosis and differential diagnosis // *Korean J. Pediatr.* 2010; 53: 931–935.
 21. Smirnov A.V., Karateyev D.Ye. Stadii rentgenologicheskikh izmeneniy v sustavakh pri revmatoidnom artrite [Stages of radiological changes in joints with rheumatoid arthritis] // *RMZH*. 2014; 7: 551 (in Russian).
 22. van Rossum M.A., Zwinderman A.H., Boers M. Radiologic features in juvenile idiopathic arthritis: a first step in the development of a standardized assessment method // *Arthritis Rheum.* 2003; 48: 507–515.
 23. Selvaag A.M., Flato B., Dale K., Lien G., Vinje O., Smerdel-Ramoya A. et al. Radiographic and clinical outcome in early juvenile rheumatoid arthritis and juvenile spondyloarthritis: a 3-year prospective study // *J. Rheumatol.* 2006; 33 (7): 1382–1391.
 24. Smirnov A.V. Atlas rentgenologicheskoy diagnostiki pervichnogo osteoartroza [Atlas of X-ray diagnosis of primary osteoarthritis]. M.: IMA-PRESS Publ., 2010: 40 (in Russian).

Received April 27.2017
Accepted June 30.2017

Kozhevnikov Aleksei N., PhD, Pediatric Rheumatologist, Department of Trauma Effects and Rheumatoid Arthritis, The Turner Scientific and Research Institute for Children's Orthopedics; Associate Professor, Pediatric Department n.a. I. M. Voroncov, Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, Saint-Petersburg, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-0509-6198.

Pozdeeva Nina A., PhD, Pediatric Rheumatologist, Deputy Chief Doctor of Medical Treatment, The Turner Scientific and Research Institute for Children's Orthopedics; Saint-Petersburg, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-7324-3332.

Konev Mikhail A., Head of the Department of Trauma Effects and Rheumatoid Arthritis, The Turner Scientific and Research Institute for Children's Orthopedics, Saint-Petersburg, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-4662-8069.

Maricheva Olga N., PhD, Head of the Department of Radiology Diagnostic, The Turner Scientific and Research Institute for Children's Orthopedics, Saint-Petersburg, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-1688-7569.

Afonichev Konstantin A., DM, Scientific Chief of the Department of Trauma Effects and Rheumatoid Arthritis, The Turner Scientific and Research Institute for Children's Orthopedics, Saint-Petersburg, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-6460-2567.

Novik Gennadiy A., DM, Professor, Chief of the Pediatric Department n.a. I. M. Voroncov, Saint-Petersburg State Pediatr.

(✉) Kozhevnikov Aleksei N., e-mail: Infant_doc@mail.ru

УДК 617.7(092)(091)

Памяти профессора И.В. Запускалова (1957–2016)**In memory of Professor I.V. Zapuskalov (1957–2016)**

Известный российский офтальмолог Игорь Викторович Запускалов родился 19 сентября 1957 г. в г. Томске. Его отец Виктор Иванович Запускалов – кандидат медицинских наук, заведовал кафедрой психиатрии Томского медицинского института; мать, Клара Ивановна Кошкарёва – кандидат медицинских наук, работала заместителем главного врача по лечебной работе Томской психиатрической больницы.

Игорь Викторович окончил Томский медицинский институт в 1980 г. по специальности «лечебное дело». Более 30 лет творческой жизни И.В. Запускалов отдал Томскому медицинскому институту (в настоящее время – Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)): работал лаборантом, ассистентом кафедры офтальмологии, а с 1994 по 2016 г. заведовал кафедрой офтальмологии. В течение многих лет (1994–2016) профессор И.В. Запускалов руководил работой Томского областного научного общества офтальмологов. В 2012–2016 гг. являлся главным внештатным офтальмологом Департамента здравоохранения Томской области.

В 1988 г. И.В. Запускалов защитил кандидатскую диссертацию «Региональная гемодинамика

глаза при начальной стадии гипертонической болезни» (научный руководитель – д-р мед. наук, профессор Т.И. Селицкая), в 1995 г. – докторскую диссертацию «Роль венозных сосудов в регуляции периферического кровообращения в норме и при артериальной гипертензии» (научные консультанты: академик РАМН, д-р мед. наук, профессор М.А. Медведев и д-р мед. наук, профессор Ю.Б. Лишманов). Ученое звание профессора по кафедре глазных болезней присвоено в 1996 г. С 1993 г. врач-офтальмолог высшей категории.

Талант исследователя и хирурга, глубокие знания и научная интуиция позволили профессору И.В. Запускалову стать одним из ведущих российских офтальмохирургов и признанным ученым. Его исследования, посвященные изучению особенностей регионарной гемодинамики на примере глазного яблока, обогатили фундаментальную и прикладную медицину новыми идеями и различными методами лечения патологии органа зрения.

Профессором И.В. Запускаловым подробно изучена роль венозных сосудов в регуляции периферического кровообращения в норме и при артериальной гипертензии, исследованы действие закона Лапласа на гидродинамической модели и динамическое равновесие между растягивающими и сжимающими силами в периферических мышечных артериях. Впервые дано теоретическое объяснение работы «периферического сердца», в соответствии с которым пульсовый объем крови, выбрасываемый сердцем во время систолы, накапливается в периферических мышечных артериях. По результатам многолетних экспериментальных и клинических исследований И.В. Запускаловым предложена концепция активной роли венозных сосудов в регуляции периферического кровообращения, рассмотрены новые принципы транскапиллярного обмена веществ между сопряженными сосудистыми системами.

Профессор И.В. Запускалов впервые изучил взаимосвязь нарушений центральной и регионарной

гемодинамики глаза, доказал ведущую роль вен в повышении общего периферического сопротивления сосудов и дал патогенетическое объяснение гипертензивных изменений глазного дна при гипертонической болезни. Все это позволило пересмотреть патогенез многих сердечно-сосудистых заболеваний и найти новые пути их лечения. За годы лечебной работы И.В. Запускалов провел более 50 тысяч микрохирургических и лазерных операций пациентам с тяжелой патологией органов зрения.

Под руководством профессора И.В. Запускалова подготовлены и защищены пять докторских и 16 кандидатских диссертаций. Он опубликовал свыше 450 печатных работ, в том числе девять монографий, 22 патента на изобретение, пять патентов на полезные модели, пять методических рекомендаций.

И.В. Запускалов являлся членом ученого совета лечебного факультета СибГМУ и членом ученого совета СибГМУ. С 2002 г. – член диссертационного совета при Красноярском государственном медицинском университете им. В.Ф. Войно-Ясенецкого по специальности «глазные болезни», где активно работал в качестве официального оппонента.

В 2001 г. профессор И.В. Запускалов награжден почетной грамотой Государственной Думы Томской области, в 2007 г. – почетной грамотой Министерства здравоохранения РФ.

В течение многих лет Игорь Викторович активно поддерживал научные контакты с офтальмологами Германии и США. В 2001 г. профессор И.В. Запускалов представил курс лекций по гемодинамике глаза на медицинском факультете технического университета К.Г. Каруса (Дрезден, Германия).

Игорь Викторович имел три зарубежных сертификата по факоэмульсификации (Allergan Medical Optics, США) и три сертификата по ретинальной и витреальной хирургии (University Eye Clinic of Tübingen, Германия; Kresge Eye Institute, Детройт, США).

С 1995 по 2010 г. под руководством И.В. Запускалова работала программа обмена опытом и специалистами в области офтальмологии с Kresge Eye Institute (Детройт, США), где повысили свою квалификацию за счет принимающей стороны и получили международные сертификаты 11 сотрудников кафедры и клиники офтальмологии СибГМУ. За период 2000–2010 гг.

на международном конгрессе Ассоциации исследования зрения и офтальмологии (ARVO, США) сотрудниками кафедры офтальмологии и офтальмологической клиники СибГМУ под руководством профессора И.В. Запускалова было представлено 20 докладов по актуальным проблемам патологии органа зрения. В 2003 г. он был введен в состав организационного комитета международной Ассоциации исследования зрения и офтальмологии (ARVO, США). В 2004 г. награжден памятной медалью и сертификатом за участие в экономическом и социальном развитии провинции Ляонин (Китай).

В 2008 г. на интернациональном конгрессе EUROMEDICA в г. Ганновере (Германия) профессор И.В. Запускалов за научные успехи избран почетным профессором Европейской академии естественных наук и награжден памятной медалью Р. Коха, в 2009 г. – вручена медаль А. Швейцера. В 2009 г. за активную научную деятельность награжден Почетной грамотой Американской ассоциации офтальмологов (ARVO, США).

Игоря Викторовича отличали глубокая интеллигентность, преданность работе, великодушие и удивительное жизнелюбие. У него были великолепный голос и прекрасный музыкальный вкус.

Ушел из жизни Игорь Викторович 25 июля 2016 г. Девятнадцатого сентября 2017 г. ему исполнилось бы 60 лет...

МОНОГРАФИИ ПРОФЕССОРА И.В. ЗАПУСКАЛОВА

1. Сосуды конъюнктивы глаза в норме и при патологии. Томск, 1990. 120 с.
2. Роль венозных сосудов в регуляции периферического кровообращения. Томск, 1994. 160 с.
3. Англо-русский, русско-английский офтальмологический словарь. Иркутск, 2003. 258 с.
4. Механика кровообращения глаза. Томск, 2005. 112 с.
5. Патогенетические особенности развития пролиферативной витреоретинопатии. Томск, 2006. 184 с.
6. Vascular system of the eye in health and disease. Tomsk, 2007. 130 p.
7. Имплантаты с памятью формы в офтальмологии. Томск, 2012. 192 с.
8. Современная фармакотерапия язвенных поражений роговицы. Saarbrücken, 2013. 121 p.
9. Биомеханика «периферического сердца» в тканях глаза. Томск, 2013. 140 с.

Памяти профессора И.Д. Евтушенко

In memory of Professor I.D. Evtushenko



Тринадцатого сентября 2017 г. г. Томск и Сибирский государственный медицинский университет понесли невосполнимую утрату – скончалась Ирина Дмитриевна Евтушенко, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии, депутат Государственной Думы.

Ирина Дмитриевна родилась в г. Усть-Каменогорске (Республика Казахстан). После успешного окончания средней школы в родном городе поступила на лечебный факультет Томского медицинского института (ныне – СибГМУ). В период учебы занималась в научно-студенческом кружке на кафедре акушерства и гинекологии, выступала с докладами на научных студенческих конференциях. Принимала активное участие в общественной жизни, стройотрядовском движении. В 1980 г. окончила институт по специальности «лечебное дело». В 1987 г. успешно защитила кандидатскую диссертацию. В 1998 г. присвоена ученая степень доктора медицинских наук. С 1998 г. – профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии.

Кафедра акушерства и гинекологии СибГМУ под руководством профессора Ирины Дмитриевны Евтушенко заслуженно занимала ведущие позиции среди других подобных кафедр медицинских вузов, сохраняя традиции и представляя собой образец классического, академического подхода к преподаванию, научной и клинической работе. Ни одно занятие со студентами не обходилось без работы с пациентами. Ирине Дмитриевне удалось собрать уникальный коллектив, ежегодно пополняющийся молодыми специалистами, которые очень быстро вырастают в профессионалов своего дела под руководством опытных наставников в атмосфере взаимопонимания и уважительного отношения к коллегам, пациентам, студентам и ординаторам.

Научная деятельность Ирины Дмитриевны была связана с изучением механизмов формирования патологических процессов при акушерских и гинекологических заболеваниях. Она разрабатывала и внедряла в практику современные подходы к их диагностике и лечению. Под руководством И.Д. Евтушенко проведен ряд сложных научных исследований (теоретических, экспериментальных, клинических). Внедрение их в практическую медицину позволило снизить у женщин г. Томска и Томской области родовой травматизм, после родовые осложнения, антенатальную смертность, снизить риск рождения детей с врожденной патологией, повысить эффективность реабилитации женщин с бесплодием, перенесших операции на маточных трубах, улучшить качество жизни женщин, страдающих предменструальным и климактерическим синдромами, восстановить репродуктивную функцию у женщин с аменореей.

При непосредственном участии И.Д. Евтушенко внедрены в работу акушерской и гинекологической клиник СибГМУ, акушерских и гинекологических стационаров г. Томска и Томской области, а также других городов Сибири алгоритм диагностики и лечения женщин с привычным невынашиванием беременности, с антифосфолипидным синдромом, внутриутробными

инфекциями; современный и экономичный метод стимуляции родовой деятельности, алгоритм ведения беременных, их родоразрешения после экстракорпорального оплодотворения.

С 1998 г. Ирина Евтушенко являлась председателем Томского общества акушеров-гинекологов. Под руководством Ирины Дмитриевны коллективом кафедры акушерства и гинекологии и гинекологической клиники СибГМУ были разработаны и внедрены в практическое здравоохранение Томской области эндоскопические методы диагностики и лечения гинекологических заболеваний. С момента создания журнала «Бюллетень сибирской медицины» на протяжении более 10

лет была активным членом редакционной коллегии. В 2011 г. Ирина Дмитриевна стала научным руководителем открытого в г. Томске Областного перинатального центра, а с января 2015 по 2016 г. была главным врачом центра.

В 2016 г. Ирина Евтушенко стала депутатом Государственной Думы VII созыва в составе федерального списка кандидатов, выдвинутого Всероссийской политической партией «Единая Россия», региональная группа № 6 – Республика Алтай, Алтайский край, Кемеровская область, Томская область. Член фракции «Единая Россия». Являлась членом комитета ГД по международным делам.

Коллектив Сибирского государственного медицинского университета глубоко скорбит по поводу смерти заведующей кафедрой акушерства и гинекологии СибГМУ, доктора медицинских наук, профессора Ирины Дмитриевны Евтушенко. Ученики, коллеги, пациенты навсегда сохраняют в своих сердцах память об Учителе, блестящем враче, ученом и педагоге.