

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

БСМ

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

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

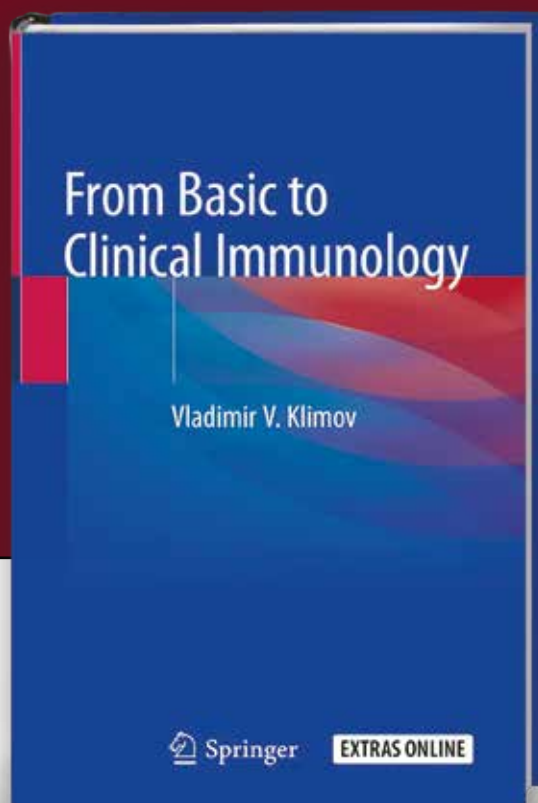
BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

BSM



Том 18

№ 3. 2019



V. Klimov (Владимир В. Климов)

From Basic to Clinical Immunology. – Springer, 2019. – 377 p.

Издательство: Springer

ISBN 3-03-003322-8

ISBN 13(EAN): 978-3-03-003322-4

В марте 2019 г. издательство Springer выпустило учебник премиум-класса по иммунологии на английском языке (377 стр.), написанный профессором СибГМУ В.В. Климовым. На подготовительном этапе рукопись прошла серьезное международное рецензирование. Этот учебник по иммунологии стал первым в отечественной истории и включен в каталог Библиотеки Конгресса США, о чем свидетельствует присланный автору сертификационный контрольный номер. В настоящее время учебник в электронном и книжном вариантах продается через систему интернет-магазинов и медицинских книжных магазинов по всему миру. Предназначен для студентов медицинских вузов и практикующих врачей.

БЮЛЛЕТЕНЬ СИБИРСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Научно-практический журнал
Выходит 4 раза в год

Том 18, № 3, 2019

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:
Scopus

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.

Редакторы: Е.Е. Степанова, Ю.П. Готфрид

Перевод: М.Е. Орлова, Дж. Палацца

Электронная верстка, дизайн обложки

А.Д. Кривонова

Отпечатано в ООО «Литбюро»,

634055, г. Томск, ул. Королёва, 4.

Подписано в печать 20.09.2019 г.

Формат 60 × 84/8. Печать офсетная.

Бумага мелованная. Гарнитура «Мысль».

Печ. л. 32. Усл. печ. л. 28,3.

Тираж 500 экз. Заказ 96.

Цена – свободная.

Дата выхода в свет 26.09.2019.

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, 2019

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

В.В. Новицкий, академик РАН (Томск)

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

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

О.И. Уразова, 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)

Л.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. Макария, член-корреспондент РАН (Москва)

А.С. Намазова-Баранова, академик РАН (Москва)

С.А. Некрылов, профессор, д-р ист. наук (Томск)

В.П. Пузырев, академик РАН (Томск)

В.Ю. Серебров, профессор, д-р мед. наук (Томск)

В.И. Стародубов, академик РАН (Москва)

Е.А. Степанова, 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.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. Шкурупий, 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. Eppe, профессор (Германия)

D. Gailani, профессор (США)

P. Odermatt (Швейцария)

J. Odland (Норвегия)

S. Orlov, профессор (Канада)

M. Poyurovsky, профессор (Израиль)

V. Zhdankin, профессор (США)

BULLETIN OF SIBERIAN MEDICINE

Peer-reviewed scientific-practical journal
Issued quarterly

Volume 18, No. 3, 2019

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:

Scopus
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.

Editors: E.E. Stepanova, Yu.P. Gotfrid
Translate: M.E. Orlova, D. Palazza
Electronic makeup, cover design
L.D. Krivtsova

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

Signed to print 20.09.2019
Format 60 × 84/8. Offset print.
Coated paper. Mysl' font.
P.l. 32. C.p.l. 28,3.
500 copies. Odder no. 96.

The price – free.
Date of publication 26.09.2019.

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

© Siberian State Medical University, 2019

EDITOR-IN-CHIEF

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

DEPUTY-EDITORS-IN-CHIEF:

L.M. Ogorodova, *Corresponding Member of RAS (Tomsk)*
O.I. Urazova, *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.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)*
M.S. Yusubov, *Professor (Tomsk)*
A. Antsaklis, *Professor (Greece)*
F. Chervenak, *Professor (USA)*
C. Dadak, *Professor (Austria)*
Y. Dekhtyar, *Professor (Latvia)*
M. Eppe, *Professor (Germany)*
D. Gailani, *Professor (USA)*
P. Odermatt (Switzerland)
J. Odland (Norway)
S. Orlov, *Professor (Canada)*
M. Poyurovsky, *Professor (Israel)*
V. Zhdankin, *Professor (USA)*

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Авдеева Е.Ю., Скороходова М.Г., Суходоло И.В., Порохова Е.Д., Слизовский Г.В., Муштоватова Л.С., Решетов Я.Е., Иванов С.Д., Белоусов М.В.

Сравнительная оценка остеогенной активности и влияния на гемопоэтическую функцию красного костного мозга фракций экстрактов *Saussurea controversa* и *Filipendula ulmaria* при экспериментальном остеомиелите

Андриевская И.А., Ишутина Н.А.

Роль линолевой кислоты в окислительном повреждении гемоглобина при цитомегаловирусной инфекции в период беременности

Бибик Е.Ю., Некраса И.А., Деменко А.В., Фролов К.А., Доценко В.В., Кривоколыско С.Г.

Изучение адаптогенной активности производных тетрагидропиридо[2,1-*b*][1,3,5]тиадиазина

Григорьян А.Ю., Бежин А.И., Панкрусхева Т.А., Суковатых Б.С., Чекареева М.С., Жилыева Л.В.

Многокомпонентное раневое покрытие в лечении экспериментальной гнойной раны

Диш Ал.Ю., Диш Ан.Ю., Агеева Т.С., Карзилов А.И., Тетенева А.В., Калачева Т.П., Меско П.Е., Мишустина Е.Л., Зайцева А.А., Параева О.С., Беспалова И.Д., Черногорюк Г.Э.

Вентиляция и механика дыхания у больных хронической обструктивной болезнью легких при разном положении тела

Жигальская Т.А., Кривошеина О.И., Дзыман А.Н., Хлусов И.А.

Патоморфологические особенности регенерации конъюнктивы и склеры на фоне интраоперационной аппликации раствора циклоспорина А

Капилевич Л.В., Захарова А.Н., Дьякова Е.Ю., Кироненко Т.А., Милованова К.Г., Калинин Ю.Г., Чибалин А.В.

Экспериментальная модель сахарного диабета II типа у мышей на основе диеты с избыточным содержанием жиров

Корнетова Е.Г., Тигунцев В.В., Корнетов А.Н., Гончарова А.А., Лобачева О.А., Давыдов А.А., Хардикина С.А., Иванова С.А., Семке А.В.

Половые различия в клинических особенностях антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемии у больных шизофренией

ORIGINAL ARTICLES

Avdeeva E.Yu., Skorokhodova M.G., Sukhodolo I.V., Porokhova E.D., Slizovsky G.V., Mushtovatova L.S., Reshetov Ya.E., Ivanov S.D., Belousov M.V.

Comparative evaluation of osteogenic activity and the effect on hematopoietic function of bone marrow of fractions of *Saussurea controversa* and *Filipendula ulmaria* extracts in experimental osteomyelitis

Andrievskaya I.A., Isbutina N.A.

The role of linoleic acid in oxidative damage of hemoglobin due to cytomegalovirus infection during pregnancy

Bibik E.Yu., Nekrasa I.A., Demenko A.V., Frolov K.A., Dotsenko V.V., Krivokolysko S.G.

Studying the adaptogenic activity of a series of tetrahydropyrido[2,1-*b*][1,3,5]thiadiazine derivatives

Grigoryan A.Yu., Bezbin A.I., Pankrusheva T.A., Sukovatykh B.S., Chekmareva M.S., Zbilyaeva L.V.

Multicomponent wound coating in treatment of an experimental, purulent wound

Dish Al.Ju., Dish An.Ju., Ageeva T.S., Karzilor A.I., Teteneva A.V., Kalacheva T.P., Mesko P.E., Mishustina E.L., Zaytseva A.A., Paraeva O.S., Bespalova I.D., Chernogoryuk G.E.

Ventilation and respiration mechanics in patients with chronic obstructive pulmonary disease in different body positions

Zbigalskaya T.A., Krivosheina O.I., Dzyman A.N., Khlusov I.A.

Pathomorphological features of conjunctival and scleral regeneration associated with intraoperative application of Cyclosporin A

Kapilevich L.V., Zakharova A.N., Dyakova E.Yu., Kironenko T.A., Milovanova K.G., Kalinnikova J.G., Chibalin A.V.

Mice experimental model of diabetes mellitus type II based on high fat diet

Kornetova E.G., Tiguntsev V.V., Kornetov A.N., Goncharova A.A., Lobacheva O.A., Davydov A.A., Khardikova S.A., Ivanova S.A., Semke A.V.

Sexual differences in the clinical features of antipsychotic-induced hyperprolactinemia in patients with schizophrenia

Лафькина М.С., Подрезова Е.В., Брагина О.Д.,
Тагирова Е.А., Чернов В.И., Юсубов М.С.,
Нестеров Е.А., Скуридин В.С., Кривошеков С.В.,
Яновская Е.А., Гурто Р.В., Белоусов М.В.

Разработка способа получения производного октреотида для диагностики нейроэндокринных опухолей

72

Мясоедова Е.И.

Уровень проадреномедулина при хронической сердечной недостаточности ишемического генеза: ассоциации с клиническими проявлениями

81

Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Колосов В.П.,
Перельман Ю.М.

Взаимосвязь курения с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей и течением деструктивно-цитолитических процессов в бокаловидном эпителии бронхов больных бронхиальной астмой

90

Терехов Р.П., Селиванова И.А.

Молекулярное моделирование взаимодействия дигидро-кверцетина и его метаболитов с циклооксигеназой-2

101

Черданцев Д.В., Строев А.В., Мангалова Е.С.,
Кононова Н.В., Чубарова О.В.

Использование гребневой регрессии для оценки степени тяжести острого панкреатита

107

Шнайдер М.А., Ширинский В.С., Калиновская Н.Ю.,
Ширинский И.В.

Влияние модуляторов метилирования ДНК на продукцию остеопротегерина ревматоидными фибробластоподобными синовиоцитами *in vitro*, их миграцию и инвазию

116

ОБЗОРЫ И ЛЕКЦИИ

Брагина О.Д., Чернов В.И., Зельчан Р.В.,
Синилкин И.Г., Медведева А.А., Лафькина М.С.

Альтернативные каркасные белки в радионуклидной диагностике злокачественных образований

125

Григорьев Е.В., Салахов Р.Р., Голубенко М.В.,
Понасенко А.В., Шукевич Д.Л., Матвеева В.Г.,
Радивилко А.С., Цепочкина А.В., Великанова Е.А.,
Корнелюк Р.А., Ивкин А.А.

Митохондриальная ДНК как кандидатный DAMP при критических состояниях

134

Долгих М.А., Болков М.А., Тузанкина И.А.,
Саркисян Н.Г., Овсепян Н.А.

Стоматологические проявления первичных иммунодефицитов

144

Евтеева И.А., Шигеев С.В.

О необходимости единого подхода к написанию судебно-медицинских экспертных выводов

155

Larkina M.S., Podrezova E.V., Bragina O.D.,
Tagirova E.A., Chernov V.I., Yusubov M.S.,
Nesterov E.A., Skuridin V.S., Krivoshebekov S.V.,
Yanovskaya E.A., Gurto R.V., Belousov M.V.

Development of a method for preparing octreotide derivative for diagnosis of neuroendocrine tumors

Myasoedova E.I.

Level of aurathrenomedullin in chronic heart failure of ischemic genesis: associations with clinical manifestations

Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Kolosov V.P., Perelman Ju.M.

The influence of smoking on the formation of airway hyperresponsiveness to cold and the course of destructive-cytological processes in the goblet cells of the bronchial epithelium in patients with asthma

Terekhov R.P., Selivanova I.A.

Molecular modeling of the interaction of the dihydroquercetin and its metabolites with cyclooxygenase-2

Cherdantsev D.V., Stroeve A.V., Mangalova E.S.,
Kononova N.V., Chubarova O.V.

The use of ridge regression for estimating the severity of acute pancreatitis

Shnayder M.A., Shirinsky V.S., Kalinovskaya N.Y.,
Shirinsky I.V.

Effect of DNA methylation modulators on the production of osteoprotegerin by rheumatoid fibroblast-like synoviocytes *in vitro*: their migration and invasion

REVIEWS AND LECTURES

Bragina O.D., Chernov V.I., Zeltchan R.V.,
Sinilkin I.G., Medvedeva A.A., Larkina M.S.

Alternative scaffolds in radionuclide diagnosis of malignancies

Grigoriev E.V., Salakhov R.R., Golubenko M.V.,
Ponosenko A.V., Shukevich D.L., Matveeva V.G.,
Radivilko A.S., Tsepokina A.V., Velikanova E.A.,
Kornelyuk R.S., Ivkin A.S.

Mitochondrial DNA as DAMP in critical conditions

Dolgikh M.A., Bolkov M.A., Tuzankina I.A.,
Sarkisyan N.G., Hovsepian N.A.

Oral manifestations of primary immunodeficiencies

Evtееva I.A., Shigeev S.V.

On the necessity of a single approach to written medical expert conclusions

Карданахишвили З.Б., Зулкарнаев А.Б.

Открытые и эндоваскулярные оперативные вмешательства при стенозе периферических отделов «фистульных» вен

Мерзликин Н.В., Комкова Т.Б., Цхай В.Ф., Сало В.Н., Навасардян В.Г., Нороева Т.А., Саруева А.П.

История развития криохирургии в Сибири

Новик Г.А., Халева Е.Г., Макарова С.Г., Жданова М.В.

Бронхиальная астма и ожирение у детей: что мы знаем?

Розенфельд И.И.

Осложнения и рецидивы после аллопластики больших и гигантских грыж пищеводного отверстия диафрагмы

Сергеева О.Н., Аксененко М.Б., Фефелова Ю.А., Сергеева Е.Ю., Руksha Т.Г.

Экспериментальные модели дерматологических заболеваний

Соколова Т.С., Федорова О.С., Салтыкова И.В., Петров В.А., Федотова М.М., Ковширина Ю.В., Деев И.А., Огородова Л.М.

Взаимодействие гельминтов и микробиоты кишечника: значение в развитии и профилактике хронических неинфекционных заболеваний

СЛУЧАЙ ИЗ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКИ

Аксененко М.Б., Аверчук А.С., Руksha Т.Г.

Сочетание мутаций генов *BRAF* и *NRAS* в пределах одной опухоли у пациентов с меланомой кожи

Дворецкий Л.И., Дядьков И.Н., Степанченко А.П., Дубровская Н.В.

Венозный тромбоз как первая манифестация распространенного опухолевого процесса (синдром Труссо)

Уфимцева М.А., Шубина А.С., Петкау В.В., Струин Н.Л., Емельянов Д.Е., Левченко Е.А.

Междисциплинарная модель ведения пациентов групп риска по возникновению злокачественных опухолей кожи

Янкина Г.Н., Горленко Л.В., Лошкова Е.В., Кондратьева Е.И., Тютеева Е.Ю., Терентьева А.А., Желев В.А., Михалев Е.В., Шемякина Т.А., Кривоногова Т.С., Рыжакова Н.А., Романова Е.В.

Месалазин-индуцированная эозинофильная пневмония у мальчика 15 лет с язвенным колитом

Kardanakhishvili Z.B., Zulkarnaev A.B.

Open and endovascular surgery for stenosis of the peripheral regions of arteriovenous fistula

Merzlikin N.V., Komkova T.B., Tskbay V.F., Salo V.N., Navasardyan V.G., Noroeva T.A., Sarueva A.P.

The history of the development of cryosurgery in Siberia

Novik G.A., Khaleva E.G., Makarova S.G., Zbdanova M.V.

Asthma and obesity in children: what do we know?

Rosenfeld I.I.

Complications and relapses after alloplasty of large and giant hernia of the esophageal aperture of the diaphragm

Sergeeva O.N., Aksenenko M.B., Fefelova Yu.F., Sergeeva E.Yu., Ruksba T.G.

Experimental models of dermatological diseases

Sokolova T.S., Fedorova O.S., Saltykova I.V., Petrov V.A., Fedotova M.M., Kovshirina Yu.V., Deev I.A., Ogorodova L.M.

Helminths and intestinal microbiota interaction: role in the development of noncommunicable diseases

CASE CLINICAL PRACTICE

Aksenenko M.B., Averbuch A.C., Ruksba T.G.

The combination of mutations in *BRAF* and *NRAS* genes within a one tumor in patients with cutaneous melanoma

Dvoretzky L.I., Dyadkov I.N., Stepanchenko A.P., Dubrovskaya N.V.

Venous thromboembolism as the first manifestation of disseminated malignancy (Trusso's syndrome)

Ufimtseva M.A., Shubina A.S., Petkau V.V., Struin N.L., Emel'jnov D.E., Levchenko E.A.

Interdisciplinary model of patient care for groups at risk for malignant tumors of the skin

Yankina G.N., Gorlenko L.V., Loshkova E.V., Kondratyeva E.I., Tuteva E.Yu., Terenteva A.A., Zbelev V.A., Mikhalev E.V., Shemyakina T.A., Krivonogova T.S., Ryzhakova N.A., Romanova E.V.

Mesalazin-induced eosinophilic pneumonia in a 15-year-old boy with ulcerative colitis

УДК 616.714-002-021.6.27-085.322.451.16:[582.991.1:582.711.71]

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-6-14>

Сравнительная оценка остеогенной активности и влияния на гемопоэтическую функцию красного костного мозга фракций экстрактов *Saussurea controversa* и *Filipendula ulmaria* при экспериментальном остеомиелите

Авдеева Е.Ю., Скороходова М.Г., Суходоло И.В., Порохова Е.Д., Слизовский Г.В., Муштоватова Л.С., Решетов Я.Е., Иванов С.Д., Белоусов М.В.

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

РЕЗЮМЕ

Цель работы – исследование влияния узких фракций биологически активных веществ соссуреи спорной и лабазника вязолистного на основные целевые показатели при экспериментальном остеомиелите: процессы регенерации костной ткани и гемопоэтическую функцию красного костного мозга.

Материалы и методы. В эксперименте использовали бутанольную, водную и элемент-органическую фракции соссуреи спорной; этилацетатную, бутанольную и водную фракции лабазника вязолистного, полученные методом жидкостной экстракции из этанольных экстрактов соответствующих растений с помощью органических растворителей. После моделирования остеомиелита правой бедренной кости у крыс и курсового лечения в течение 28 сут оценивали состояние костномозгового кроветворения и проводили морфологическое исследование пораженной конечности.

Результаты. Максимальную остеогенную активность проявили бутанольная фракция соссуреи спорной (в дозе 10 мг/кг), содержащая флавонолгликозиды, водная фракция (в дозе 80 мг/кг), содержащая в своем составе полисахариды, и элемент-органическая фракция (в дозе 10 мг/кг), представленная органическим кальцием. Водная фракция лабазника вязолистного (в дозе 50 мг/кг) проявила выраженную гемопоэтическую активность за счет стимуляции эритро-, грануло- и лимфопоэза в костном мозге крыс с экспериментальным остеомиелитом.

Ключевые слова: *Saussurea controversa* DC, *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., фракции, экспериментальный остеомиелит, миелограмма, морфологическое исследование.

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 ФГБОУ ВО СибГМУ (протокол № 4316 от 09.11.2015).

Для цитирования: Авдеева Е.Ю., Скороходова М.Г., Суходоло И.В., Порохова Е.Д., Слизовский Г.В., Муштоватова Л.С., Решетов Я.Е., Иванов С.Д., Белоусов М.В. Сравнительная оценка остеогенной активности и влияния на гемопоэтическую функцию красного костного мозга фракций экстрактов *Saussurea controversa* и *Filipendula ulmaria* при экспериментальном остеомиелите. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 6–14. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-6-14>.

УДК 616.714-002-021.6.27-085.322.451.16:[582.991.1:582.711.71]
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-6-14>

Comparative evaluation of osteogenic activity and the effect on hematopoietic function of bone marrow of fractions of *Saussurea controversa* and *Filipendula ulmaria* extracts in experimental osteomyelitis

Avdeeva E.Yu., Skorokhodova M.G., Sukhodolo I.V., Porokhova E.D., Slizovsky G.V.,
 Mushtovatova L.S., Reshetov Ya.E., Ivanov S.D., Belousov M.V.

Siberian State Medical University (SSMU)
 2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of the work was to study the effect of fractions from *Saussurea controversa* and *Meadowsweet* extracts on hemopoiesis and regeneration of bone tissue, which are the main target indicators in experimental osteomyelitis.

Materials and methods. In the experiment we used butanol, water and element-organic fractions from the *Saussurea controversa* extract as well as ethyl acetate, butanol and water fractions from the *Meadowsweet* extract, obtained by liquid extraction of the extracts from corresponding plants with the help of organic solvents. After modeling osteomyelitis of the right femur in rats and course treatment for 28 days, the state of bone marrow hemopoiesis was evaluated and morphological examination of the affected limb was performed.

Results. The butanol fraction (at a dose of 10 mg/kg) containing flavonol glycosides, the water fraction (at a dose of 80 mg/kg) containing polysaccharides in its composition and the element-organic fraction (at a dose of 10 mg/kg) represented by organic calcium showed the highest osteogenic activity in the *Saussurea controversa* extract. The water fraction from the *Meadowsweet* extract (at a dose of 50 mg/kg) demonstrated pronounced hemopoietic activity due to stimulating erythro-, granulo- and lymphopoiesis in the bone marrow of rats with experimental osteomyelitis.

Key words: *Saussurea controversa* DC, *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim, fractions, experimental osteomyelitis, a myelogram, morphological study.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at SSMU (Protocol No. 4316 of 09.11.2015).

For citation: Avdeeva E.Yu., Skorokhodova M.G., Sukhodolo I.V., Porokhova E.D., Slizovsky G.V., Mushtovatova L.S., Reshetov Ya.E., Ivanov S.D., Belousov M.V. Comparative evaluation of osteogenic activity and the effect on hematopoietic function of bone marrow of fractions of *Saussurea controversa* and *Filipendula ulmaria* extracts in experimental osteomyelitis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 6–14. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-6-14>.

ВВЕДЕНИЕ

Остеомиелит занимает третье место после травм и операций в структуре заболеваний опорно-двигательного аппарата. Несмотря на то, что основным этиологическим фактором является микробная контаминация, заболевание происходит

на фоне сенсibilизации организма и ослабления его иммунной защиты. При этом патогенез заболевания осложняется нарастающим воспалительным процессом, нарушением кровоснабжения и формирования зрелой костной ткани в очаге поражения [1]. Такая мультиплетность патогенетических факторов обуславливает сложность

лечения данной патологии и нередко приводит к инвалидизации. Лечение остеомиелита наряду с хирургическим вмешательством требует длительного применения ряда синтетических лекарственных препаратов, повышающих ксенобиотическую нагрузку на организм [2].

Для комплексного лечения остеомиелита целесообразно применение средств на основе активных компонентов растений, для которых характерны мультитаргетное действие и низкая токсичность. Так, японскими исследователями установлено стимулирующее влияние полисахаридов на процессы созревания внеклеточного коллагенового матрикса – важнейшего компонента для минерализации костной ткани [3]. Выявлена остеопротективная активность природных соединений полифенольной природы [4, 5], хелатных соединений кальция с органическими кислотами [6]. Ранее на модельном остеомиелите было выявлено, что экстракты сосюреи спорной и лабазника вязолистного самостоятельно и в сочетании с антибиотикотерапией способствуют уменьшению воспалительного процесса в очаге поражения, улучшают показатели иммунореактивности организма и перспективны для создания лекарственных средств профилактики и комплексной терапии гнойно-некротических поражений, в том числе остеомиелита [7].

Для разработки нормативной документации на сырье, обоснования технологии лекарственных форм и внедрения в официальную медицину перспективных кандидатов необходимо выявить носителей фармакологической активности указанных экстрактов. Поэтому цель настоящей

работы состояла в исследовании влияния узких фракций биологически активных соединений (БАС) сосюреи спорной и лабазника вязолистного на основные целевые показатели: гемопоэз и процессы регенерации костной ткани при экспериментальном остеомиелите.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали надземные части *Saussurea controversa* DC (далее *S.c.*) и *Fillipendula ulmaria* (L.) Maxim. (далее *F.u.*), собранные в фазу цветения в 2014 г. в Иркутской и Томской областях соответственно. Экстракцию сырья (40% *S.c.* и 70% *F.u.*) проводили методом трехкратной мацерации при нагревании до 80 °С этанолом в течение 30 мин. Извлечения концентрировали под вакуумом (50 °С) и конвективным способом высушивали экстракты до содержания влаги не более 5%. Выход экстрактов составил около 30%.

Полученные сухие экстракты растворяли в воде и фракционировали рядом растворителей с увеличивающейся полярностью (хлороформ, этилацетат, бутанол-1). При растворении экстракта *S.c.* выпал белый аморфный осадок – элемент-органическая фракция (ЭОФС). Полученные извлечения и водный остаток концентрировали под вакуумом и высушивали. В результате были получены фракции *S.c.* (хлороформная, этилацетатная, бутанольная (БФС), водная (ВФС)) и аналогичные фракции *F.u.* (хлороформная, этилацетатная (ЭАФЛ), бутанольная (БФЛ), водная (ВФЛ)). В дальнейшем исследовали фракции, выход которых превышал 1% от воздушно-сухого сырья (табл. 1).

Таблица 1
Table 1

Выход фракций <i>Saussurea controversa</i> и <i>Fillipendula ulmaria</i> (%) от сырья (1) и экстракта (2) Yield of fractions <i>Saussurea controversa</i> and <i>Fillipendula ulmaria</i> (%) from raw material (1) and extract (2)										
Вид сырья Type of raw material	Хлороформная фракция Chloroform fraction		Этилацетатная фракция Ethyl acetate fraction		Бутанольная фракция Butanol fraction		Водная фракция Water fraction		Элемент-органическая фракция Element-organic fraction	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
<i>S. controversa</i>	0,12	0,36	0,73	2,20	2,13	6,50	27,50	83,75	2,82	7,19
<i>F. ulmaria</i>	0,08	0,70	1,90	16,30	2,20	19,10	25,82	6,90	–	–

Исследование проводили на половозрелых самцах крыс линии Вистар ($n = 48$) массой 280–300 г. Остеомиелит правой бедренной кости моделировали в соответствии с ранее разработанным способом (патент № 2584402 от 21.04.2016).

Крыс распределяли на восемь групп. Группа 1 – интактные; группа 2 – с экспериментальным остеомиелитом (ЭО), без лечения; группа 3 – с

ЭО, леченные ЭОФС (10 мг/кг); группа 4 – с ЭО, леченные БФС (10 мг/кг); группа 5 – с ЭО, леченные ВФС (80 мг/кг); группа 6 – с ЭО, леченные ЭАФЛ (25 мг/кг); группа 7 – с ЭО, леченные БФЛ (25 мг/кг); группа 8 – с ЭО, леченные ВФЛ (50 мг/кг).

Фракции экстрактов растений вводили животным соответствующих групп в течение 28 сут вну-

трижелудочно в виде водной суспензии в объеме 2 мл с 7-х сут после проведения операции. Дозы фракций рассчитывали, исходя из их процентного содержания в эквивалентной дозе активного экстракта (100 мг/кг).

На 36-е сут при использовании CO_2 -асфиксии животных выводили из эксперимента. Состояние костномозгового кроветворения у крыс оценивали путем подсчета общего количества ядро-содержащих клеток (ОКК) на бедренную кость ($\times 10^6/\text{бедро}$) и анализа миелограмм, полученных из миелоидной ткани грудины. Для морфологического исследования пораженную кость декальцинировали по Гриппу, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Депарафинированные срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Проводили морфометрию в программе ImageJ1.5.

Статистическую обработку результатов проводили в программе SPSS 17.0. Рассчитывали параметры распределений: медиану Me , 25%-й (Q_1) и 75%-й квантили (Q_3). Для оценки статистической значимости различий применяли непараметрический критерий Манна – Уитни. Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате развития экспериментального остеомиелита в костном мозге крыс, не получавших лечения, наблюдали характерную для данной патологии картину: уменьшение общего количества миелокариоцитов, угнетение эритроидного роста, резкое уменьшение количества гранулоцитов и лимфоцитов (табл. 2). В группах крыс, получавших лечение, в той или иной мере происходило улучшение показателей костномозгового кроветворения, но эффективность воздействия была различна. Так, достоверное увеличение ОКК наблюдали лишь в четырех группах животных, получавших ЭОФС, БФС, ЭАФЛ и ВФЛ. Причем ВФЛ (группа 8) нормализовала этот показатель в большей степени, на 53%. В группе 8 данное изменение происходило за счет достоверного увеличения количества молодых и зрелых форм эритроидного и гранулоцитарного рядов до показателей в интактной группе. ВФЛ так же достоверно увеличивала лимфопоэз в 2 раза по сравнению с группой 2 (без лечения). Таким образом, этанольный экстракт *F.u.* проявляет выраженную гемопоэтическую активность за счет биологически активных веществ, сосредоточенных в ВФЛ.

Таблица 2
Table 2

Клеточность костного мозга крыс с экспериментальным остеомиелитом после введения фракций <i>Saussurea controversa</i> и <i>Fillipendula ulmaria</i> Bone-marrow cellularity in rats with experimental osteomyelitis after introducing the <i>Saussurea controversa</i> and <i>Fillipendula ulmaria</i> fractions								
Показатель Indicator	Количество клеток, $\times 10^6$ на бедро, $n = 6$, $Me [Q_1; Q_3]$							
	Группа 1 (интактные) Group 1 (intact)	Группа 2 (ЭО) Group 2 (EO)	Группа 3 (ЭОФС) Group 3 (EOFS)	Группа 4 (БФС) Group 4 (BFS)	Группа 5 (ВФС) Group 5 (WFS)	Группа 6 (ЭАФЛ) Group 6 (EAF)	Группа 7 (БФЛ) Group 7 (BFL)	Группа 8 (ВФЛ) Group 8 (WFL)
ОКК NC	91,50 [90,25; 92,75]	57,07 ¹ [53,52; 64,07]	69,50 ² [67,25; 78,90]	66,50 ² [62,50; 76,00]	64,75 [57,12; 68,00]	72,10 ² [66,50; 78,60]	60,65 [50,45; 61,00]	88,30 ² [76,42; 90,20]
Эритробласты Erythroblasts	0,46 [0,46; 0,69]	0,00 ¹ [0,00; 0,14]	0,18 [0,00; 0,63]	0,00 ¹ [0,00; 0,35]	0,00 ¹ [0,00; 0,24]	0,36 ¹ [0,00; 0,36]	0,29 [0,00; 0,72]	0,43 [0,00; 0,85]
Пронормобласты Pronormoblasts	2,74 [1,24; 4,22]	0,28 ¹ [0,00; 0,98]	0,54 ¹ [0,36; 0,72]	0,35 ¹ [0,00; 1,03]	0,33 ¹ [0,16; 0,33]	0,73 [0,54; 1,27]	0,57 [0,43; 1,43]	1,28 [0,85; 1,49]
Базофильные нормобласты Basophilic normoblasts	4,58 [4,58; 5,71]	1,12 ¹ [0,56; 3,36]	1,98 [1,53; 3,78]	2,76 [2,07; 3,96]	1,30 [0,97; 1,95]	4,35 [2,90; 4,53]	2,87 [1,58; 4,59]	4,25 ² [2,97; 5,52]
Полихроматофильные нормобласты Rubricytes	11,90 [11,44; 15,10]	5,60 ¹ [2,66; 7,28]	7,20 ¹ [5,85; 9,96]	8,97 ^{1,2} [6,90; 9,66]	3,90 ¹ [2,92; 7,48]	8,70 ² [6,89; 11,24]	6,89 ¹ [4,59; 8,03]	11,05 ² [7,22; 12,75]
Оксифильные нормобласты Oxyphilic normoblasts	9,61 [8,46; 12,80]	5,04 [3,43; 8,75]	13,32 ² [8,14; 16,20]	6,90 [5,17; 6,90]	9,43 [6,83; 11,05]	9,06 [6,16; 14,50]	6,89 [3,73; 8,90]	12,75 ² [8,50; 12,75]
Митозы эритроидного ряда Erythroid mitoses	1,14 [0,92; 2,06]	0,28 ¹ [0,00; 0,56]	0,54 [0,36; 0,99]	0,69 [0,17; 1,38]	0,33 [0,00; 1,14]	1,45 [0,36; 2,17]	0,86 [0,28; 1,15]	1,70 ² [1,06; 1,70]
Всего эритрокариоцитов Total number of eryth- rokaryocytes	31,12 [22,85; 35,00]	13,72 ¹ [7,42; 16,38]	23,76 ² [18,49; 30,03]	19,33 ² [15,35; 21,22]	14,64 [11,39; 21,96]	27,55 ² [20,12; 29,37]	21,52 [11,34; 22,53]	30,60 ² [22,95; 33,15]

Окончание табл. 2

End of table 2

Показатель Indicator	Количество клеток, $\times 10^6$ на бедро, $n = 6$, $Me [Q_1; Q_3]$							
	Группа 1 (интактные) Group 1 (intact)	Группа 2 (ЭО) Group 2 (EO)	Группа 3 (ЭОФС) Group 3 (EOFS)	Группа 4 (БФС) Group 4 (BFS)	Группа 5 (ВФС) Group 5 (WFS)	Группа 6 (ЭАФЛ) Group 6 (EAFB)	Группа 7 (БФЛ) Group 7 (BFB)	Группа 8 (ВФЛ) Group 8 (WFB)
Миелобласты Myeloblasts	1,47 [0,46; 1,83]	0,56 [0,28; 0,56]	0,54 [0,09; 0,72]	0,30 [0,00; 0,52]	0,33 [0,00; 0,49]	0,50 [0,00; 1,09]	1,15 [0,43; 1,30]	0,50 [0,00; 1,06]
Промиелоциты Promyelocytes	2,29 [1,14; 4,12]	1,12 [0,84; 1,12]	1,80 [1,17; 3,24]	1,73 ² [1,38; 1,90]	1,30 [0,81; 1,96]	2,90 ² [1,81; 3,26]	2,30 ² [1,43; 4,30]	2,55 ² [1,70; 3,82]
Миелоциты Myelocytes	3,66 [2,97; 4,34]	1,68 ¹ [0,56; 2,24]	3,60 ² [2,52; 3,60]	2,07 ¹ [1,38; 2,07]	1,96 ¹ [1,30; 2,12]	3,63 [2,18; 5,44]	3,44 ² [2,58; 4,30]	3,40 ² [3,40; 4,46]
Метамиелоциты Metamyelocytes	4,58 [4,12; 5,26]	1,96 ¹ [1,96; 3,42]	3,60 [3,06; 4,68]	3,45 ² [3,10; 4,83]	3,36 [2,94; 4,62]	3,63 [2,90; 6,52]	5,17 ² [4,59; 5,74]	5,95 ² [5,10; 7,65]
Палочкоядерные нейтрофилы Band neutrophils	9,61 [9,15; 14,63]	8,40 [8,12; 10,08]	8,28 [5,58; 9,90]	10,36 [6,90; 11,38]	5,87 ¹ [4,89; 6,20]	5,80 [5,44; 9,42]	6,31 ¹ [4,59; 8,61]	8,50 [6,37; 10,62]
Сегментоядерные нейтрофилы Segmented neutrophils	11,90 [10,06; 16,93]	7,00 [5,60; 10,64]	12,60 [9,18; 14,40]	11,04 [7,24; 12,76]	13,04 ² [11,41; 15,00]	13,05 [7,95; 13,77]	8,61 ¹ [6,60; 8,61]	14,88 ² [12,32; 15,94]
Эозинофилы (все генерации) Eosinophils (all gener- ations)	2,75 [1,83; 4,57]	2,80 [1,26; 3,36]	3,42 [1,53; 4,77]	2,76 [2,07; 4,31]	1,96 [1,30; 3,15]	2,90 [1,63; 3,81]	1,72 [1,43; 2,15]	2,55 [1,91; 3,40]
Митозы миелоидного ряда Myeloid mitoses	0,46 [0,11; 1,48]	0,56 [0,14; 0,70]	0,36 [0,36; 0,36]	0,37 [0,17; 0,69]	0,65 [0,16; 1,14]	0,73 [0,18; 0,73]	0,29 [0,14; 0,57]	0,21 [0,00; 0,74]
Всего гранулоцитов Total number of granu- locytes	39,79 [35,23; 45,76]	24,72 ¹ [21,28; 29,28]	33,48 [27,09; 38,79]	32,78 [25,20; 35,02]	29,21 [25,62; 31,50]	33,36 ² [31,19; 34,63]	29,84 [24,54; 32,43]	39,53 ² [34,43; 43,14]
Моноциты Monocytes	4,58 [3,89; 5,95]	1,96 ¹ [1,68; 3,36]	2,16 [1,44; 3,69]	2,07 ¹ [1,21; 3,10]	1,30 ¹ [0,98; 2,93]	2,17 ¹ [1,09; 2,17]	1,15 ¹ [0,86; 3,15]	1,70 ¹ [1,27; 2,55]
Мегакариоциты Megakaryocytes	0,00 [0,00; 0,34]	0,56 [0,00; 1,40]	0,18 [0,00; 1,71]	0,69 [0,69; 1,20]	0,65 [0,65; 1,95]	0,00 [0,00; 0,72]	0,57 [0,43; 0,86]	0,00 [0,00; 1,27]
Лимфоциты Lymphocytes	15,55 [13,26; 18,52]	8,40 ¹ [5,39; 10,36]	10,80 ¹ [7,92; 11,52]	15,52 ² [11,47; 22,42]	15,00 ² [11,24; 21,35]	8,85 ¹ [7,98; 12,33]	8,61 ¹ [4,02; 9,18]	17,00 ² [11,90; 18,27]
Плазмоциты Plasmacytes	0,92 [0,23; 1,37]	1,40 [0,98; 3,22]	1,26 [0,54; 3,60]	0,69 [0,17; 1,72]	0,65 [0,00; 1,47]	1,45 [0,73; 2,90]	0,57 [0,29; 1,72]	0,43 [0,00; 2,55]
Ретикулоциты Reticulocytes	1,60 [0,68; 1,83]	2,24 [0,84; 2,52]	1,44 [0,90; 1,44]	0,69 [0,34; 1,38]	0,65 [0,65; 1,30]	0,36 [0,00; 0,36]	0,29 [0,00; 0,86]	0,43 [0,00; 1,27]
Индекс созревания эритрокариоцитов Maturation index of erythrokaryocytes	0,69	0,77	0,86	0,82	0,91	0,64	0,64	0,78
Индекс созревания нейтрофилов Maturation index of neutrophils	0,48	0,31	0,43	0,34	0,35	0,54	0,73	0,51
Лейкоэритробласти- ческое отношение Leycoerythroblastic ratio	1,97	2,55	1,95	2,60	3,10	1,61	1,84	1,90

Примечание. Здесь и в табл. 3: ЭО – экспериментальный остеомиелит; ЭОФС – элементарно-органическая фракция; БФС – бутанольная фракция *Saussurea controversa*; ВФС – водная фракция *Saussurea controversa*; ЭАФЛ – этилацетатная *Fillipendula ulmaria*; БФЛ – бутанольная фракция *Fillipendula ulmaria*; ВФЛ – водная фракция *Fillipendula ulmaria*; ОКК – ядро-содержащие клетки.

^{1, 2, 3} $p \leq 0,05$ в сравнении с группами 1, 2 и 3 соответственно (здесь и в табл. 3).

Note. Here and in Table 3: EO – experimental osteomyelitis; EOFS – element-organic fraction from *Saussurea controversa*; BFS – butanol fraction from *Saussurea controversa*; WFS – water fraction from *Saussurea controversa*; EAFB – ethyl acetate fraction from *Fillipendula ulmaria*; BFB – butanol fraction from *Fillipendula ulmaria*; WFB – water fraction from *Fillipendula ulmaria*; NC – nuclear cells.

^{1, 2, 3} $p \leq 0,05$ as opposed to groups 1,2 and 3, respectively (here and in Table 3).

Фракции *S.c.* проявили несколько меньшую терапевтическую активность, чем ВФЛ. Увеличение ОКК наблюдали только в группах, получавших ЭОФС и БФС, на 16–20% за счет достоверного увеличения общего количества эритрокариоцитов и тенденции к увеличению – гранулоцитов. Нормализация числа лимфоцитов отмечена в группах 4 и 5, получавших БФС и ВФС. Таким образом, не удалось выделить фракцию экстракта *S.c.*, обеспечивающую гемопоэтическую активность, все фракции в равной степени имеют тенденцию к активности, но в гораздо меньшей степени, чем фракция *F.u.* (ВФЛ).

При морфологическом исследовании костные трабекулы и костный мозг интактных крыс (группа 1) имели нормальное строение, отмечалось незначительное количество грануляционной ткани, единичные участки незрелой костной ткани. У животных без лечения (группа 2) отмечали признаки выраженного воспаления. В костномозговых пространствах – лейкоцитарную инфильтрацию и гиперемии сосудов, некроз и аутолиз костных пластинок с образованием секвестров. Наряду с признаками воспаления в кости отмечались слабо выраженные признаки регенерации. В группах

крыс, получавших терапию (группы 3–8), по сравнению с нелечеными животными интенсивность воспалительных процессов была снижена. Отмечались признаки регенерации кости: активация эндоста, периоста, появление остеобластических «почек», формирование грануляционной ткани, увеличивалось количество незрелой костной ткани.

При наблюдении морфологической картины в группе крыс с ЭО без лечения (группа 2) происходило сокращение удельной площади незрелой и зрелой костной ткани при одновременном увеличении плотности распределения остеобластов, что свидетельствовало об активации регенеративной способности костной ткани в условиях патологии. Но в то же время процесс резорбции происходил несколько быстрее, чем процесс регенерации, что не способствовало формированию полноценной зрелой костной ткани в сравнении с интактной группой (табл. 3). Таким образом, процессы деструкции костной ткани в острую фазу заболевания, вызванные нарушением микроциркуляции в очаге, повышением внутрикостной гипертензии, воспалением и нагноением, не позволили достичь баланса с процессами регенерации костных структур.

Таблица 3
Table 3

Характеристика костной ткани крыс с экспериментальным остеомиелитом после введения фракций *Saussurea controversa* и *Fillipendula ulmaria*
Characterostocs of the bone tissue in rats with experimental osteomyelitis after introducing *Saussurea controversa* and *Fillipendula ulmaria*

Показатель	Группа исследования, n = 6, Me [Q ₁ ; Q ₃]							
	Группа 1 (интактные) Group 1 (intact)	Группа 2 (ЭО) Group 2 (EO)	Группа 3 (ЭОФС) Group 3 (EOFS)	Группа 4 (БФС) Group 4 (BFS)	Группа 5 (ВФС) Group 5 (WFS)	Группа 6 (ЭАФЛ) Group 6 (EAFB)	Группа 7 (БФЛ) Group 7 (BFB)	Группа 8 (ВФЛ) Group 8 (WFB)
Удельная площадь, мкм ² /мкм ² Specific area of, mcm ² /mcm ²								
зрелой костной ткани trabecular bone tissue	0,426 [0,413; 0,448]	0,361 ¹ [0,333; 0,420]	0,426 ² [0,400; 0,453]	0,423 ² [0,406; 0,441]	0,405 [0,388; 0,429]	0,385 [0,331; 0,380]	0,362 [0,349; 0,420]	0,379 [0,332; 0,405]
незрелой костной ткани nonlamellar bone	0,051 [0,041; 0,053]	0,034 [0,031; 0,063]	0,102 ^{1, 2} [0,095; 0,112]	0,118 ^{1, 2} [0,100; 0,128]	0,104 ^{1, 2} [0,094; 0,108]	0,063 [0,048; 0,083]	0,091 ^{1, 2} [0,082; 0,098]	0,089 ^{1, 2} [0,071; 0,097]
грануляционной ткани granulation tissue	0,005 [0,004; 0,007]	0,007 [0,005; 0,011]	0,018 ^{1, 2} [0,015; 0,021]	0,019 ^{1, 2} [0,017; 0,021]	0,017 ² [0,016; 0,019]	0,024 ^{1, 2} [0,022; 0,029]	0,022 ^{1, 2} [0,017; 0,024]	0,020 ^{1, 2} [0,016; 0,024]
активных остеобластов active osteoblasts	0,00127 [0,00088; 0,00185]	0,00350 ¹ [0,00302; 0,00497]	0,00765 ^{1, 2} [0,00565; 0,00865]	0,01045 ^{1, 2} [0,00947; 0,01187]	0,00860 ² [0,00772; 0,01047]	0,00835 ^{1, 2} [0,00642; 0,01000]	0,00925 ^{1, 2} [0,00757; 0,01010]	0,00765 ^{1, 2} [0,00635; 0,00997]
Плотность распре- деления активных остеобластов, клетка/мм ² Density distribution of active osteoblasts, cell/mm ²	8,016 [4,928; 10,973]	26,547 ¹ [20,996; 33,644]	46,918 ^{1, 2} [40,741; 56,999]	94,099 ^{1, 2, 3} [79,446; 103,736]	63,232 ^{1, 2} [54,475; 82,337]	47,391 ^{1, 2} [37,127; 63,675]	69,654 ^{1, 2} [56,996; 81,811]	60,426 ^{1, 2} [46,852; 68,600]

Такая ситуация способствует переходу в хроническую стадию, несмотря на включение механизмов местной и общей системы гомеостаза [1].

В группах 3–5, получавших фракции *S.c.*, наблюдали качественное усиление регенерации, преобладающей над процессами резорбции, приводящей к формированию зрелых костных структур. Наиболее мощная активация регенераторных процессов наблюдалась в группах, получавших БФС и ВФС (группы 4–5), что подтверждается многократным увеличением удельной площади активных остеобластов, незрелой костной ткани и грануляционной ткани в сравнении с интактной группой и животными без лечения (группа 2). Максимальной активностью обладает БФС, применение которой способствовало повышению плотности распределения активных остеобластов в сравнении с нелечеными животными в 3,6 раза, а интактными – в 11,7 раз. При этом стимулирование регенераторных процессов было достаточным для своевременного формирования зрелой костной ткани, ее удельная площадь достигла соответствующего значения в интактной группе. Несмотря на то, что ЭОФС (группа 3) стимулировала остеобласты в меньшей степени, удельная площадь зрелой костной ткани в этой группе была максимальной. Вероятно, этот процесс обеспечен высоким содержанием ионов кальция (до 30%) во фракции в виде комплексного соединения с компонентом органической природы [8], необходимым элементом для формирования зрелых костных структур.

В группах крыс, получавших фракции *F.u.*, тоже происходила активация остеогенной активности, более выраженная в группе 7 (БФЛ). Об этом свидетельствует достоверное увеличение удельной площади активных остеобластов, незрелой костной и грануляционной ткани, плотности распределения активных остеобластов в сравнении с группой крыс, не получавших лечения. Но эти процессы были недостаточны для своевременного формирования зрелой костной ткани в зоне поражения.

Таким образом, фракции *S.c.* проявляют большую остеогенную активность, нежели фракции *F.u.* И в первом, и во втором случае данный вид активности обеспечивают фенольные компоненты бутанольных фракций. Бутанольная фракция *S.c.* преимущественно содержит пять гликозидов кверцетина, которые в комплексе обладают остеогенной активностью [9]. Стоит отметить, что в БФЛ также содержится большое количество флавонолгликозидов и галловой кислоты [10]. Интерес к пои-

ску БАС растений с остеогенной активностью возрос в последние годы среди иностранных ученых. Было выявлено повышение активности остеобластов при воздействии соединений со сходным строением [4, 11]. Таким образом, среди широкого спектра общеизвестных видов биологической активности полифенолов (капилляропротекторной, противовоспалительной, иммуностроительной, антиоксидантной и др.) можно говорить о новой, малоизученной присущей им остеогенной активности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые на экспериментальной модели остеомиелита проведено сравнительное исследование остеопротективного действия узких фракций биологически активных веществ *Saussurea controversa* DC и *Fillipendula ulmaria* (L.) Maxim., различающихся по химическому составу. Максимальную остеогенную активность проявляет бутанольная фракция, преимущественно содержащая флавонолгликозиды, несколько меньшую активность – водная фракция, содержащая в том числе полисахариды, и элемент-органическая фракция, представленная хелатным соединением кальция. Остеогенное действие этанольного экстракта *Saussurea controversa* на костную ткань обуславливает комплекс БАС: флавонолгликозиды, полисахариды и органические соединения кальция, входящие в его состав. Биологически активные соединения водной фракции *Fillipendula ulmaria* эффективно стимулируют гемopoэтическую функцию красного костного мозга крыс с модельным остеомиелитом.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Цыбин А.А. Новый подход в лечении остеомиелита. Доклады Академии наук. 2008; 419 (3): 425–429. [Tsybin A.A. A new approach to treatment of osteomyelitis. Reports of the Academy of Sciences. 2008; 419 (3): 425–429 (in Russ.)].
2. Шевцов В.И., Попова Л.А., Лапынин А.И. Проблема лечения хронического остеомиелита (обзор литературы). Гений ортопедии. 2009; 1: 116–120. [Shevtsov V.I., Popova L.A., Lapynin A.I. On the problem of chronic osteomyelitis treatment (review of literature). Genius of Orthopedics. 2009; 1: 116–120 (in Russ.)].
3. Aoshima Y., Hasegawa Y., Hasegawa S., Nagasaka A., Kimura T., Hashimoto S., Torii Y., Tsukagoshi N. Isolation of GnafC, a polysaccharide constituent of Gnaphalium affine, and synergistic effects of GnafC and ascorbate on the phenotypic expression of osteoblastic MC3T3-E1 cells. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 2003; 67 (10): 2068–2074. DOI: 10.1271/bbb.67.2068.

4. Yamamoto N., Tokuda H., Kuroyanagi G., Kainuma S., Ohguchi R., Fujita K., MatsushimaNishiwaki R., Kozawa O., Otsuka T. Amplification by (-)-epigallocatechin gallate and chlorogenic acid of TNF- α -stimulated interleukin-6 synthesis in osteoblasts. *International Journal of Molecular Medicine*. 2015; 36: 1707–1712. DOI: 10.3892/ijmm.2015.2381.
5. Xie F., Wu C.-F., Lai W.-P., Yang X.-J., Cheung P.-Y., Yao X.-S., Leung P.-C., Wong M.-S. The osteoprotective effect of Herba epimedii (HEP) extract *in vivo* and *in vitro*. *Evid. Based Complement Alternat. Med.* 2005; 2 (3): 353–361. DOI: 10.1093/ecam/neh101.
6. Adluri R.S., Zhan L., Bagchi M., Maulik N., Maulik G. Comparative effects of a novel plant-based calcium supplement with two common calcium salts on proliferation and mineralization in human osteoblast cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 2010; 340 (1-2): 73–80. DOI: 10.1007/s11010-010-0402-0.
7. Перевозчикова Т.В., Авдеева Е.Ю., Файт Е.А., Скороходова М.Г., Краснов Е.А. Влияние экстрактов *Saussurea controversa* и *Filipendula ulmaria* на иммунологическую реактивность крыс с экспериментальным остеомиелитом. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2016; 79 (7): 16–20. [Perevozchikova T.V., Avdeeva E.Yu., Fayt E.A., Skorokhodova M.G., Krasnov E.A. The effect of extracts from *Saussurea controversa* and *Filipendula ulmaria* on immunological reactivity of rats with experimental osteomyelitis. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2016; 79 (7): 16–20 (in Russ.)]. DOI: 10.30906/0869-2092-2016-79-7-16-20.
8. Avdeeva E.Yu., Krasnov E.A., Shults E.E., Reshetov Y.E. Study element-organic fraction of *Saussurea controversa* DC extract. 12th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds; Tashkent, 2017; September 7–8: 355.
9. Avdeeva E., Shults E., Skorokhodova M., Reshetov Ya., Porokhova E., Sukhodolo I., Krasnov E., Belousov M. Flavonol glycosides from *Saussurea controversa* and their efficiency in experimental osteomyelitis. *Planta Medica International Open*. 2018; 5: e24–29. DOI: 10.1055/s-0044-100799.
10. Шилова И.В., Семенов А.А., Суслов Н.И., Короткова Е.И., Вторушина А.Н., Белякова В.В. Химический состав и биологическая активность фракции экстракта лабазника вязолистного. *Химико-фармацевтический журнал*. 2009; 43 (4): 7–11. [Shilova I.V., Semenov A.A., Suslov N.I., Korotkova E.I., Vtorushina A.N., Belyakova V.V. Chemical composition and biological activity of the *Filipendula ulmaria* extract. *Chemical-pharmaceutical Journal*. 2009; 43 (4): 7–11 (in Russ.)]. DOI: 10.30906/0023-1134-2009-43-4-7-11.
11. Shou D., Zhang Y., Shen L., Zheng R., Huang X., Mao Z., Yu Z., Wang N., Zhu Y. Flavonoids of herba epimedii enhances bone repair in a rabbit model of chronic osteomyelitis. During post-infection treatment and stimulates osteoblast proliferation *in vitro*. *Phytotherapy Research*. 2017; 31 (2): 330–339. DOI: 10.1002/ptr.5755.

Вклад авторов

Авдеева Е.Ю. – разработка концепции и дизайна исследования, анализ и интерпретация данных, написание статьи. Белоусов М.В. – проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Суходоло И.В., Порохова Е.Д. – проведение морфологического исследования, анализ данных. Скороходова М.Г. – исследование гемопоэтической функции красного костного мозга. Авдеева Е.Ю., Слизовский Г.В., Муштоватова Л.С., Решетов Я.Е., Иванов С.Д. – проведение основных этапов эксперимента.

Authors contribution

Avdeeva E.Yu. – conception and design of the study, drafting of the manuscript. Belousov M.V. – critical revision of important intellectual content, final approval of the manuscript for publication. Sukhodolo I.V., Porokhova E.D. – carrying out of the morphological investigation, analysis of the data. Skorokhodova M.G. – investigation of the hemopoietic function of the bone marrow. Avdeeva E.Yu., Slizovsky G.V., Mushtovatova L.S., Reshetov Ya. E., Ivanov S.D. – carrying out of the key stages of the experiment.

Сведения об авторах

Авдеева Елена Юрьевна, канд. фарм. наук, доцент, кафедра фармацевтического анализа, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-7061-9843.

Скороходова Марина Геннадьевна, канд. биол. наук, доцент, кафедра патологической физиологии, СибГМУ, г. Томск.

Суходоло Ирина Владимировна, д-р биол. наук, профессор, зав. кафедрой морфологии и общей патологии,

Authors information

Avdeeva Elena Yu., PhD, Division of Pharmaceutical Analysis, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-7061-9843.

Skorokhodova Marina G., PhD, Division of Pathological Physiology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Sukhodolo Irina V., DM, Professor, Head of the Division of Morphology and General Pathology, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-9848-2068.

СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-9848-2068.

Порохова Екатерина Даниловна, студент, медико-биологический факультет СибГМУ, г. Томск.

Слизовский Григорий Владимирович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой детских хирургических болезней, СибГМУ, г. Томск.

Муштоватова Людмила Степановна, канд. биол. наук, доцент, кафедра микробиологии и вирусологии, СибГМУ, г. Томск.

Решетов Ярослав Евгеньевич, аспирант, кафедра фармацевтического анализа, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-9624-8013.

Иванов Станислав Дмитриевич, ординатор, кафедра детских хирургических болезней, СибГМУ, г. Томск.

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

(✉) **Авдеева Елена Юрьевна**, e-mail: elenaavdeev@yandex.ru.

Porokhova Ekaterina D., Division of Morphology and General Pathology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Slizovsky Grigoriy V., DM, Professor, Division of Pediatric Surgical Diseases, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Mushtovatova Ludmila S., PhD, Division of Microbiology and Virology, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Reshetov Yaroslav E., Division of Pharmaceutical Analysis, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Ivanov Stanislav D., Division of Pediatric Surgical Diseases, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-9624-8013.

Belousov Mikhail V., DM, Professor, Head of the Division of Pharmaceutical Analysis, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

(✉) **Avdeeva Elena Yu.**, e-mail: elenaavdeev@yandex.ru.

Received 16.05.2018

Accepted 27.03.2019

Поступила в редакцию 16.05.2018

Подписана в печать 27.03.2019

Роль линолевой кислоты в окислительном повреждении гемоглобина при цитомегаловирусной инфекции в период беременности

Андриевская И.А., Ишутина Н.А.

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания (ДНЦ ФПД)
Россия, 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

РЕЗЮМЕ

Цель – оценить влияние линолевой кислоты на окислительное повреждение гемоглобина в эритроцитах крови беременных при цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекции в первом триместре.

Материалы и методы. В исследование включены 55 ЦМВ-серопозитивных беременных на сроке 8–11 нед в возрасте ($24,7 \pm 0,18$) года: 20 с обострением цитомегаловирусной инфекции и 35 с латентным течением заболевания. Группу контроля составили 20 ЦМВ-серонегативных беременных, сопоставимые по возрасту и сроку беременности с группой беременных с ЦМВ инфекцией. Исследовали содержание линолевой кислоты, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и метгемоглобина в эритроцитах крови спектрофотометрическим методом. Глутатион в эритроцитах крови определяли гистохимическим методом, общее количество гемоглобина – на автоматическом гематологическом анализаторе, пероксид водорода в сыворотке крови – иммуноферментным методом.

Результаты. При цитомегаловирусной инфекции отмечается повышение показателей экзогенного пероксида водорода и линолевой кислоты в эритроцитах крови беременных. Они в период обострения заболевания в первом триместре беременности вызывают окислительную модификацию и снижение уровня не только супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и глутатиона, участвующих в процессах редокс-регулируемого тиол-дисульфидного обмена эритроцитов, но и гемоглобина с образованием высокого количества метгемоглобина, способствуя снижению кислородного метаболизма и развитию гемической гипоксии. При латентном течении заболевания окислительное повреждение гемоглобина в эритроцитах крови беременных нивелируется увеличением активности редокс-ферментов, что поддерживает кислородный гомеостаз на необходимом для развития беременности уровне.

Ключевые слова: беременность, цитомегаловирусная инфекция, гемоглобин, линолевая кислота, окислительный стресс.

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. Все беременные подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом при ДНЦ ФПД (протокол № 130 от 05.06.2018).

Для цитирования: Андриевская И.А., Ишутина Н.А. Роль линолевой кислоты в окислительном повреждении гемоглобина при цитомегаловирусной инфекции в период беременности. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 15–20. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-15-20>.

УДК 616.155.194-022.913:547.395.4:[616.9:578.825.12]:618.2
[https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2019-3-15-20](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-15-20)

The role of linoleic acid in oxidative damage of hemoglobin due to cytomegalavirus infection during pregnancy

Andrievskaya I.A., Ishutina N.A.

Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology
22, Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation

ABSTRACT

The goal is to study the mechanisms of linoleic acid-dependent oxidative damage to hemoglobin in blood erythrocytes of pregnant women with cytomegalavirus (CMV) infection during the first trimester.

Materials and methods. The study included 55 CMV-seropositive pregnant women at 8–11 weeks pregnant, aged $24,7 \pm 0,18$ years. 20 women had exacerbated cytomegalavirus infection and in 35 women a latent course of the disease was observed. The control group consisted of 20 CMV-seronegative pregnant women, comparable in age and gestational age with the group of pregnant women with cytomegalavirus infection. The levels of linoleic acid, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and methemoglobin in the blood were studied by the spectrophotometry. Glutathione was determined by histochemical methods, the total amount of hemoglobin was measured using the automatic hematological analyzer, and hydrogen peroxide level was calculated by enzyme immunoassay.

Results. In cytomegalavirus infection, an increase in the indices of exogenous hydrogen peroxide and linoleic acid in blood erythrocytes of pregnant women is observed. During the period of acute disease in the first trimester of pregnancy it causes oxidative modification and a decrease in the level of not only superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione, the processes involved in the redox regulation of thiol-disulfide exchange of erythrocytes, but also hemoglobin with formation of large amount of methemoglobin, which contributes to reduction of oxygen metabolism and development of hemic hypoxia. In the latent course of the disease, the oxidative damage to hemoglobin in the erythrocytes of pregnant women is mitigated by the increase in the activity of redox enzymes, which maintains oxygen homeostasis at the level necessary for the development of pregnancy.

Key words: pregnancy, cytomegalavirus infection, hemoglobin, linoleic acid, oxidative stress.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. All pregnant women signed informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at the Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology (Protocol No. 130 of 05.06.2018).

For citation: Andrievskaya I.A., Ishutina N.A. The role of linoleic acid in oxidative damage of hemoglobin due to cytomegalavirus infection during pregnancy. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 15–20. [https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2019-3-15-20](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-15-20).

ВВЕДЕНИЕ

Окислительный стресс вирусной этиологии приводит к развитию анемии и сопутствующей ей гемической гипоксии, пролонгирующей осложнения беременности ранних сроков [1, 2], что связывают с повышением циркуляции лег-

ко окисляемых свободных полиненасыщенных жирных кислот [3]. Линолевая кислота является триггерным компонентом в процессах липопероксидации, действуя как самостоятельно, так и в сочетании с реактивными формами кислорода [4]. Доказано, что ее введение *in vivo* в эксперименте усиливает окислительное повреждение и

гемолиз эритроцитов [5]. Также показано опосредованное участие линолевой кислоты в модуляции окислительно-восстановительных реакций и редокс-потенциала в эритроцитах при окислении белков гема [5]. Последнее сопряжено с развитием анемии, что критично для беременности в ранние сроки на фоне обострения цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекции. Несмотря на представленные доводы, необходимы дополнительные исследования, раскрывающие роль линолевой кислоты в окислительном повреждении эритроцитов и гемоглобина в крови беременных при ЦМВ инфекции.

Цель – оценить влияние линолевой кислоты на окислительное повреждение гемоглобина в эритроцитах крови беременных при ЦМВ инфекции в первом триместре.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 55 ЦМВ-серопозитивных беременных на сроке 8–11 нед в возрасте ($24,7 \pm 0,18$) года: 20 с обострением ЦМВ инфекции (подгруппа 1) и 35 с латентным течением заболевания (подгруппа 2). Группу контроля составили 20 ЦМВ-серонегативных беременных, сопоставимые по возрасту ($25,2 \pm 0,38$) года и сроку беременности с группой беременных с ЦМВ инфекцией.

В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных исследований с участием человека» с поправками 2013 г. и правилам клинической практики в РФ, утвержденными приказом Министерства РФ № 200н от 1 апреля 2016 г.

У всех беременных для диагностики ЦМВ инфекции выполнялись молекулярно-биологические (выявление ДНК методом полимеразной цепной реакции в крови, моче, букальном эпителии и слизистой шейки матки (ООО «НПО ДНК-технология», г. Москва)) и иммуноферментные исследования (типоспецифические антитела (иммуноглобулины, Ig) класса М и G в сыворотке крови, индекс авидности) (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск).

Метилловые эфиры жирных кислот в эритроцитах крови получали методом кислого метанолиза [6]. Определение эфиров жирных кислот проводили на газовом хроматографе «Кристалл-2000м» (г. Йошкар-Ола) и капиллярной колонке HP-FFAP. Содержание жирных кислот выражалось в процентах от общей суммы площади пиков жирных кислот.

Активность глутатионпероксидазы в эритроцитах крови оценивали спектрофотометрическим методом с использованием наборов реагентов SENTINEL DIAGNOSTICS (Италия), супероксиддисмутазы – RANDOX Laboratories Ltd. (Англия). Метгемоглобин определяли по М.С. Кушаковскому [7], глутатион – гистохимическим методом по М.Т. Луценко [8], с последующей цитофотометрической обработкой в программе Scion (США). Расчет относительной плотности продуктов реакции проводили в условных единицах (усл. ед.) на один эритроцит с учетом количества окрашенных гранул. Количество гемоглобина в крови определяли на гематологическом автоматическом анализаторе Medonik (Швеция), пероксида водорода (H_2O_2) в сыворотке крови – иммуноферментным методом с использованием наборов Bender MedSystems (Австрия).

Все вычисления и статистический анализ выполняли с помощью программы IBM SPSS Statistics 18.0 (Statistical Package for the Social Sciences, США). Полученные результаты оценивали методами статистического описания и проверки статистических гипотез. Проверка на соответствие нормальному закону распределения проводили при помощи критерия Колмогорова – Смирнова. Во всех группах распределение было нормальным, поэтому достоверность различий между группами определялось с помощью параметрического t-критерия Стьюдента. Значения выражали как среднее арифметическое $M \pm$ ошибка среднего арифметического m . Во всех случаях $p < 0,05$ считали статистически значимым.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В подгруппе 1 основной группы беременных с обострением ЦМВ инфекции в первом триместре беременности содержание экзогенного H_2O_2 и линолевой кислоты в эритроцитах крови было значительно выше по сравнению с контрольной группой (таблица). Антиокислительная активность супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы, а также содержание глутатиона в эритроцитах крови беременных данной подгруппы значимо снижались по сравнению с контрольной группой, что свидетельствовало о нарушении процессов редокс-регулируемого тиол-дисульфидного обмена. В условиях формируемого окислительного стресса в эритроцитах крови беременных подгруппы 1 выявлялось снижение общего количества гемоглобина и увеличение уровня метгемоглобина по сравнению с контрольной группой, что вызывает нарушение метаболизма кислорода.

Таблица
Table

Показатели линолевой кислоты, редокс-ферментов, глутатиона, гемоглобина и его окисленного деривата в крови беременных основной и контрольной группы, $M \pm m$ Levels of linoleic acid, redox enzymes, glutathione, hemoglobin and its oxidized derivative in blood of pregnant women in treatment and control groups, $M \pm m$			
Показатель Indicator	Основная группа Treatment group		Контрольная группа, $n = 20$ Control group, $n = 20$
	подгруппа 1, $n = 20$ subgroup 1, $n = 20$	подгруппа 2, $n = 35$ subgroup 2, $n = 35$	
Линолевая кислота, % Linoleic acid, %	$5,77 \pm 0,09$ $p < 0,001$	$5,12 \pm 0,08$ $p = 0,009$	$4,81 \pm 0,08$
Супероксиддисмутаза, ЕД/г Нб Superoxide dismutase, U/g Hb	$231 \pm 1,83$ $p < 0,001$	$356,3 \pm 3,12$ $p = 0,046$	$347 \pm 3,18$
Глутатионпероксидаза, ЕД/г Нб Glutathione peroxidase, U/g Hb	$7,32 \pm 0,08$ $p < 0,001$	$13,37 \pm 0,13$ $p = 0,001$	$12,42 \pm 0,22$
Глутатион, усл. ед. Glutathione, units	$20,0 \pm 0,52$ $p < 0,001$	$52,6 \pm 1,31$ $p = 0,017$	$57,0 \pm 1,18$
H_2O_2 , мкмоль/мл H_2O_2 , $\mu\text{mol/ml}$	$29,4 \pm 0,87$ $p < 0,001$	$17,89 \pm 0,56$ $p < 0,001$	$15,10 \pm 0,28$
Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/l	$123 \pm 2,70$ $p < 0,001$	$130,0 \pm 2,04$ $p = 0,056$	$132 \pm 0,92$
Метгемоглобин, % Methemoglobin, %	$1,3 \pm 0,06$ $p < 0,001$	$0,7 \pm 0,03$ $p = 0,077$	$0,62 \pm 0,03$

Примечание. Достоверность различий по сравнению с контрольной группой – p .Note. Statistically significant differences compared with the control group – p .

В подгруппе 2 основной группы беременных с латентным течением заболевания в первом триместре беременности содержание экзогенного H_2O_2 и линолевой кислоты в эритроцитах крови было повышенным по сравнению с контрольной группой (см. таблицу). Однако активность редокс-ферментов супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы увеличивалась, содержание глутатиона в эритроцитах крови беременных подгруппы 2 оставалось сниженным по сравнению с контрольной группой. Интенсификация процессов редокс-регуляции в эритроцитах крови в данной подгруппе беременных, по-видимому, приводила к снижению уровня внутриэритроцитарного H_2O_2 , что нивелировало окислительную модификацию гемоглобина и повышало его восстановительную способность. Поэтому в показателях общего количества гемоглобина и метгемоглобина в эритроцитах крови статистически значимых различий по сравнению с контрольной группой не выявлено.

ОБСУЖДЕНИЕ

Присутствие в крови высокого количества линолевой кислоты может вызывать окислительное повреждение эритроцитов и гемоглобина, что тесно связано с гемической анемией, которая в

сочетании с ЦМВ инфекцией приводит к развитию осложнений беременности.

В ходе проведенного исследования установлено, что ЦМВ инфекция сочетается с повышением уровня экзогенного H_2O_2 и линолевой кислоты в эритроцитах крови беременных в первом триместре беременности. Повышение содержания линолевой кислоты в эритроцитах крови беременных с ЦМВ инфекцией можно объяснить следующим. Линолевая кислота по сравнению с другими полиненасыщенными жирными кислотами активно накапливается в клеточных фосфолипидах, вытесняя арахидоновую кислоту [9], что делает ее более доступной для действия H_2O_2 . Однако линолевая кислота может быть дополнительно метаболизирована оксигеназами [10], что приводит к усилению синтеза липопродуктов, поддерживающих окислительные процессы и образование H_2O_2 в эритроцитах.

Вместе с тем избыток H_2O_2 также может приводить к существенной модификации тиолов белков, таких как глутатионпероксидаза [11] и супероксиддисмутаза [12, 13], включая образование дисульфидов с низкомолекулярным тиолом глутатионом, что изменяет редокс-ответ эритроцитов [14]. Доказательством явилось снижение активности супероксиддисмутазы и глутатион-

пероксидазы в эритроцитах крови беременных с обострением ЦМВ инфекции в первом триместре беременности, что, по-видимому, приводит к накоплению внутриклеточного H_2O_2 , вызывающего уменьшение уровня восстановленного глутатиона и накоплению окисленной его формы. Формируемое при этом снижение редокс-потенциала эритроцитов усиливает окислительную модификацию гемоглобина [15], изменяет его способность к восстановлению [16, 17], о чем свидетельствует повышение уровня метгемоглобина в крови беременных с обострением ЦМВ инфекции в первом триместре беременности. При латентном течении ЦМВ инфекции в первом триместре беременности активность редокс-ферментов повышается, что свидетельствует о компенсаторном ответе редокс-системы эритроцитов крови беременных.

Следовательно, высокие количества линолевой кислоты могут напрямую или опосредованно через образование H_2O_2 ограничивать редокс-цикл гемоглобина, способствуя образованию метгемоглобина [18], что приводит к нарушению кислородного метаболизма и развитию гемической гипоксии, осложняющей как течение основного заболевания, так и беременности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ЦМВ инфекция в первом триместре беременности сопровождается повышением уровня экзогенного H_2O_2 и линолевой кислоты в эритроцитах крови беременных, что вызывает формирование разнонаправленного ответа основных компонентов редокс-системы в период обострения и при латентном течении заболевания. При обострении инфекции снижение редокс-потенциала эритроцитов крови ассоциировано с окислительной модификацией гемоглобина, вызывающей нарушение метаболизма кислорода и развитие гемической гипоксии, осложняющей течение беременности. При латентном течении заболевания дисбаланс элементов окислительно-восстановительной системы эритроцитов крови компенсируется повышением активности редокс-ферментов, что нивелирует окисление гемоглобина, обеспечивая адекватную доставку кислорода в эмбриотрофобластическую зону.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Шестопалов А.В., Арутюнян А.В., Акуева М., Шестопалова М.А., Буштырева И.О. Окислительный стресс в патологии плацентации. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2009; LVIII (1): 93–100. [Shestopalov A.V., Arutyunyan A.V., Akueva M., Shestopalova M.A., Bushyrev I.O. Oxidative stress in the placentation pathology. *Zhurnal akusherstva i zhenskib boleznej*. 2009; LVIII (1): 93–100 (in Russ.)].
2. Луценко М.Т., Андриевская И.А., Ишутина Н.А., МIRONENKO А.Г. Механизмы формирования гипоксии в период беременности и нарушение кровоснабжения плода при цитомегаловирусной инфекции. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2015; 70 (1): 106–112. [Lutsenko M.T., Andrievskaya I.A., Ishutina N.A., Mironenko A.G. Mechanisms of hypoxia development during pregnancy and impairment of fetus blood supply in cytomegalovirus infection. *Vestnik Rossijskoj akademii meditsinskih nauk*. 2015; 70 (1): 106–112 (in Russ.)].
3. Титов В.Н., Лисицин Д.М. Жирные кислоты. Физическая химия, биология и медицина. Москва; Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2006: 670. [Titov V.N., Lisitsin D.M. Fatty acids. Physical chemistry, biology and medicine. Moscow; Tver': ООО «Izdatel'stvo «Triada», 2006: 670 (in Russ.)].
4. Rao Y., Lokesh B.R. Modulatory effects of α -linolenic acid on generation of reactive oxygen species in elaidic acid enriched peritoneal macrophages in rats. *Indian J. Exp. Biol.* 2014; 52: 860–869. DOI: 10.1079/bjn19970062.
5. Yuan T., Fan W.-B., Cong Y., Xu H.-D., Li Ch.-J., Meng J., Bao N.-R., Zhao J.-N. Linoleic acid induces red blood cells and hemoglobin damage via oxidative mechanism. *Int. J. Clin. Exp. Patol.* 2015; 8 (5): 5044–5052.
6. Carren J.P., Dubacy J.P.-J. Adaptation of a micro-seale method to the micro-seale for fatty acid methyl trau-estenif: cation of biological lipid extracts. *Chromatography*. 1978; 151: 384–390.
7. Кушаковский М.С. Клинические формы повреждения гемоглобина. Лен. отделение: Медицина, 1968: 324. [Kushakovskij M.S. Clinical forms of hemoglobin impairment. Len. otделение: Meditsina Publ., 1968: 324 (in Russ.)].
8. Луценко М.Т., Андриевская И.А. Способ определения глутатиона в эритроцитах периферической крови. Пат. 2526832, Рос. Федерация. [Lutsenko M.T., Andrievskaya I.A. Method of determining glutathione in peripheral blood erythrocytes. Pat. 2526832, RF (in Russ.)].
9. Wang L., Lim E.J., Toborek M., Hennig B. The role of fatty acids and caveolin-1 in tnf- α -induced endothelial cell activation. *Metabolism*. 2008; 57 (10): 1328–1339. DOI: 10.1016/j.metabol.2008.01.036.
10. Elinder F., Liin S.I. Actions and mechanisms of polyunsaturated fatty acids on voltage-gated ion channels. *Front. Physiol.* 2017; 8: 43. DOI: 10.3389/fphys.2017.00043.
11. Sato K., Akaike T., Kohno M., Ando M., Maeda H. Hydroxyl radical production by H_2O_2 plus Cu,Zn-superoxide dismutase reflects the activity of free copper released from the oxidatively damaged enzyme. *J. Biol. Chem.* 1992; 267: 25371–25377.
12. Uchida K., Kawakishi S. Identification of oxidized histidine generated at the active site of Cu,Zn-superoxide dismutase exposed to H_2O_2 . Selective generation of

- 2-oxo-histidine at the histidine 118. *J. Biol. Chem.* 1994; 269(4): 2405–2410.
13. Tiwari A., Hayward L.J. Familial amyotrophic lateral sclerosis mutants of copper/zinc superoxide dismutase are susceptible to disulfide reduction. *J. Biol. Chem.* 2003; 278(8): 5984–5992. DOI: 10.1074/jbc.m210419200.
14. Cho C.-S., Lee S., Lee G.T., Woo H.A., Choi E.-J., Rhee S.G. Irreversible inactivation of glutathione peroxidase 1 and reversible inactivation of peroxiredoxin II by H₂O₂ in red blood cells. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2010; 12(11): 1235–1246. DOI: 10.1089/ars.2009.2701.
15. Pimenova T., Pereira C.P., Gehrig P., Buehler P.W., Schaer D.J., Zenobi R. Quantitative mass spectrometry defines an oxidative hotspot in hemoglobin that is specifically protected by haptoglobin. *Journal of Proteome Research*. 2010; 9 (8): 4061–4070. DOI: 10.1021/pr100252e.
16. Bonaventura C., Henkens R., Alayash A.I., Banerjee S., Crumbliss A.L. Molecular controls of the oxygenation and redox reactions of hemoglobin. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2013; 18 (17): 2298–2313. DOI: 10.1089/ars.2012.4947.
17. Meng F., Alayash A.I. Determination of extinction coefficients of human hemoglobin in various redox states. *Anal. Biochem.* 2017; 521: 11–19. DOI: 10.1016/j.ab.2017.01.002.
18. Nagababu E., Rifkind J.M. Reaction of hydrogen peroxide with ferrylhemoglobin: superoxide production and heme degradation. *Biochemistry*. 2000; 39 (40): 12503–12511. DOI: 10.1021/bi992170y.

Сведения об авторах

Андриевская Ирина Анатольевна, д-р биол. наук, профессор РАН, зав. лабораторией механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск.

Ишутина Наталия Александровна, д-р биол. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, ДНЦ ФПД, г. Благовещенск.

(✉) Андриевская Ирина Анатольевна, e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru.

Authors information

Andrievskaya Irina A., DBSc, Head of the Laboratory for Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery of the Respiratory System in Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology, Blagoveshchensk, Russian Federation.

Ishutina Nataliya A., DBSc, Leading Scientist, Laboratory for Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery of the Respiratory System in Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology, Blagoveshchensk, Russian Federation.

(✉) Andrievskaya Irina A., e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru.

Поступила в редакцию 08.06.2018
Подписана в печать 27.03.2019

Received 08.06.2018
Accepted 27.03.2019

Изучение адаптогенной активности производных тетрагидропиридо[2,1-b][1,3,5]тиадиазина

Бибик Е.Ю.¹, Некраса И.А.¹, Деменко А.В.¹,
Фролов К.А.^{1,2}, Доценко В.В.^{2,3}, Кривоколыско С.Г.^{1,2}

¹ Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки
Луганская Народная Республика, 91045, г. Луганск, квартал 50-летия Обороны Луганска, 1а

² Луганский национальный университет имени Владимира Даля
Луганская Народная Республика, 91034, г. Луганск, квартал Молодежный, 20А, корп. 7

³ Кубанский государственный университет
Россия, 350040, г. Краснодар, ул. Ставропольская, 149

РЕЗЮМЕ

Введение. Статья посвящена изучению новых биологически активных соединений на основе производных тетрагидропиридо[2,1-b][1,3,5]тиадиазина. Исследуемые образцы обладают выраженным аналептическим и антидепрессантным эффектом.

Цель исследования – оценка адаптогенной активности производных тетрагидропиридо[2,1-b][1,3,5]тиадиазина с помощью модификации теста поведенческого отчаяния (беспомощности) по Порсольту.

Материалы и методы. Для исследования были отобраны четыре оригинальных соединения, проявившие высокую активность в предыдущих тестах. В качестве препаратов сравнения выступали кофеин-бензоат натрия, женьшень, тиотриазолин, тиоцетам, амитриптилин.

Результаты. Внутривенное введение соединения 2 на протяжении 5 сут в модифицированном тесте поведенческого отчаяния по Порсольту (вынужденное плавание с грузом) вызвало увеличение работоспособности и выносливости крыс на 103,42% в сравнении с первоначальными показателями. Выявленная адаптогенная активность этого производного тетрагидропиридо[2,1-b][1,3,5]тиадиазина в 6 раз превосходит таковую у женьшеня и семикратно у амитриптилина. Соединение 4 также обладало адаптогенной активностью, увеличивая время сохранения активности в аверсивной среде на 58,25%, что в 3 раза превышало показатели в группе сравнения с женьшенем и в 4 раза – с амитриптилином.

Ключевые слова: производные тетрагидропиридо[2,1-b][1,3,5]тиадиазина, адаптогенная активность, физическая выносливость, модифицированный тест форсированного плавания, тест поведенческого отчаяния.

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 Луганского государственного медицинского университета имени Святителя Луки.

Для цитирования: Библик Е.Ю., Некраса И.А., Деменко А.В., Фролов К.А., Доценко В.В., Кривоколыско С.Г. Изучение адаптогенной активности производных тетрагидропиридо[2,1-b][1,3,5]тиадиамина. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 21–28. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-21-28>.

УДК 615.37.03

[https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2019-3-21-28](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-21-28)

Studying the adaptogenic activity of a series of tetrahydropyrido[2,1-b][1,3,5]thiadiazine derivatives

Bibik E.Yu.¹, Nekrasa I.A.¹, Demenko A.V.¹,
Frolov K.A.^{1,2}, Dotsenko V.V.^{2,3}, Krivokolysko S.G.^{1,2}

¹ Lugansk State Medical University named after Saint Luka 1g, Sq. 50th Anniversary of the Defense of Lugansk 91045, Lugansk, Lugansk People's Republic

² Lugansk National University named after Vladimir Dahl
Build. 7, 20A, Sq. Molodezhnyj, 91034, Lugansk, Lugansk People's Republic

³ Kuban State University
149, Stavropolskaya Str., 350040, Krasnodar, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. In the modern world people are exposed to the influence of adverse psychological and physical factors, escalating in intensity. The search for new pharmacodynamic effects of [1,3,5]-thiadiazine derivatives designated by significant biological activity of these compounds is an essential issue.

Aim. To research adaptogenic activity of tetrahydropyrido[2,1-b][1,3,5]thiadiazine derivatives using a modified Porsolt Forced Swim Test.

Materials and methods. Four substances from the group of 3-R-8-aryl-6-oxo-3,4,7,8-tetrahydro-2H,6H-pyrido[2,1-b][1,3,5]thiadiazine-9-carbonitriles were selected for the research. Rats were divided into a control group, 5 reference groups (amitriptyline, caffeine, thiotriazolin, thiocetam, ginseng) and 4 experimental groups according to the number of the studied original tetrahydropyrido[2,1-b][1,3,5]thiadiazine derivatives.

Results. Intragastric injection of substance 2 for 5 days in the modified forced swim test (forced swimming with freight) increased work capacity and endurance of the rats by 103.42% as opposed to the initial results. The detected adaptogenic activity of this tetrahydropyrido[2,1-b][1,3,5]thiadiazine derivative six times exceeds adaptogenic activity of ginseng and seven times that of amitriptyline. The rats in the control group were active for a bit longer time. Ginseng raised the time of activity by 17% at day 5. Caffeine essentially reduced work capacity and endurance. Amitriptyline showed adaptogenic activity at day 3 of the research (increase by 10.4%). Thiotriazolin also showed adaptogenic activity on day 3 of the research (increase by 30.17%). Thiocetam increased the time of activity by 78.55%.

Substance 4 had adaptogenic activity too; it increased the time of activity in aversive conditions by 58.25%, which three times exceeds this parameter for ginseng and four times for amitriptyline.

Key words: tetrahydropyrido[2,1-b][1,3,5]thiadiazine derivatives, adaptogenic activity, physical endurance, modified forced swim test, behavioral despair test.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at Lugansk State Medical University named after Saint Luka (Protocol No. 130 of 05.06.2018).

For citation: Bibik E.Yu., Nekrasa I.A., Demenko A.V., Frolov K.A., Dotsenko V.V., Krivokolysko S.G. Studying the adaptogenic activity of a series of tetrahydropyrido[2,1-b][1,3,5]thiadiazine derivatives. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 21–28. [https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2019-3-21-28](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-21-28).

ВВЕДЕНИЕ

В современном мире человек подвергается все возрастающему по интенсивности воздействию неблагоприятных факторов – как психологических, так и физических [1]. Этому способствуют локальные военные конфликты, снижение социальной защищенности, интенсификация ритма жизни, резкое ухудшение экологической обстановки и др. Существенное снижение резистентности организма, связанное с ослаблением иммунных, детоксикационных, а также иных адаптационно-приспособительных механизмов, является причиной увеличения в последние десятилетия количества аутоиммунных и онкологических заболеваний, неврозов, депрессий, иммунодефицитных состояний и т.п.

Адаптация организма к неблагоприятным воздействиям является одной из его базовых функций. Повышение выносливости, способности противостоять утомлению и работоспособности как физической возможности организма наиболее длительно выполнять определенную работу с высокой степенью эффективности на протяжении максимального временного периода является весьма ценным фармакодинамическим эффектом лекарственных средств различных фармакологических групп.

Поиск новых фармакодинамических эффектов производных 1,3,5-тиадиазина продиктован высокой биологической активностью данных соединений и выявлением в последнее время весьма ценных в практическом плане противовоспалительных,

анальгетических, жаропонижающих и многих других видов активности [2, 3]. Отдельные соединения данной группы веществ показали высокую аналептическую активность на модели «тиопенталового наркоза». При этом их эффект превышал таковой у кофеин-бензоата натрия в несколько раз [4]. Во время проведения оценки наличия антидепрессантного эффекта среди производных тетрагидропиридо[2,1-б][1,3,5]тиадиазина на модели форсированного плавления по Порсолту были выявлены соединения, обладающие активностью, превосходящей таковую у амитриптилина на 132,6% [5]. Данные наблюдения послужили поводом для дальнейших, более детальных исследований активности тетрагидропиридо[2,1-б][1,3,5]тиадиазина.

Цель исследования – оценка адаптогенной активности производных тетрагидропиридо[2,1-б][1,3,5]тиадиазина с помощью модификации теста поведенческого отчаяния (беспомощности) по Порсолту.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования было отобрано четыре соединения из группы 3-R-8-арил-6-оксо-3,4,7,8-тетрагидро-2Н,6Н-пиридо[2,1-б][1,3,5]тиадин-9-карбонитрилов (1-4), синтезированных нами по некатализируемой реакции Манниха, замещенных тетрагидропиридин-2-тиолатов N-метилморфолина с первичными аминами и избытком формальдегида [6, 7] (рис. 1).

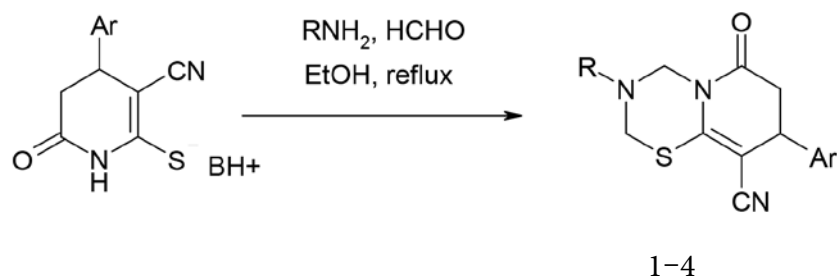


Рис. 1. В = N-метилморфолин.

Fig. 1. В = N-methylmorpholine.

Ar = 4-(2-ClC₆H₄CH₂O)C₆H₄, R = 2-EtOC₆H₄ (1); 3,4-(MeO)₂C₆H₃, 2-Me-3-ClC₆H₃ (2); 2-MeOC₆H₄, 2-EtC₆H₄ (3); 4-MeOC₆H₄, cyclohexyl (4)

Данные вещества показали наиболее выраженную аналептическую активность в предшествующем исследовании на модели «тиопенталового наркоза» и теста поведенческого отчаяния [4, 5]. В эксперименте использовали минимально допустимое для статистической обработки и получения достоверных результатов общепринятое ко-

личество животных (по шесть в группе), а также минимальное для достижения цели и решения задач исследования количество экспериментальных групп, т.е. общее количество животных.

Исследования проводились на 60 белых беспородных половозрелых крысах обоего пола массой 230–270 г в осенне-зимний период в сертифи-

цированной фармакологической лаборатории ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет имени Святителя Луки». Животные были распределены на контрольную группу, получавшую перед проведением исследования дистиллированную воду, пять групп сравнения, которым давали психостимулятор кофеин-бензоат натрия, трициклический антидепрессант амитриптилин (5 мг/кг), адаптоген женьшень, антигипоксанта тиотриазолин, комбинированное лекарственное средство тиюцетам (тиотриазолин с пираретамом), и четыре опытные группы по количеству исследуемых оригинальных производных тетрагидропиридо[2,1-б][1,3,5]тиадиазина. Вещества вводились ежедневно на протяжении 5 сут за 1 ч до проведения теста внутрижелудочно из расчета 5 мг/кг.

Для исследования активности препаратов использовалась модификация теста форсированного плавания по Порсолту, предложенная коллективом авторов под руководством В.Н. Каркищенко из Научного центра биомедицинских технологий РАМН [8]. Животные помещались в емкость глубиной 80 см, заполненную водой температурой +25 °С. К хвосту лабораторных крыс фиксировался дополнительный груз, составляющий 10% от массы тела [9, 10]. Форсированное плавание проводилось в 1-е, 3-и и 5-е сут введения препаратов.

При погружении в емкость с водой животные испытывали стресс, начинали предпринимать попытки к извлечению из аверсивной ситуации. При наблюдении за животными засекали время их нахождения в воде. Критическим являлся момент, когда животное было не в состоянии удержаться над поверхностью воды самостоятельно. В этот момент крысу вынимали из воды, обсушивали полотенцем и возвращали в клетку.

Краткость исследуемых отрезков времени обусловила необходимость вычисления и последующего анализа изменений (%) при проведении статистической обработки времени активности для каждого исследуемого животного по отношению к первоначальной величине, взятой за 100%. Далее проводилось ранжирование этих данных и определялась достоверность отличий результатов по Вилкоксоу. Для выполнения этой работы использовалась программа Statistica 10.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из приведенных в таблице данных, у животных контрольной группы незначительно увеличено время форсированного плавания. Классический адаптоген женьшень, избранный нами в качестве препарата сравнения, только к 5-м сут показал достоверные отличия длительности сохранения активности по отношению к начальным значениям, превышая таковые на 17% (таблица).

Таблица
Table

Сохранение активности крысами в динамике исследования Maintaining activity in rats at runtime							
Группа животных Animal group	Длительность сохранения активности по отношению к начальным значениям (100% – 1-е сут (I)) Duration of maintaining activity compared to the initial values (100% – day 1 (I))						
	3-и сут (II) Day 3 (II)			5-е сут (III) Day 5 (III)			Достоверность отличий между периодами измерений, $p < 0,05$
	Me	Q_1 (25%)	Q_3 (75%)	Me	Q_1 (25%)	Q_3 (75%)	
Контроль Control	102,27	100,00	106,67	103,33	100,00	108,33	–
Женьшень Ginseng	102,78	94,74	111,11	114,71	110,53	122,22	I–II
Кофеин-бензоат Caffeine-benzoate	78,13	70,59	88,89	56,25	44,44	58,82	I–II, II–III, I–III
Амитриптилин Amitriptyline	105,28	104,76	111,11	113,06	104,76	122,22	I–II
Тиотриазолин Thiotriazolin	127,39	120,00	137,50	134,38	126,67	137,50	I–II
Тиоцетам Thiocetam	166,81	155,56	189,47	179,83	155,56	194,74	I–III
1	100,00	95,65	104,55	91,49	82,61	95,83	–
2	117,86	115,00	129,41	190,69	190,48	220,00	I–II, II–III, I–III
3	115,48	112,50	121,74	155,95	150,00	166,67	I–III
4	115,48	112,50	121,74	155,95	150,00	166,67	I–II, II–III, I–III

У животных контрольной группы значимая динамика изменения активности отсутствовала (рис. 2).

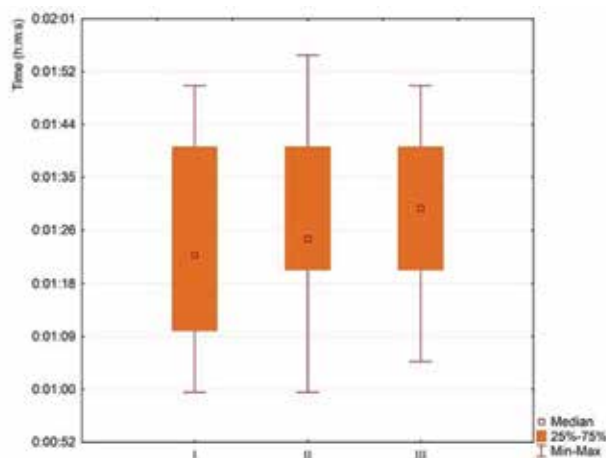


Рис. 2. Длительность сохранения активности у животных контрольной группы, сут

Fig. 2. Duration of maintaining activity in animals of the control group, days

Ежедневное применение психостимулятора кофеин-бензоата натрия животными на протяжении эксперимента приводило к существенному прогрессирующему снижению двигательной активности и выносливости лабораторных крыс (рис. 3).

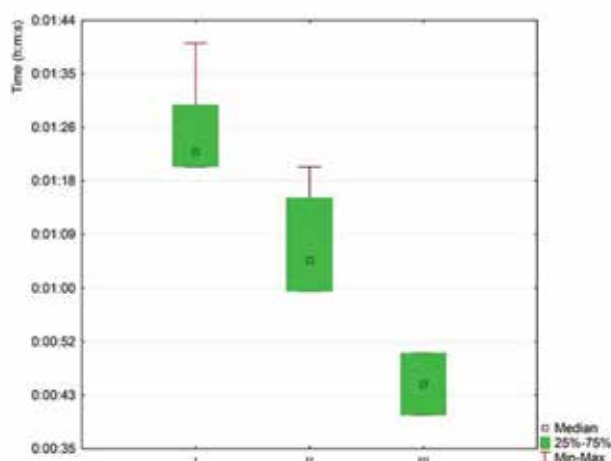


Рис. 3. Длительности сохранения активности на фоне влияния кофеина, сут

Fig. 3. Change in the duration of maintaining activity against the background of caffeine effect, days

Классический антидепрессант амитриптилин, неизбирательно блокирующий обратный нейрональный захват серотонина и норадреналина, в тесте принудительного плавания проявлял свойства адаптогена на 3-и сут исследования, отличия были достоверны в сравнении с первоначальными

значениями (возрастание на 10,4%). К 5-м сут нами выявлена лишь тенденция к увеличению этого показателя.

Особый интерес представляют полученные нами результаты при использовании препаратов сравнения тиотриазолина и тиоцетама. Как показано в таблице, в тесте форсированного плавания на 3-и сут приема тиотриазолина у животных на 30,17% увеличивалось время сохранения активности. К 5-м сут адаптогенный эффект незначительно снижался, составляя 25,58% в сравнении с первоначальными значениями.

Из рис. 4 видно, что комбинированное ноотропное средство тиоцетам обладает выраженной адаптогенной активностью. К 3-м сут отмечалось увеличение двигательной активности в сравнении с первоначальными значениями на 67,65%, а к 5-м – на 78,55%.

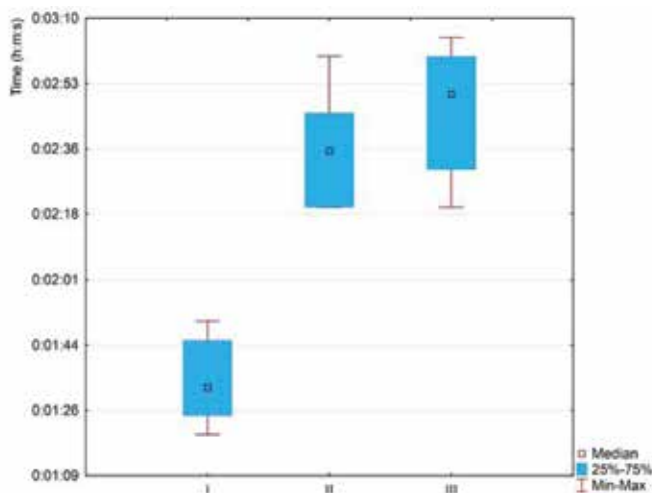


Рис. 4. Длительность сохранения активности на фоне влияния тиоцетама, сут

Fig. 4. Change in the duration of maintaining activity against the background of thioacetam effect, days

Исследование адаптогенной активности четырех производных тетрагидропиридо[2,1-b][1,3,5]тиадиазина в тесте форсированного плавания показали диаметрально противоположные результаты и разделили исследуемые образцы на две группы. Первую их них составили вещества 1 и 3, которые не обладают адаптогенной активностью, снижая физическую активность и выносливость животных (аналогично кофеину-бензоату натрия) (рис. 5).

Вторая группа вновь синтезированных производных тетрагидропиридо[2,1-b][1,3,5]тиадиазина, состоящая из соединений 2 и 4, показала наличие у них отчетливо выраженных адаптогенных свойств.

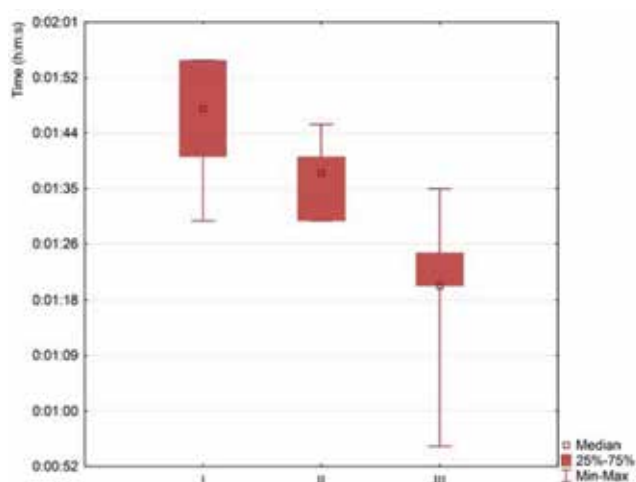


Рис. 5. Изменение длительности сохранения активности на фоне влияния вещества 3, сут

Fig. 5. Change in the duration of maintaining activity against the background of substance 3 effect, days

Так, на 3-и сут внутрижелудочного применения соединения 2 нами установлено увеличение на 21,18% длительности сохранения активности лабораторных крыс по отношению к начальным значениям (рис. 6). А уже к 5-м сут в тесте форсированного плавания животные этой опытной группы показали увеличение активности на 103,42% в сравнении с начальными показателями. Это многократно превосходит адаптогенную активность женьшеня, а также тиотриазолина и тиюцетама.

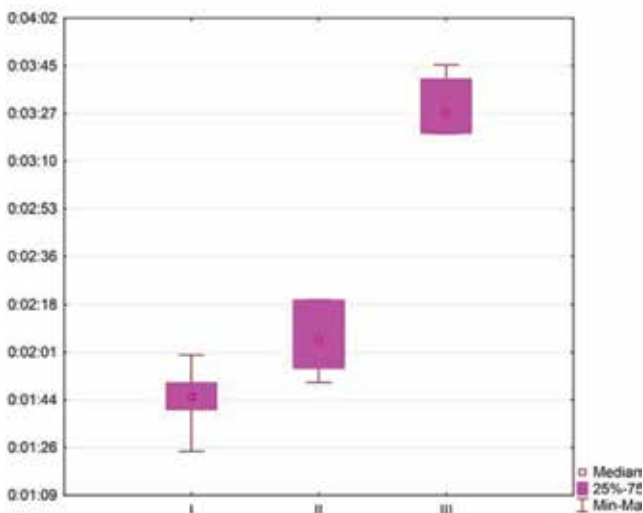


Рис. 6. Изменение длительности сохранения активности на фоне влияния вещества 2, сут

Fig. 6. Change in the duration of maintaining activity against the background of substance 2 effect, days

Использование в качестве потенциального адаптогенного средства соединения 4 в тесте

форсированного плавания показало также увеличение времени сохранения активности в авersive среде. Так, к 3-м сут эксперимента длительность активного пребывания крыс этой опытной группы на поверхности воды превосходила первоначальные значения на 17,07%, а к 5-м сут – на 58,25% (рис. 7). Эти показатели значительно превышают таковые, зарегистрированные нами у амитриптилина, но несколько уступают тиюцетама.

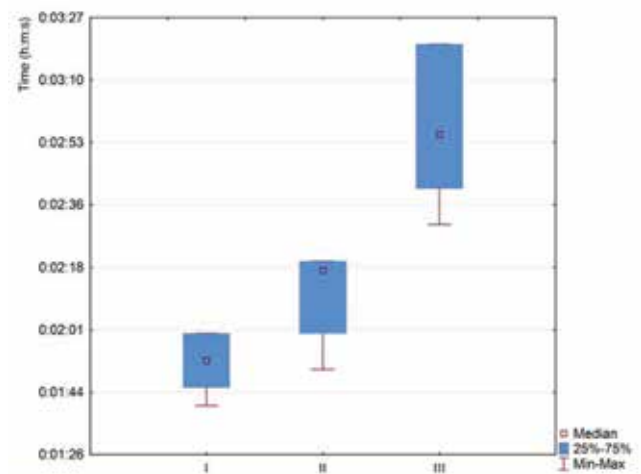


Рис. 7. Изменение длительности сохранения активности на фоне влияния вещества 4, сут

Fig. 7. Change in the duration of maintaining activity against the background of substance 4 effect, days

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Внутрижелудочное введение соединения 2 на протяжении 5 сут в модифицированном тесте поведенческого отчаяния по Порсольту (вынужденное плавание с грузом) привело к увеличению работоспособности и выносливости крыс на 103,42% в сравнении с первоначальными показателями. Выявленная адаптогенная активность этого производного тетрагидропиридо[2,1-b][1,3,5]тиадиазина в 6 раз превосходит таковую у классического растительного адаптогена женьшеня и в 7 – у трициклического антидепрессанта амитриптилина. Соединение 4 также обладало адаптогенной активностью, увеличивая время сохранения активности в авersive среде на 58,25%, что в 3 раза превышало показатели в группе сравнения с женьшенем и в 4 – с амитриптилином.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Бальхаев И.М., Шантанова Л.Н., Тулесонова А.С. Актопротекторная активность адаптогенов природного происхождения. *Сибирский медицинский*

- журнал (Иркутск). 2014; 124 (1): 100–103. [Bal'haev I.M., Shantanova L.N., Tulesonova A.S. Actoprotective activity of natural adaptogens. *Siberian Medical Journal (Irkutsk)*. 2014; 124(1): 100–103 (in Russ.)].
2. Биби́к Е.Ю., Ярошевская О.Г., Девдера А.В., Деменко А.В., Захаров В.В., Фролов К.А., Доценко В.В., Кривоколыско С.Г. Поиск средств с противовоспалительной активностью среди производных тетрагидропиридо[2,1-б][1,3,5]тиадиазина. *Химико-фармацевтический журнал*. 2017; 51 (8): 16–19. [Bibik E.Ju., Jaroshevskaja O.G., Devdera A.V., Demenko A.V., Zakharov V.V., Frolov K.A., Dotsenko V.V., Krivokolysko S.G. Search for substances with anti-inflammatory effect among tetrahydropyrido[2,1-b][1,3,5]thiadiazine derivatives. *Chemical Pharmaceutical Journal*. 2017; 51 (8): 16–19 (in Russ.)]. DOI: 10.30906/0023-1134-2017-51-8-16-19.
 3. Биби́к Е.Ю., Ярошевская О.Г., Девдера А.В., Деменко А.В., Фролов К.А., Доценко В.В., Кривоколыско С.Г. Поиск новых анальгетических средств в ряду производных тетрагидропиридо[2,1-б][1,3,5]тиадиазина. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия Медицина. Фармация*. 2016; 5 (226): 135–140. [Bibik E.Ju., Jaroshevskaja O.G., Devdera A.V., Demenko A.V., Frolov K.A., Dotsenko V.V., Krivokolysko S.G. Search for new analgesic substances among tetrahydropyridothiadiazine derivatives. *Belgorod State University Scientific Bulletin. Medicine. Pharmacy*. 2016; 5 (226): 135–140 (in Russ.)].
 4. Bibik E.Yu., Saphonova A.A., Yeromin A.V., Frolov K.A., Docenko V.V., Krivokolysko S.G. Study of analeptic activity of tetrahydropyrido[2,1-b][1,3,5]thiadiazine derivatives. *Research Result: Pharmacology and Clinical Pharmacology*. 2017; 3 (4): 20–25.
 5. Биби́к Е.Ю., Некраса И.А., Деменко А.В., Фролов К.А., Доценко В.В., Кривоколыско С.Г. Оценка антидепрессивного эффекта производных тетрагидропиридо[2,1-б][1,3,5]тиадиазина. Материалы Всероссийской конференции «Химия и технология гетероциклических соединений», г. Уфа, 2017: 63–65. [Bibik E.Ju., Nekrasa I.A., Demenko A.V., Frolov K.A., Dotsenko V.V., Krivokolysko S.G. Evaluation of the antidepressant effect of tetrahydropyrido[2,1-b][1,3,5]thiadiazine derivatives. Ufa, 2017: 63–65 (in Russ.)].
 6. Доценко В.В., Кривоколыско С.Г., Чернега А.Н., Литвинов В.П. Синтез и строение производных пиридо[2,1-б][1,3,5]тиадиазина. *Доклады АН*. 2003; 389 (6): 763–767. [Dotsenko V.V., Krivokolysko S.G., Chernega A.N., Litvinov V.P., Synthesis and structure of pyrido[2,1-b][1,3,5]thiadiazine derivatives. *Doklady AN*. 2003; 389 (6): 763–767 (in Russ.)].
 7. Dotsenko V.V., Frolov K.A., Pekhtereva T.M. et al. Design and synthesis of pyrido[2,1-b][1,3,5]thiadiazine library via uncatalyzed Mannich-type reaction. *ACS Comb. Sci*. 2014; 16 (10): 543–550. DOI: 10.1021/co5000807.
 8. Каркищенко В.Н., Капанадзе Г.Д., Деньгина С.Е., Станкова Н.В. Разработка методики оценки физической выносливости мелких лабораторных животных для изучения адаптогенной активности некоторых лекарственных препаратов. *Биомедицина*. 2011; 1: 72–74. [Karkishchenko V.N., Kapanadze G.D., Den'gina S.E., Stankova N.V. Developing a method to evaluate physical endurance of small laboratory animals for studying the adaptogenic activity of some pharmaceuticals. *Biomeditsina*. 2011; 1: 72–74 (in Russ.)].
 9. Петровский А.К., Петровская А.Ю., Косенко М.В., Андреева Л.А., Смирнов Н.А., Федоров В.Н. Адаптогенная активность семакса и селанка: экспериментальное исследование. *Медицинский альманах*. 2017; 46 (1): 114–117. [Petrovskij A.K., Petrovskaja A.Ju., Kosenko M.V., Andreeva L.A., Smirnov N.A., Fedorov V.N. Adaptogenic activity of Semax and Selang: experimental research. *Medical Almanac*. 2017; 46 (1): 114–117 (in Russ.)].
 10. Талалаева О.С., Зверев Я.Ф., Брюханов В.М. Влияние гистохрома на физическую выносливость крыс. *Бюллетень сибирской медицины*. 2016; 15 (7): 97–103. [Talalaeva O.S., Zverev Ja.F., Brjukhanov V.M. Hystochrome influence on physical endurance of rats. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2016; 15 (4): 97–103 (in Russ.)]. DOI: 10.20538/1682-0363-2016-4-97-103.

Вклад авторов

Биби́к Е.Ю. – разработка концепции и дизайна, интерпретация и анализ данных, подготовка статьи, обоснование рукописи. Некраса И.А. – проведение практической части исследования, участие в интерпретации и анализе данных, подготовка статьи. Деменко А.В. – обработка результатов и анализ данных, подготовка статьи. Фролов К.А. – синтез исследуемых производных тетрагидропиридо[2,1-б][1,3,5]тиадиазина, проверка критически важного интеллектуального содержания. Доценко В.В. – синтез исследуемых производных тетрагидропиридо[2,1-б][1,3,5]тиадиазина, проверка критически важного интеллекту-

Authors contribution

Bibik E.Yu. – conception and design, analysis and interpretation of the data, drafting of the manuscript, justification of the manuscript. Nekrasa I.A. – carrying out of the research, analysis and interpretation of the data, drafting of the manuscript. Demenko A.V. – analysis and interpretation of the data, drafting of the manuscript. Frolov K.A. – synthesis of a series of tetrahydropyrido[2,1-b][1,3,5]thiadiazine derivatives, critical revision of the manuscript for important intellectual content. Dotsenko V.V. – synthesis of a series of tetrahydropyrido[2,1-b][1,3,5]thiadiazine derivatives, critical revision of the manuscript for important

ального содержания. Кривоколыско С.Г. – синтез исследуемых производных тетрагидропиридо[2,1-*b*][1,3,5]тиадиазина, проверка критически важного интеллектуального содержания.

intellectual content. Krivokolysko S.G. – synthesis of a series of tetrahydropyrido[2,1-*b*] [1,3,5]thiadiazine derivatives, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Сведения об авторах

Бибик Елена Юрьевна, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой фундаментальной и клинической фармакологии, Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки, г. Луганск.

Некраса Иван Анатольевич, студент, Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки, г. Луганск.

Деменко Андрей Валерьевич, канд. мед. наук, доцент, кафедра фармацевтической химии и фармакогнозии, Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки, г. Луганск.

Фролов Константин Александрович, канд. хим. наук, доцент, кафедра фармацевтической химии и фармакогнозии, Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки; докторант, Луганский государственный университет им. Владимира Даля, г. Луганск.

Доценко Виктор Викторович, д-р хим. наук, профессор, Кубанский государственный университет, г. Краснодар; зав. кафедрой органической химии и технологий, Луганский государственный университет им. Владимира Даля, г. Луганск.

Кривоколыско Сергей Геннадиевич, д-р хим. наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии, Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки; Луганский государственный университет им. Владимира Даля, г. Луганск.

(✉) **Бибик Елена Юрьевна**, e-mail: helen_bibik@mail.ru.

Authors information

Bibik Elena Y., DM, Professor, Head of the Department of Fundamental and Clinical Pharmacology, Lugansk State Medical University named after Saint Luka, Lugansk, Lugansk People's Republic.

Nekrasa Ivan A., Student, Lugansk State Medical University named after Saint Luka, Lugansk, Lugansk People's Republic.

Demenko Andrey V., PhD, Associate Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Lugansk State Medical University named after Saint Luka, Lugansk, Lugansk People's Republic.

Frolov Konstantin A., PhD, Associate Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Lugansk State Medical University named after Saint Luka; Lugansk National University named after Vladimir Dahl, Lugansk, Lugansk People's Republic.

Dotsenko Victor V., DChSc, Professor, Kuban State University, Krasnodar, Russian Federation; Head of the Department of Organic Chemistry and Technologies, Lugansk National University named after Vladimir Dahl, Lugansk, Lugansk People's Republic.

Krivokolysko Sergey G., DChSc, Professor, Head of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Lugansk State Medical University named after Saint Luka; Lugansk National University named after Vladimir Dahl, Lugansk.

(✉) **Bibik Elena Yu.**, e-mail: helen_bibik@mail.ru.

Поступила в редакцию 18.07.2018

Подписана в печать 27.03.2019

Received 18.7.2018

Accepted 27.03.2019

Многокомпонентное раневое покрытие в лечении экспериментальной гнойной раны

Григорьян А.Ю., Бежин А.И., Панкрушева Т.А., Суковатых Б.С.,
Чекмарева М.С., Жилыева Л.В.

Курский государственный медицинский университет (КГМУ)
Россия, 305041, г. Курск, ул. Карла Маркса, 3

РЕЗЮМЕ

Цель. Обосновать эффективность применения разработанного нами раневого покрытия, которое сочетает в себе противомикробный эффект широкого спектра, сорбционную активность, обезболивающее влияние, пролонгированное действие, на модели гнойной раны в эксперименте.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужило раневое покрытие в виде пленки, разработанное на базе Курского государственного медицинского университета (патент на изобретение РФ № 2605343). Экспериментальные животные (крысы породы Вистар) были распределены на две группы (сравнения и опытная) по 36 животных в каждой. Всем подопытным животным моделировалась гнойная рана по методике П.И. Толстых. Местно-анестезирующую активность определяли на кроликах породы шиншилла (по 20 особей в каждой группе). В ходе исследования применялись следующие методы: микробиологический (определение зон задержки роста и обсемененности ран), визуальная оценка состояния ран, планиметрический, рН-метрия ран, метод Ренье (для определения анестезирующей активности). Данные обработаны статистически, достоверность отличий определяли по непараметрическому критерию Манна – Уитни. Различия между группами считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты. До начала эксперимента на животных на основании микробиологического метода исследования была показана высокая эффективность разработанной пленки в отношении наиболее распространенных тест-штаммов микроорганизмов, способных вызывать раневую инфекцию. Также на основании метода Ренье показана ее способность оказывать местно-анестезирующее действие, достоверно превосходящее по эффективности 2%-ю лидокаиновую мазь. На основании визуальной оценки раны выявлено, что очищение и регенерация ран наступали раньше у животных в опытной группе. Скорость заживления ран в опытной группе была в 1,3 раза выше на сроке 1–3-и сут, а на 5–8-е сут ситуация была обратной в пользу группы сравнения. Кроме того, обсемененность ран в опытной группе была в 1,2 раза ниже на 8-е сут, нежели в группе сравнения. По результатам рН-метрии достоверные различия между группами были отмечены на 5-, 8-, 15-е сут. Приближение значений рН к значениям неповрежденной кожи также доказывала эффективность применения разработанной пленки.

Заключение. Результаты проведенных исследований подтвердили широкий спектр противомикробного действия разработанной пленки, ее местно-анестезирующую активность, эффективность при лечении экспериментальных гнойных ран, что позволяет рекомендовать ее для дальнейших доклинических испытаний.

Ключевые слова: гнойная рана, лечение ран, раневое покрытие, мирамистин, метронидазол, бензалкония хлорид.

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 региональным этическим комитетом КГМУ (протокол № 2 от 05.11.2013).

Для цитирования: Григорьян А.Ю., Бежин А.И., Панкрушева Т.А., Суковатых Б.С., Чекмарева М.С., Жилиева Л.В. Многокомпонентное раневое покрытие в лечении экспериментальной гнойной раны. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 29–36. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-29-36>.

УДК 616-001.47-021.6-085.281:615.47.014.7

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-29-36>

Multicomponent wound coating in treatment of an experimental, purulent wound

Grigoryan A.Yu., Bezhin A.I., Pankrusheva T.A., Sukovatykh B.S.,
Chekmareva M.S., Zhilyaeva L.V.

Kursk State Medical University

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

ABSTRACT

Objectives. To substantiate the effectiveness of the wound coating developed by us, which combines broad-spectrum antimicrobial effect, sorption activity, analgesic effect and prolonged action on a purulent wound.

Materials and methods. The material for the study was wound coating in the form of a film developed at Kursk State Medical University (Russian patent number 2605343).

Experimental animals (Wistar rats) were divided into 2 groups (comparative and experimental) of 36 animals in each. In all the experimental animals a purulent wound was modeled according to the method proposed by P.I. Tolstikh. Local anesthetic activity was determined on rabbits of the Chinchilla breed (20 individuals in each group). In the course of the study, the following methods were used: microbiological method (identification of the areas of growth retardation and wound contamination), visual assessment of the wounds, planimetric method, pH evaluation of the wounds, and Renier's technique (for determination of the anesthetic activity). The data were processed statistically, and the statistical significance of the differences was determined using the nonparametric Mann – Whitney test. The differences were considered statistically significant at $p \leq 0.05$.

Results. Before the experiment on animals, high efficacy of the developed film was proven for the most common test strains of microorganisms capable of causing wound infection, using the microbiological method of investigation. Using the Renier's method, the ability of the film to provide a local anesthetic effect was demonstrated, which was significantly higher than that of the 2% lidocaine ointment. Following visual evaluation of the wound, it was found that purification and regeneration of the wounds occurred earlier in the animals from the experimental group. The speed of wound healing in the experimental group was 1.3 times higher at 1–3 days, whereas at 5–8 days the situation was reversed in favor of the comparison group. In addition, at day 8 wound contamination in the experimental group was 1.2 times lower than in the comparison group. According to the results of the pH evaluation, significant differences between the groups were noted at days 5, 8, 15. Approximation of pH values to those of intact skin also proved the effectiveness of using the developed film.

Conclusion. The results of the conducted studies confirmed broad-spectrum antimicrobial activity of the developed film, its local anesthetic activity and efficacy in treatment of experimental purulent wounds, which allows to recommend it for further preclinical trials.

Key words: purulent wound, wound healing, wound coating, miramistinum, metronidazolum, benzalkonium chloride.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee Kursk State Medical University (Protocol No. 2 of 05.11.2013).

For citation: Grigoryan A.Yu., Bezhin A.I., Pankrusheva T.A., Sukovatykh B.S., Chekmareva M.S., Zhilyaeva L.V. Multicomponent wound coating in treatment of an experimental, purulent wound. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 29–36. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-29-36>.

ВВЕДЕНИЕ

Бесконтрольное применение антибиотиков населением (без назначения врача) привело к распространению высоковирулентных, резистентных к антибактериальным препаратам микроорганизмов – возбудителей раневой инфекции [1–3]. Основываясь на литературных данных, можно заключить, что сегодня гнойные осложнения составляют 35–45% в структуре хирургических заболеваний, а летальность от них достигает 25% [4, 5]. Кроме того, все чаще в раневом отделяемом обнаруживается не один, а множество возбудителей (микст-инфекция). Несомненно, у современного врача в арсенале имеются различные методы лечения гнойно-воспалительного процесса мягких тканей, однако некоторые из них применимы лишь в условиях стационара, другие слишком дорогостоящие [6–8]. Для амбулаторного же применения не потеряет и никогда не утратит актуальности способ лечения ран под повязкой. Известно, что применение растворов антисептиков хоть и эффективно, но кратковременно оказывает противомикробное действие, что требует большого расхода и (или) частой смены повязки, которая травмирует раневую поверхность [9, 10]. Все вышеизложенное диктует необходимость постоянной разработки и внедрения в клиническую практику новых комбинаций антисептиков, противомикробных препаратов на основах, способных продолжительно выделять в рану активное вещество, что, в свою очередь, сократит частоту перевязок. Таким образом, сведется к минимуму травматизация раневой поверхности в процессе ее заживления.

Мы поставили цель – обосновать эффективность применения разработанного нами раневого покрытия, которое сочетает в себе противомикробный эффект широкого спектра, сорбционную активность, обезболивающее влияние, пролонгированное действие на модели гнойной раны в эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования явилось разработанное нами на базе Курского государствен-

ного медицинского университета раневое покрытие в виде пленки (патент на изобретение РФ № 2605343) следующего состава:

Метронидазол	1,0 г.
Лидокаина гидрохлорид	2,0 г.
Бензалкония хлорид	0,02 г.
Глицерин	1,0 г.
Диметилсульфоксид	1,0 г.
Натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы	1,75 г.
Раствор мирамистина 0,01%	93,23 г.

В связи с тем, что основным компонентом является мирамистин, по ходу изложения материала покрытие будем именовать «Разработанная пленка с мирамистином».

В первую очередь мы провели исследование по определению спектра антимикробной активности разработанной пленки с мирамистином и для сравнения официального препарата «ГелеПран с мирамистином» с помощью метода стандартных дисков в отношении тест-штаммов микроорганизмов *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Bacillus cereus* ATCC 10702, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 и *Candida albicans* ATCC 885-653.

Для определения местно-анестезирующей активности разработанной пленки с мирамистином использовали метод Ренье. Исследуемое вещество вносили в конъюнктивальный мешок глаза кролика породы шиншилла (40 особей, разделенные на две группы: сравнения и опытную). Первое определение поверхностной, аппликационной анестезии проводили в течение 1-й мин и повторяли на 5-, 10-, 15-, 20-, 30-, 40-, 50-, 55-, 60-, 65-, 70-, 75-, 80-, 85-, 90-, 95-, 100-, 105-й мин опыта. Всего проводили 19 определений. Каждый раз фиксировали наименьшее число касаний одинаковой силы и частоты, вызывающих смыкание век. За индекс Ренье, который характеризует степень обезболивающего эффекта, принимали усредненную величину, которая вычислялась как сумма величин, полученных при апробации исследуемой субстанции в течение 105 мин.

Отсутствие мигания в течение 1 мин (100 прикосновений) расценивали как признак полной анестезии. Максимально возможный индекс Ренне 1 900, минимальный 19. Исходя из полученных данных, отражающих изменение чувствительности роговицы глаза кролика, определяли начало (для активных веществ с 1-й мин введения вещества), длительность полной (100%-й анестезии), общую длительность анестезии.

В связи с тем, что «ГелеПран с мирамистином» не обладает анестезирующей активностью, в данном эксперименте в качестве сравнения использовалась 2%-я лидокаиновая мазь.

В эксперименте животным (крысы породы Вистар) в межлопаточной области под наркозом в стерильных условиях моделировался гнойно-воспалительный процесс мягких тканей (рана размером около 250 мм²) по методике П.И. Толстых в нашей модификации [11], обсемененная *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P. Протокол экспериментов был составлен в соответствии с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации.

Экспериментальные животные были разделены на две группы (сравнения и опытная) по 36 в каждой. В группе сравнения лечение проводилось «ГелеПраном с мирамистином», в опытной группе – разработанной пленкой с мирамистином. Перевязки производили 1 раз в день, ежедневно в течение 14 сут.

При визуальной оценке ран фиксировали сроки: исчезновения отека тканей вокруг раневого дефекта, момент наступления полного очищения раны, начала образования грануляций и эпителизации. Планиметрические характеристики высчитывали по методу Л.Н. Поповой (площадь ран, процент уменьшения площади ран (ПУП), скорость заживления).

Бактериологическое исследование проводилось путем посева суспензированного участка раны на плотной питательной среде газонным способом, после чего проводили подсчет выросших колоний (предварительно посева 20 ч инкубировали в термостате при 37 °С и 1 сут при комнатной температуре).

Также проводилась рН-метрия ран с помощью прибора РН-98110 (цена деления шкалы 0,01). Следует отметить, что рН неповрежденной кожи подопытных животных (крыс) составила $5,41 \pm 0,08$.

Результаты обработаны статистически с помощью пакета Microsoft Excel 2010 и Statistica v. 6.0. Количественные признаки представляли в виде медианы, 25- и 75-го перцентилей ($Me (Q_1; Q_3)$). При сравнении двух независимых выборок использовали критерий Манна – Уитни. Критический уровень статистической значимости принят $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В табл. 1 представлены результаты, отражающие силу и спектр противомикробной активности изучаемых средств.

Таблица 1
Table 1

Зона задержки роста, мм, n = 6 Growth retardation zone, mm, n = 6		
Исследуемый состав The tested composition	«ГелеПран с мирамистином» "GelePran with Miramistin"	Разработанная пленка с мирамистином The developed film with Miramistin
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538-P	32; 31; 31; 28; 30; 31	34; 33; 36; 34; 34; 34 $p = 0,003$
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10702	30; 32; 28; 29; 33; 30	32; 35; 27; 32; 32; 35 $p = 0,22$
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	27; 29; 30; 31; 30; 30	33; 25; 35; 31; 28; 34 $p = 0,29$
<i>Proteus vulgaris</i>	27; 30; 28; 28; 28; 27	31; 32; 33; 34; 26; 32 $p = 0,052$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	20; 22; 21; 19; 19; 22	30; 22; 24; 24; 22; 22 $p = 0,01$
<i>Candida albicans</i> ATCC 885-653	22; 21; 24; 25; 22; 28	28; 35; 35; 35; 33; 33 $p = 0,005$

Из данных, приведенных в табл. 1, следует, что разработанная пленка с мирамистином проявляла высокую активность в отношении всех исследуемых тест-штаммов микроорганизмов и по зонам задержки роста не уступала, а по некото-

рым параметрам даже превосходила результаты группы сравнения.

При изучении местно-анестезирующей активности пленки с мирамистином в опыте на кроликах выявлено, что она статистически значимо

превосходила результаты препарата сравнения по трем из четырех параметров (табл. 2). Индекс Ренье в 1,3 раза выше у разработанной пленки с

мирамистином, чем у 2%-й лидокаиновой мази, а длительность общей анестезии почти на 30% дольше.

Таблица 2
Table 2

Результаты местно-анестезирующей активности по методу Ренье, $Me(Q_1; Q_3)$, $n = 20$ Results of local anesthetic activity according to the Renier's method, $Me(Q_1; Q_3)$, $n = 20$		
Исследуемый состав The tested composition	2%-я лидокаиновая мазь 2% Lidocaine ointment	Разработанная пленка с мирамистином The developed film with Miramistin
Время наступления анестезии, с Anesthesia onset time, seconds	60,5 (60; 61)	60 (58,5; 61) $p = 0,58$
Индекс Ренье, усл. ед. Renier's index, conditional units	1,044 (954; 1,169)	1,331 (1,278; 1,403) $p = 0,001$
Длительность полной анестезии, мин Duration of total anesthesia, minutes	45 (40; 50)	67,5 (65; 72,5) $p = 0,001$
Длительность общей анестезии, мин Duration of general anesthesia, minutes	72,5 (65; 80)	105 (103; 105) $p = 0,001$

При наблюдении за течением заживления ран у экспериментальных животных отмечено, что статистически значимых отличий между сравниваемыми группами нет.

В обеих группах площадь ран на 1-е сут составила 250 мм². С течением времени в процессе лечения происходило уменьшение площади ран (рис. 1, *a*) и, соответственно, увеличение ПУП (рис. 1, *b*). Статистически значимые различия по ПУП ран были отмечены на 3–8-е сут наблюдения в пользу опытной группы (максимальная разница

составила 1,3 раза на 3-и сут). По площади ран отличия были статистически значимы вплоть до 15-х сут (максимальная разница составила 1,4 раза на 5-е сут наблюдения). При этом максимальные различия по скорости заживления (табл. 3) отмечены на 1–3-и сут в пользу опытной группы, а на 5–8-е сут в пользу группы сравнения (отличия статистически значимы). Данные планиметрического исследования указывают на большую эффективность разработанной пленки с мирамистином в первую фазу раневого процесса.

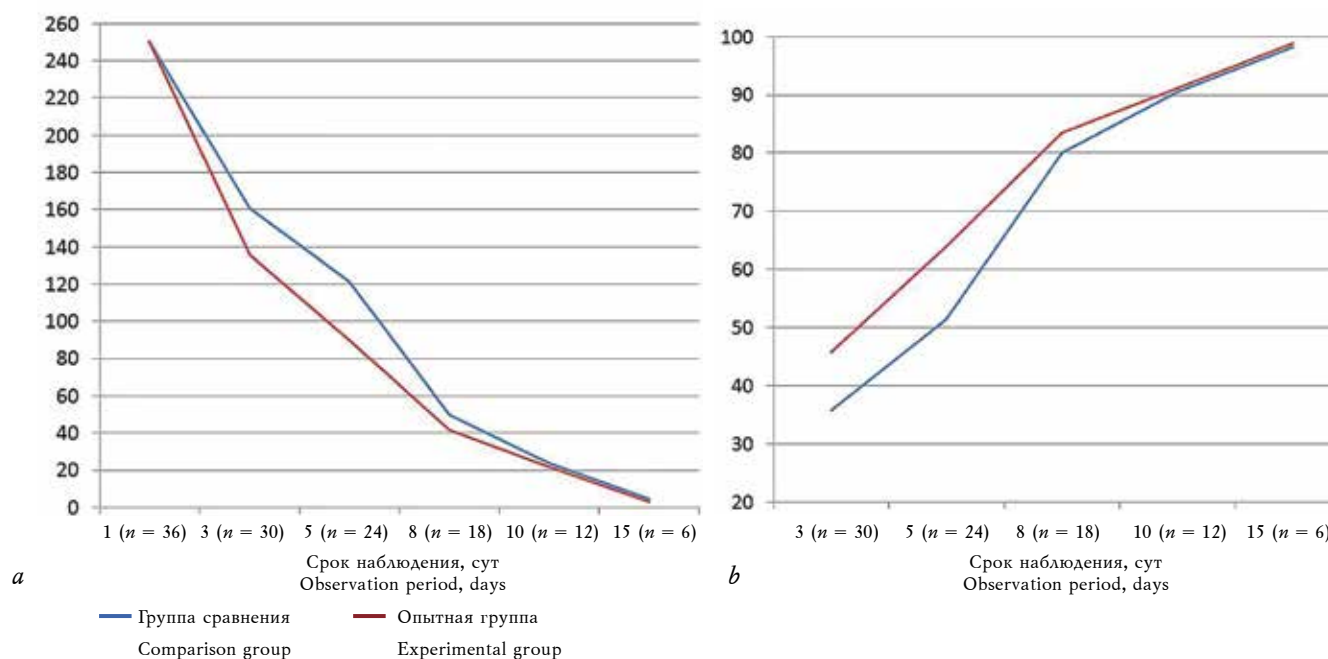


Рис. 1. Раны у экспериментальных животных в процессе лечения: *a* – изменение площади, мм; *b* – процент уменьшения площади, %

Fig. 1. Wounds in the experimental animals during treatment: *a* – changes in the wound surface area; *b* – percentage of wound surface area reduction

Таблица 3
Table 3

Скорость заживления ран у экспериментальных животных в процессе лечения, мм ² /сут, $Me(Q_1; Q_3)$ Speed of wound healing in the experimental animals during treatment, mm ² /day, $Me(Q_1; Q_3)$		
Срок заживления, сут Time of healing, day	Группа сравнения Comparison group	Опытная группа Experimental group
1–3, $n = 30$ 1–3, $n = 30$	17,8 (17,1; 18,2)	22,8 (19,2; 25,5) $p = 0,001$
3–5, $n = 24$ 3–5, $n = 24$	8 (6,3; 8,6)	9,7 (6,2; 12,7) $p = 0,06$
5–8, $n = 18$ 5–8, $n = 18$	9,6 (9,2; 10,1)	6,8 (5,3; 7,6) $p = 0,001$
8–10, $n = 12$ 8–10, $n = 12$	5,2 (4,4; 6,1)	4,3 (1,9; 5,1) $p = 0,13$
10–15, $n = 6$ 10–15, $n = 6$	1,6 (1,3; 1,7)	1,3 (1,1; 2,2) $p = 0,63$

При измерении на 1-е сут обсемененность ран составляла $14,1 \times 10^7$ КОЕ/г (табл. 4). В группе сравнения и опытной происходило постепенное уменьшение микробной обсемененности ран. Между группами статистически значимые различия отмечались на 8-е сут наблюдения.

При рН-метрии выявлено то, что изначальная среда ран была слабощелочная, в процессе заживления происходил переход рН в кислую сторону и к 15-м сут приближался к нормальному значению неповрежденной кожи (рис. 2).

Более того, между группами наблюдались статистически значимые отличия по уровню рН на 5-, 8- и 15-е сут наблюдения (в пользу опытной группы). Данное обстоятельство подтверждает эффективность разработанной пленки с мирамистином (так же, как и препарата сравнения) в лечении гнойно-воспалительного процесса мягких тканей.

Таблица 4
Table 4

Динамика обсемененности ран, КОЕ/г, $Me(Q_1; Q_3)$, $n = 6$ Dynamics of wound contamination, CFU/g, $Me(Q_1; Q_3)$, $n = 6$					
Группа Group	Срок наблюдения, сут Observation period, days				
	1	3	5	8	10
Сравнения Comparison group	$14,1 (14,1; 14,2) \times 10^7$	$6,2 (6,1; 6,3) \times 10^6$	$19,3 (18,5; 20) \times 10^5$	$11,3 (10; 13,7) \times 10^4$	$6,9 (6,6; 7) \times 10^4$
Опытная Experimental	$14,1 (13,9; 14,1) \times 10^7$ $p = 0,52$	$5,8 (5; 6,1) \times 10^6$ $p = 0,07$	$15,8 (10,5; 23,2) \times 10^5$ $p = 0,34$	$9,7 (9,1; 10,2) \times 10^4$ $p = 0,048$	$6 (5,9; 6,5) \times 10^4$ $p = 0,052$

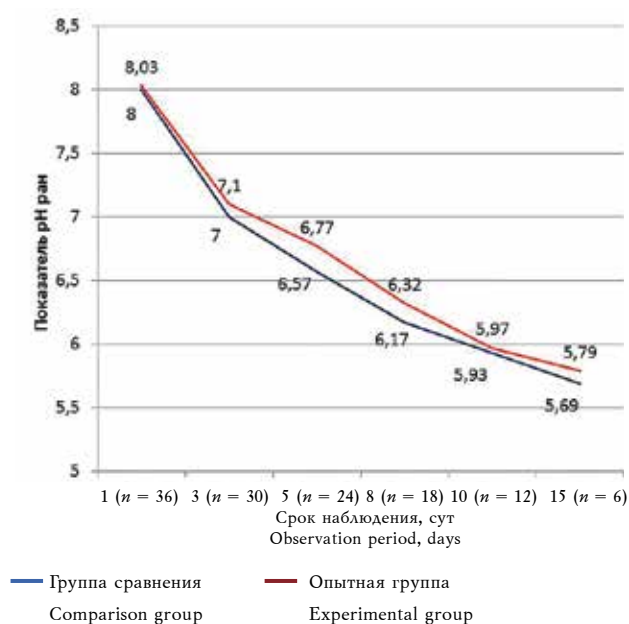


Рис. 2. Результаты рН-метрии ран в процессе лечения
Fig. 2. The results of pH evaluation of the wounds during treatment

ОБСУЖДЕНИЕ

В современном обществе заболевание с временной утратой трудоспособности равняется значительным финансовым потерям как следствие ухудшение благосостояния каждого человека. Более того, в стационарах стремятся сократить срок пребывания больных, отправляя их на долечивание в амбулаторных условиях. Именно на данном этапе необходимы современные эффективные средства для лечения ран. В нашем исследовании разработанная пленка (раневое покрытие) содержит различные антисептики и противомикробные вещества (мирамистин, метронидазол, бензалкония хлорид, диметилсульфоксид), которые перекрывают практически весь спектр возможных возбудителей раневой инфекции. Они действуют на разные структуры микробной клетки, разрушая ее (гидрофобное взаимодействие с мембранами микроорганизмов, денатурация белков клетки, дезорганизация процессов обмена в клетках, что в конечном итоге приводит к гибели микроорганизмов). В литературе описаны слу-

чай их успешного изолированного применения в офтальмологической, урологической, гинекологической и хирургической практике [12–14]. Результаты нашего исследования, представленные в данной статье, подтверждают эффективность разработанной нами пленки в лечении гнойно-воспалительного процесса мягких тканей, что было доказано на основании приведенных методов исследования. Кроме того, наличие обезболивающего компонента позволяет сделать перевязку менее болезненной, что облегчает данную процедуру даже в домашних условиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанное нами раневое покрытие в виде пленки с мирамистином обладает высокой противомикробной активностью и местно-анестезирующим действием, купирует воспалительный процесс на ранних сроках и стимулирует грануляцию и эпителизацию ран. Применение разработанной нами пленки статистически значительно ускоряло процесс заживления ран в 1,3 раза на сроке 1–3-и сут, а на 5–8-е сут ситуация была обратной в пользу группы сравнения. В опытной группе отмечено статистически значимое снижение обсемененности ран в 1,2 раза на 8-е сут наблюдения. Значения pH приближались к значениям неповрежденной кожи, что также доказывает эффективность применения разработанной пленки. Таким образом, разработанное нами раневое покрытие для лечения гнойно-воспалительных процессов мягких тканей можно рекомендовать для дальнейших доклинических исследований.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Блатун Л.А. Местное медикаментозное лечение ран. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2011; 4: 51–59. [Blatun L.A. Local drug treatment of wounds. *Surgery*. 2011; (4): 51–59 (in Russ.)].
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. [Plotnikov F.V. Integrated treatment of patients with purulent wounds, depending on the ability of pathogens to form a biofilm. *News of Surgery*. 2014; 22 (5): 575–582 (in Russ.)]. DOI: 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. [Khalilov M.A. Issues of optimizing localized treatment of purulent wounds. *Kursk Scientific-Practical Herald «The Man and His Health»*. 2009; (3): 31–37 (in Russ.)].
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. Журнал им. Н.И.Пирогова*. 2014; 1: 54–58. [Chekmareva I.A., Blatun L.A., Terekhova R.P., Zakharova O.A., Kochergina E.V., Agafonov V.A. Morphofunctional aspects of wound regeneration in treatment with iodine-containing ointments. *Surgery*. 2014; (1): 54–58 (in Russ.)].
7. Бабушкина И.В. Наночастицы металлов в лечении экспериментальных гнойных ран. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2011; 7 (2): 530–533. [Babushkina I.V. Nanoparticles of metals in treatment of experimental purulent wounds. *Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2011; 7 (2): 530–533 (in Russ.)].
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. [Kuznetsov N.A., Nikitin V.G. Gentle surgical interventions and interactive dressings in treatment of infected wounds. *CONSILIUM medicum: Surgery (application)*. 2006; (2): 39–46 (in Russ.)].
10. Юшков А.Г., Шульгина Н.А., Гущина А.А., Юшков Г.Г., Расулов М.М., Бенеманский В.В. 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. [Jushkov A.G., Shul'gina N.A., Gushchina A.A., Jushkov G.G., Rasulov M.M., Benemanskij V.V. To the possibility of detecting side effects of Metronidazole (solution for infusions 0.5%, 100 ml) under the experimental conditions. *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 Russ.)].
11. Суковатых Б.С., Бежин А.И., Панкрушева Т.А., Григорьян А.Ю., Жилыева Л.В., Кобзарева Е.В., Андриянина Е.Г., Мишина Е.С. Лечение гнойных ран иммобилизованными формами антисептиков. *Врач*. 2016; (3): 16–20. [Sukovatykh B.S., Bezhin A.I., Pankrusheva T.A., Grigoryan A.Yu., Zhilyaeva L.V., Kobzareva E.V., Andryukhina E.G., Mishina E.S. Purulent wound treatment with immobilized antiseptic formulations. *Doctor*. 2016; (3): 16–20 (in Russ.)].

12. Epstein S., Ahdo 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. Миронова А.В. Возможности применения препарата мирамистин® в практике детского гинеколога (обзор литературы). *Эффективная фармакотерапия.* 2016; 14: 42–46. [Mironova A.V. Possibilities of using Miramistin® in the practice of a children's gynecologist (review of the literature). *Effective Pharmacotherapy.* 2016; (14): 42–46 (in Russ.)].
14. Яремчук 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. [Jaremchuk A.A., Hishova O.M., Polovko N.P. Microbiological substantiation for the use of benzalkonium chloride in a soft dosage form for external use. *Bulletin of Pharmacy.* 2012; 2 (56): 39–45 (in Russ.)].

Вклад авторов

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, окончательное утверждение для публикации рукописи. Суковатых Б.С. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Чекмарева М.С. – анализ и интерпретация данных. Жилиева Л.В. – анализ и интерпретация данных.

Authors contribution

Grigoryan A.Yu. – conception and design, analysis and interpretation of the data, justification of the manuscript, critical revision of the manuscript for important intellectual content. Bezhin A.I. – justification of the manuscript, critical revision of the manuscript for important intellectual content, final approval of the manuscript for publication. Pankrusheva T.A. – justification of the manuscript, critical revision of the manuscript for important intellectual content, final approval of the manuscript for publication. Sukovatykh B.S. – justification of the manuscript, critical revision of the manuscript for important intellectual content, final approval of the manuscript for publication. Chekmareva M.S. – analysis and interpretation of the data. Zhilyaeva L.V. – analysis and interpretation of the data.

Сведения об авторах

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.

Чекмарева Марина Семеновна, канд. мед. наук, ст. преподаватель, кафедра фармацевтической технологии, КГМУ, г. Курск.

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

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

Authors information

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

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

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

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

Chekmareva Marina S., PhD, Senior Lecturer, Department of Pharmaceutical Technology, Kursk State Medical University, Kursk, Russian Federation.

Zhilyaeva Ludmila V., PhD, Senior Lecturer, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Kursk State Medical University, Kursk, Russian Federation.

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

Поступила в редакцию 08.02.2018
Подписана в печать 27.03.2019

Received 08.02.2018
Accepted 27.03.2019

Вентиляция и механика дыхания у больных хронической обструктивной болезнью легких при разном положении тела

Диш Ал.Ю.¹, Диш Ан.Ю.¹, Агеева Т.С.¹, Карзилов А.И.¹, Тетенева А.В.², Калачева Т.П.¹, Месько П.Е.¹, Мишустина Е.Л.¹, Зайцева А.А.¹, Параева О.С.³, Беспалова И.Д.¹, Черногорюк Г.Э.¹

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

² Медико-санитарная часть № 2
Россия, 634040, г. Томск, ул. Бела Куна, 3

³ Городская больница № 5, г. Барнаул
Россия, 656045, г. Барнаул, Змеиногорский тракт, 75

РЕЗЮМЕ

Целью данной работы являлось изучение особенностей изменения механических свойств легких при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) в целом и по зонам в зависимости от положения тела.

Материалы и методы. Исследование выполнено у 37 пациентов с ХОБЛ в вертикальном и горизонтальном положениях (ВП и ГП).

Результаты. При исследовании интегральной механики дыхания было установлено снижение динамической растяжимости и повышение общего неэластического сопротивления легких на выдохе в ГП по сравнению с ВП. При этом, несмотря на повышение значений общего неэластического сопротивления на выдохе (ОНС_{выд}) в горизонтальном положении, не отмечалось увеличения общей работы дыхания. У пациентов с ХОБЛ, в отличие от здоровых лиц, регистрировалось исчезновение различий регионарных механических характеристик как в ВП, так и ГП тела. Отсутствовали различия в механике дыхания верхних, средних и нижних регионов левого легкого, зоны правого легкого различались лишь по показателям регионарной неэластической работы дыхания (НРД_р), которые увеличивались по направлению сверху вниз. В нижней зоне по сравнению с верхней большие значения показателей НРД_р на вдохе (НРД_{вд}_р) и НРД_р на выдохе (НРД_{выд}_р) отмечены при ВП и ГП тела.

Заключение. Полученные данные противоречат доминирующему мнению об усугублении регионарных различий вентиляции и механики дыхания под влиянием развивающихся в легких очаговых и диффузных воспалительно-склеротических патологических изменений и эмфиземы.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, регионарная механика дыхания, интегральная механика дыхания, вертикальное положение тела, горизонтальное положение тела.

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным этическим комитетом СибГМУ.

✉ Агеева Татьяна Сергеевна, e-mail: ageeva.ts@gmail.com.

Для цитирования: Диш Ал.Ю., Диш Ан.Ю., Агеева Т.С., Карзилов А.И., Тетенева А.В., Калачева Т.П., Месько П.Е., Мишустина Е.Л., Зайцева А.А., Параева О.С., Беспалова И.Д., Черногорюк Г.Э. Вентиляция и механика дыхания у больных хронической обструктивной болезнью легких при разном положении тела. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 37–45. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-37-45>.

УДК 616.23/.24-002.2-092:616.24-008.4

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-37-45>

Ventilation and respiration mechanics in patients with chronic obstructive pulmonary disease in different body positions

Dish Al.Ju.¹, Dish An.Ju.¹, Ageeva T.S.¹, Karzilov A.I.¹, Teteneva A.V.², Kalacheva T.P.¹, Mesko P.E.¹, Mishustina E.L.¹, Zaytseva A.A.¹, Paraeva O.S.³, Bepalova I.D.¹, Chernogoryuk G.E.¹

¹ Siberian State Medical University (SSMU)
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Medical and Sanitary Hospital № 2
3, Bela Kuna Str., Tomsk, 634040, Russian Federation

³ City Hospital 5
75, Zmeinogorsky Trakt, Barnaul, 656045, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of this work was to study changes in mechanical lung properties in cases of COPD in general and in different zones depending on the body position.

Materials and methods. The research was performed in 37 patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in the vertical and horizontal positions (VP and HP).

Results. The analysis of integral respiration mechanics has revealed a reduction in dynamic lung compliance and an increase in total non-elastic lung resistance during expiration (TNR_{exp}) in HP vs. VP. At the same time, despite the increase in TNR_{exp} in HP, the total work of breathing did not increase. Unlike healthy individuals, the COPD patients were characterized by the absence of differences in regional mechanical properties in both VP and HP. There were no differences in the respiration mechanics of the left lung, and the zones of the right lung only differed in the parameters of regional non-elastic work of breathing (NWB_r) that was increasing from top downwards: the indicators of NWB_r during expiration and NWB_r in the lower zone were higher as opposed to those of the upper zone in VP. As for HP, NWB_r during inspiration, NWB_r during expiration and NWB_r were higher.

Conclusion. The data obtained contradict the prevailing opinion about an escalation in regional differences in ventilation and respiration mechanics under the influence of emerging focal and diffuse inflammatory-sclerotic pathological changes in lungs and emphysema.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, regional respiration mechanics, integral respiration mechanics, vertical body position, horizontal body position.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed informed consent to participate in the study. The study was approved by the local ethical committee under SSMU.

For citation: Dish Al.Ju., Dish An.Ju., Ageeva T.S., Karzilov A.I., Teteneva A.V., Kalacheva T.P., Mesko P.E., Mishustina E.L., Zaytseva A.A., Paraeva O.S., Beshpalova I.D., Chernogoryuk G.E. Ventilation and respiration mechanics in patients with chronic obstructive pulmonary disease in different body positions. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 37–45. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-37-45>.

ВВЕДЕНИЕ

Из литературных источников известно, что участки легкого имеют различные показатели вентиляции, которые определяются путем деления альвеолярной вентиляции на альвеолярный объем [1]. Поэтому сложилось представление о неравномерности вентиляции легких по зонам, которая объясняется различием легочных структур в анатомическом и морфофункциональном отношении. Имеет значение разное количественное соотношение эластических компонентов по зонам легких, сурфактанта, бронхиального секрета, локального кровенаполнения, тонуса бронхов и пр., а также влияние гравитации на органы средостения. Неравномерность вентиляции верхних и нижних зон легких, которую обнаруживали у здоровых людей, объясняли гравитационным воздействием на органы средостения и появлением в вертикальном положении тела (ВП) разницы уровня внутриплеврального давления по направлению сверху вниз [2], хотя данные о влиянии различий внутриплеврального давления на регионарную вентиляцию противоречивы. Например, известен факт, что в положении лежа различия воздушности регионов легких сохраняются, что было определено посредством электроплетизмографии [3].

Существует представление, что гравитация воздействует на легкие таким образом, что в апикальной области внутриплевральное давление отклонено в отрицательную сторону больше, чем над базальными участками. Вследствие этого бронхи и альвеолы в верхних зонах легких имеют больший диаметр, чем в нижних, что обуславливает наличие меньших значений бронхиального сопротивления в апикальных зонах легких по сравнению с базальными [4]. Однако в литературе присутствуют и другие данные: у здоровых людей и при патологии бронхолегочной системы наибольшие значения общего неэластического сопротивления обнаружены в верхних зонах легких, а наименьшие – в нижних [5].

Также опубликованы результаты исследований, свидетельствующие о том, что внутриплевральное давление над различными участками легких в среднем варьирует с одинаковой амплитудой. Авторы данного исследования считают, что распределение транспульмонального давле-

ния над поверхностью легких – есть основная физиологическая функция плевральной полости [5]. Поэтому, с учетом малого объема вентиляции верхних зон легких по сравнению с нижними, показатели бронхиального сопротивления имеют большие значения в апикальных отделах по сравнению с базальными. Эти данные вступают в конфликт с доминирующим представлением о том, что в верхних зонах бронхи и альвеолы имеют больший диаметр. В то же время исследования легких методом морфометрии показали, что легочные структуры регионов гомогенны [6, 7].

Для разрешения изложенных противоречий необходимо исследовать регионарные механические свойства легких. За последние годы мы не нашли работ, посвященных этой проблеме.

Целью настоящего исследования являлось изучение особенностей изменения механических свойств легких при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) в целом и по зонам в зависимости от положения тела.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведенное исследование характеризуется как проспективное когортное. Когорта пациентов наблюдалась до окончания исследования. Когорту составили 37 человек с диагнозом ХОБЛ I–II степени. Длительность заболевания от 7 до 20 лет, возраст ($43,9 \pm 3,0$) года (29 мужчин, 8 женщин), которым проведено обследование в соответствии с клиническими рекомендациями по диагностике ХОБЛ [8].

Кроме того, пациентам было выполнено исследование функции внешнего дыхания (спирография, механика дыхания). Параметры интегральной механики дыхания находили путем анализа кривых пневмотахограммы, спирограммы, а также транспульмонального давления. Транспульмональное давление рассчитывали путем вычитания из значений давления в ротовой полости показателей давления в нижней трети пищевода. Для этого использовали зонд, введенный в пищевод через нижний носовой ход. Зонд находился на уровне его нижней трети. Внутрипищеводное давление определяли аппаратом ПДП 1000 МД (Медфизприбор, Россия).

Зональную механику дыхания по трем регионам (верхнему, среднему и нижнему) исследовали

путем одновременной регистрации спирограммы, транспульмонального давления, пневмотахограммы и реограмм по шести зонам легких (две верхние зоны, две средние и две нижние) методом Е.А. Фринермана. Для анализа использовали компьютерную программу, позволяющую производить построение дыхательных петель и расчет показателей механики дыхания. Производили сравнение показателей механики дыхания в вертикальном и горизонтальном положении (ГП) тела.

Рассчитывали составляющие общей работы дыхания ($ОРД$): неэластическую работу дыхания на вдохе ($НРДвд$) и выдохе ($НРДвдв$), эластическую работу дыхания ($ЭРД$), удельную работу дыхания ($УРД$). Эластические свойства легких оценивали путем определения динамической растяжимости ($Сдин$), неэластические свойства – уровня общего неэластического сопротивления на выдохе ($ОНСвдв$) и вдохе ($ОНСвд$). Значения этих показателей – результат отношения, числителем которого является неэластический компонент транспульмонального давления (его максимальное значение на выдохе или вдохе), а знаменателем – средняя скорость воздушного потока на выдохе или вдохе соответственно.

Регионарные дыхательные петли получали при анализе кривых соответствующих реограмм по зонам (при этом их принимали за зональные спирограммы) и транспульмонального давления. Используя полученные дыхательные петли, определяли следующие параметры вентиляции и механики дыхания по регионам (аббревиатура включает подстрочную букву «р»): минутный объем

вентиляции ($МОВ_r$), дыхательный объем ($ДО_r$), общую работу дыхания ($ОРД_r$), неэластическую работу дыхания ($НРД_r$), $НРД_r$ на вдохе и на выдохе ($НРДвд_r$, $НРДвдв_r$), эластическую работу дыхания ($ЭРД_r$), динамическую растяжимость ($Сдин_r$), общее неэластическое сопротивление на вдохе ($ОНСвд_r$) и выдохе ($ОНСвдв_r$).

Статистический анализ данных проводили с помощью программных пакетов Statistica 6.0 for Windows. Нормальность распределения оценивали с помощью теста Шапиро – Уилка. Выполнялись как описательный, так и сравнительный анализ. Пороговый уровень статистической значимости составлял 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В табл. 1 представлена характеристика показателей интегральной механики дыхания (больные ХОБЛ в зависимости от положения тела).

У пациентов с ХОБЛ при переходе из вертикального положения тела в горизонтальное $ОНСвдв$ повышалось в 1,5 раза, что можно объяснить перераспределением значений внутриплеврального давления в горизонтальном положении тела (возникновением вентро-дорзального градиента), способствующее сужению просвета патологически измененных бронхов. Кроме того, при ГП тела регистрировалось уменьшение значений $Сдин$, обусловленное повышением тканевого трения [7], изменениями кровотока. Достоверных отличий среди остальных исследованных параметров в ВП и ГП тела не обнаружено.

Таблица 1

Table 1

Параметры интегральной механики дыхания у больных ХОБЛ при вертикальном и горизонтальном положении тела, $M \pm m$
Parameters of integral mechanics of breathing in patients with COPD with vertical and horizontal positions of the body, $M \pm m$

Параметр Parameter	Вертикальное положение, $n = 37$ Vertical position	Горизонтальное положение, $n = 37$ Horizontal position	Статистическая значимость различий Statistical significance of differences
МОД, л/мин RMV, l/min	$8,68 \pm 0,64$	$7,79 \pm 0,65$	0,073
ОРД, кг·м/мин General WOB, kg·m/min	$0,23 \pm 0,06$	$0,31 \pm 0,09$	0,059
УРД, кг·м/л Specific WOB, kg·m/l	$0,02 \pm 0,005$	$0,03 \pm 0,008$	0,064
ЭРД, кг·м/мин Elastic WOB, kg·m/min	$0,09 \pm 0,02$	$0,14 \pm 0,03$	0,103
ЭРД/ОРД, % Elastic/general WOB, %	$51,28 \pm 5,07$	$54,94 \pm 3,30$	0,083
НРДвд, кг·м/мин Inspiratory non-elastic WOB, kg·m/min	$0,09 \pm 0,03$	$0,13 \pm 0,05$	0,080

Окончание табл. 1
End of table 1

Параметр Parameter	Вертикальное положение, $n = 37$ Vertical position	Горизонтальное положение, $n = 37$ Horizontal position	Статистическая значимость различий Statistical significance of differences
НРД _{выд} , кг·м/мин Expiratory non-elastic WOB, kg·m/min	$0,09 \pm 0,03$	$0,12 \pm 0,04$	0,094
НРД, кг·м/мин Non-elastic WOB, kg·m/min	$0,19 \pm 0,06$	$0,26 \pm 0,09$	0,012
НРД/ОРД, % Non-elastic/general WOB, %	$73,96 \pm 6,79$	$73,80 \pm 3,56$	0,059
Сдин, л/см вод. ст. Cdyn, l/cm of water column	$0,29 \pm 0,04$	$0,18 \pm 0,02$	0,013
ОНС _{вд} , см вод. ст./л/с General non-elastic inspiratory airway resistance, cmH ₂ O/l/s	$3,84 \pm 0,56$	$4,81 \pm 0,64$	0,077
ОНС _{выд} , см вод. ст./л/с General non-elastic expiratory airway resistance, cmH ₂ O/l/s	$5,74 \pm 0,71$	$9,30 \pm 1,10$	0,014

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: МОД – минутный объем дыхания; ОРД – общая работа дыхания; УРД – удельная работа дыхания; ЭРД – эластическая работа дыхания; НРД_{вд} – неэластическая работа дыхания на вдохе; НРД_{выд} – неэластическая работа дыхания на выдохе; Сдин – динамическая растяжимость; ОНС_{вд} – общее неэластическое сопротивление дыхания на вдохе; ОНС_{выд} – общее неэластическое сопротивление дыхания на выдохе.

Note. Here and in Tables 2 and 3: RMV – respiratory minute volume; WOB – work of breathing, Cdyn – dynamic compliance.

Результаты изучения параметров регионарной механики дыхания приведены в табл. 2. При сопоставлении механических показателей верхней и нижней зоны правого легкого при ВП обнаружено, что значение НРД_р в нижней зоне было больше, чем в верхней, что объясняется увеличением НРД_{выд}.

Аналогичное соотношение параметров было выявлено при сопоставлении механических показателей верхней и средней зоны правого легкого, где также отмечено увеличение НРД_р: в средней зоне оно было больше, чем в верхней зоне, из-за обеих фракций неэластической работы дыхания (как на вдохе, так и на выдохе). Механические характеристики средней и нижней зоны правого легкого не отличались.

Различий в значениях показателей регионарной механики дыхания левого легкого (верхней и нижней, верхней и средней, средней и нижней зонах) не обнаружено.

Результаты исследования регионарной механики дыхания у пациентов в ГП тела представлены в табл. 3. Основные различия наблюдались между зонами правого легкого: в нижней зоне ДО_р было больше, чем в верхней зоне. Большие значения дыхательного объема в нижних отделах правого легкого, по сравнению с верхними, обуславливали аналогичное соотношение МОВ_р в этих областях. В верхней зоне справа МОВ_р был

в 2 раза меньше, чем в нижней зоне. В ГП было обнаружено увеличение НРД_{вд} в верхней зоне, что связано с увеличением тканевого трения при ГП тела из-за изменения воздействия сил гравитации и градиента внутриплеврального давления на легкие в ГП и перераспределения легочного кровотока. НРД_{выд} в нижней зоне справа при ГП так же, как и в ВП тела, была больше, чем в верхней.

В нижней зоне из-за больших значений НРД_{вд} и НРД_{выд} достоверно большей оказалось НРД_р в отличие от верхней зоны. Верхняя и средняя зоны правого легкого так же, как средняя и нижняя, по механическим свойствам были идентичны друг другу. Механические свойства левого легкого при ГП тела по регионам одинаковы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование параметров интегральной механики дыхания у больных ХОБЛ показало изменение некоторых из них в зависимости от положения тела. Так, в ГП отмечалось снижение Сдин и повышение ОНС_{выд}, и, несмотря на повышение значений ОНС_{выд}, не было увеличения ОРД.

Изменения регионарных механических свойств легких обнаружены только в правом легком: зоны различались лишь по показателям НРД_р, увеличивающейся по направлению сверху вниз (в нижней зоне по сравнению с верхней большие

Таблица 2

Показатель Parameter		Правое легкое Right lung				Левое легкое Left lung				Статистическая значимость различий Statistical significance of differences							
		ПВ RU	ПС RM	ПН RL	АВ LU	АС LM	АН	ПВ-ПН RU-RL	ПВ-ПС RU-RM	ПС-ПН RM-RL	АВ-АН LU-LL	АВ-АС LU-LM	АС-АН LM-LL				
Параметры вентиляции и механики дыхания у пациентов с ХОБЛ при вертикальном положении тела в верхней, средней и нижней зонах правого и левого легких, $M \pm m$ Ventilation parameters and respiratory mechanics in patients with COPD with a vertical body position in the upper, middle and lower zones of the right and left lungs, $M \pm m$	ΔO_p , Ом TV, Ohm	0,38±0,07	0,58±0,11	0,84±0,26	0,46±1,14	0,56±0,06	0,53±0,11	0,086	0,094	0,063	0,064	0,098	0,075				
	МОВ, Ом/мин RMV, Ohm/min	6,12±1,16	9,64±1,89	13,44±4,18	7,67±1,14	9,39±0,99	8,87±1,84	0,075	0,082	0,061	0,098	0,089	0,084				
	ОРА _п , Ом·м/мин General WOB, Ohm·m/min	11,20±2,87	20,72±4,20	32,01±11,32	16,00±3,49	25,02±6,17	21,63±7,11	0,062	0,072	0,074	0,086	0,077	0,080				
	ЭРА _п , Ом·м/мин Elastic WOB, Ohm·m/min	8,15±2,06	12,07±2,66	16,52±7,59	10,86±2,27	11,39±2,24	10,40±3,82	0,067	0,064	0,087	0,087	0,086	0,095				
	НРАВА _п , Ом·м/мин Inspiratory non-elastic WOB, Ohm·m/min	3,05±0,89	7,72±1,55	10,77±3,84	5,12±1,20	10,62±3,19	9,08±3,40	0,088	0,036	0,080	0,083	0,085	0,072				
	НРАВД _п , Ом·м/мин Expiratory non-elastic WOB, Ohm·m/min	2,62±0,95	7,07±1,55	9,98±2,99	4,72±1,18	9,60±2,77	6,17±2,02	0,018	0,025	0,065	0,070	0,079	0,065				
	НРА _п , Ом·м/мин Non-elastic WOB, Ohm·m/min	5,63±1,75	14,79±3,34	20,75±6,54	9,85±2,31	20,22±5,92	15,21±5,36	0,039	0,036	0,084	0,079	0,070	0,067				
	Сдин _п , Ом/см вод. ст. Cdyn, Ohm/cm of water column	0,25±0,08	0,29±0,07	0,48±0,12	0,23±0,04	0,34±0,06	0,35±0,06	0,072	0,067	0,062	0,083	0,064	0,097				
	ОНСВА _п , см вод. ст./Ом/с General non-elastic inspiratory airway resistance, cm H ₂ O/Ohm/s	7,11±2,28	9,64±4,09	9,77±4,08	4,50±1,50	4,57±1,31	4,05±1,38	0,078	0,096	0,074	0,066	0,076	0,081				
ОНСВД _п , см вод. ст./Ом/с General non-elastic expiratory airway resistance, cm H ₂ O/Ohm/s	9,96±2,82	11,00±4,02	9,99±3,25	7,65±3,21	6,36±1,76	4,53±1,25	0,093	0,888	0,081	0,061	0,100	0,072					

Примечание. Здесь и в табл. 3: ПВ – верхняя зона правого легкого; ПС – средняя зона правого легкого; ПН – нижняя зона правого легкого; ЛВ – верхняя зона левого легкого; ЛС – средняя зона левого легкого; ЛН – нижняя зона левого легкого. МОВ_p – минутный объем вентиляции; ΔO_p – дыхательный объем.

Note. Here and in Table 3: RU – superior zone of the right lung; RM – middle zone of the right lung; RL – lower zone of the right lung; LU – left upper pulmonary zone; LV – left upper pulmonary zone; LM – middle zone of the left lung; RL – lower zone of the left lung; RMV – respiratory minute volume; TV – tidal volume.

Таблица 3
Table 3

Параметры вентиляции и механики дыхания у пациентов с ХОБЛ при горизонтальном положении в верхней, средней и нижней зонах правого и левого легких, $M \pm m$ Ventilation and respiratory mechanics in patients with COPD in a horizontal position in the upper, middle and lower zones of the right and left lungs, $M \pm m$												
Показатель Parameter	Правое легкое Right lung			Левое легкое Left lung			Статистическая значимость различий Statistical significance of differences					
	ПВ RU	ПС RM	ПН RL	ЛВ LU	ЛС LM	ЛН LL	ПВ-ПН RU-RL	ПВ-ПС RU-RM	ПН-ПН RM-RL	ЛВ-ЛН LU-LL	ЛВ-ЛС LU-LM	ЛС-ЛН LM-LL
ΔO_p , Ом TV, Ohm	0,46 ± 0,09	0,68 ± 0,16	0,88 ± 0,19	0,39 ± 0,06	0,53 ± 0,09	0,50 ± 0,09	0,048	0,064	0,077	0,068	0,077	0,096
МОВ, Ом/мин RMV, Ohm/min	7,22 ± 1,47	10,65 ± 2,48	13,82 ± 2,90	5,97 ± 0,86	8,28 ± 1,34	8,01 ± 1,35	0,049	0,082	0,079	0,069	0,070	0,082
ОРА _п , Ом·м/мин General WOB, Ohm·m/min	23,77 ± 6,16	37,92 ± 11,43	52,61 ± 14,43	20,91 ± 5,76	33,05 ± 9,59	34,93 ± 10,12	0,062	0,086	0,068	0,094	0,082	0,093
ЭРА _п , Ом·м/мин Elastic WOB, Ohm·m/min	17,95 ± 4,58	23,46 ± 7,04	31,32 ± 8,46	15,33 ± 5,15	19,61 ± 5,72	17,57 ± 4,53	0,088	0,073	0,077	0,088	0,086	0,079
ИРА _{вдп} , Ом·м/мин Inspiratory non-elastic WOB, Ohm·m/min	5,56 ± 2,15	13,82 ± 4,43	19,73 ± 6,17	4,88 ± 1,30	12,41 ± 3,89	14,28 ± 4,75	0,016	0,066	0,081	0,079	0,073	0,061
ИРА _{выдп} , Ом·м/мин Expiratory non-elastic WOB, Ohm·m/min	7,03 ± 1,79	10,23 ± 2,49	17,06 ± 4,35	5,41 ± 1,18	9,45 ± 2,59	13,89 ± 4,36	0,049	0,094	0,091	0,068	0,068	0,074
ИРА _п , Ом·м/мин Non-elastic WOB, Ohm·m/min	12,43 ± 3,79	24,05 ± 6,85	36,79 ± 10,49	10,27 ± 2,22	21,86 ± 6,37	28,17 ± 9,05	0,032	0,082	0,094	0,091	0,076	0,083
Сдин _п , Ом/см вод. ст. Cdyn, Ohm/cm of water column	0,13 ± 0,03	0,23 ± 0,05	0,26 ± 0,06	0,13 ± 0,03	0,19 ± 0,03	0,16 ± 0,03	0,061	0,061	0,098	0,087	0,076	0,087
ОНС _{вдп} , см вод. ст./Ом/с General non-elastic inspiratory airway resistance, cm H ₂ O/Ohm/s	5,62 ± 1,30	7,32 ± 1,98	5,87 ± 1,69	6,24 ± 1,32	6,10 ± 1,16	8,11 ± 1,56	0,069	0,067	0,088	0,067	0,079	0,090
ОНС _{выдп} , см вод. ст./Ом/с General non-elastic expiratory airway resistance, cm H ₂ O/Ohm/s	15,70 ± 4,17	10,89 ± 2,97	8,86 ± 2,48	12,17 ± 2,30	8,84 ± 1,64	14,20 ± 4,33	0,071	0,08	0,083	0,064	0,093	0,074

значения были при ВП – $НРД_{выд_r}$ и $НРД_r$, а в ГП – $НРД_{вд_r}$, $НРД_{выд_r}$ и $НРД_r$). $ДО_r$ и $МОВ_r$ различались только при ГП тела. Все зоны левого легкого по механическим свойствам были идентичны друг другу.

У здоровых людей параметры интегральной и регионарной механики дыхания в ВП и ГП тела имели существенные отличия между верхней и нижней зоной, а также средней и нижней как правого, так и левого легкого [8].

По общепринятому мнению, при заболеваниях легких неравномерность вентиляции и механики дыхания по регионам должна усиливаться [9]. Однако мы обнаружили, что у пациентов с ХОБЛ отличия в механических свойствах наблюдались только в верхней и нижней зонах правого легкого, а остальные регионы были идентичны по своим механическим характеристикам. То есть различия механических свойств регионов легких, характерные для здоровых людей, у пациентов с ХОБЛ не определяются. Учитывая этот факт, можно предполагать, что компенсаторные механизмы, существующие у здоровых лиц, у пациентов с ХОБЛ отсутствуют. Скорее всего, при ХОБЛ не определяется действие внутреннего источника механической активности легких, который регистрируется у здоровых людей и обуславливает сохранение механического гомеостаза легких [8], характеризующегося различиями регионов легких по механическим параметрам по направлению от верхушек к базальным отделам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У пациентов с ХОБЛ, в отличие от здоровых лиц, наблюдается отсутствие различий в механических свойствах регионов левого легкого и минимальные отличия зон правого легкого как при вертикальном, так и при горизонтальном положении тела. То есть определяется идентичность регионарных механических характеристик легких, что противоречит доминирующему мнению об усугублении регионарных различий вентиляции и механики дыхания под влиянием развивающихся в легких очаговых и диффузных воспалительно-склеротических патологических изменений и эмфиземы.

Вклад авторов

Диш Ал.Ю., Карзилов А.И. – разработка концепции и дизайна; анализ и интерпретация данных; обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания. Агеева Т.С. – разработка концепции и дизайна; анализ и интерпретация данных; обоснование

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Banzett R.B., Loring S.H. Heavy breathing. *J. Appl. Physiol.* 2007; 102 (6): 2090–2091. DOI: 10.1152/japplphysiol.00236.2007.
2. Galdzicka E.M., Abston E.D., Bishai J.M. Relationship between lung architecture and lung function are genetically determined. *FASEB J.* 2007; 21: A1339.
3. Grönkvist M., Bergsten E., Gustafsson P.M. Effects of body posture and tidal volume on inter- and intraregional ventilation distribution in healthy men. *J. Appl. Physiol.* 2002; 92: 634–642. DOI: 10.1152/japplphysiol.00161.2001.
4. Тетенов Ф.Ф. Новый горизонт клинической физиологии дыхания, физиологии других систем и физиологии в целом. *Фундаментальные исследования.* 2012; 2: 138–142. [Tetenev F.F. New horizon of clinical physiology of breathing, physiology of other systems and physiology in general. *Fundamental Research.* 2012; 2: 138–142 (in Russ.)]. URL: <http://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=29413>.
5. Тетенов Ф.Ф., Бодрова Т.Н. Определяет ли система плевральных листков парадоксальные явления в механике дыхания. *Бюл. экспер. биологии и медицины.* 1997; 124 (10): 384–387. [Tetenev F.F., Bodrova T.N. Does the system of pleural sheets determine paradoxical phenomena in the mechanics of breathing? *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 1997; 124 (10): 384–387 (in Russ.)].
6. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Revised 2016. URL: <http://www.goldcopd.com>.
7. Агеева Т.С., Тетенов Ф.Ф., Дубоделова А.В. Тканевое неэластическое сопротивление легких при бронхиальной астме и ХОБЛ: различие и природа изменений. *Бюллетень сибирской медицины.* 2013; 12 (6): 94–98. [Ageeva T.S., Tetenev F.F., Dubodelova A.V. Tissue inelastic lung resistance in asthma and COPD: difference and nature of changes. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2013; 12 (6): 94–98 (in Russ.)]. DOI: 10.20538/1682-0363-2013-6-94-98.
8. Tetenev F.F., Bodrova T.N., Levchenko A.V., Larchenko V.V., Tetenev K.F., Kashuta A.Yu., Ageeva T.S., Danilenko V.Yu. Perversion of regional respiratory loops of lungs in healthy persons and bronchopulmonary system disease patients. *European Journal of Natural History.* 2008; (3): 60–61.
9. Гриппи М.А. Патофизиология легких: пер. с англ. 2-е изд., испр. М.: БИНОМ; СПб.: Невский Диалект, 2005: 344. [Grippi M.A. Pathophysiology of the lungs. 2nd ed. Moscow: BINOM Publ., Saint Petersburg: Nevskij Dialekt Publ., 2005: 344 (in Russ.)].

Authors contribution

Dish Al.Ju., Karzilov A.I. – conception and design; analysis and interpretation of data; justification of the manuscript and critical revision of the manuscript for important intellectual content. Ageeva T.S. – conception and design; analysis and interpretation of data; justification of the manuscript

рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение для публикации рукописи. Тетенева А.В. – разработка концепции и дизайна; анализ и интерпретация данных; обоснование рукописи. Диш Ан.Ю., Калачева Т.П., Месько П.Е., Мишустина Е.Л., Зайцева А.А., Параева О.С., Беспалова И.Д., Черногорюк Г.Э. – анализ и интерпретация данных.

Сведения об авторах

Диш Александра Юрьевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0003-1574-5243.

Диш Андрей Юрьевич, врач анестезиолог-реаниматолог, отделение анестезиологии и реанимации, факультетские клиники, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-3741-1706.

Агеева Татьяна Сергеевна, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0003-2788-6668.

Карзилов Александр Иванович, д-р мед. наук, профессор, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-3919-720.

Тетенева Анна Валентиновна, д-р мед. наук, зам. главного врача по медицинской части, Медико-санитарная часть № 2; доцент, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-4323-2798.

Калачева Татьяна Петровна, канд. мед. наук, доцент, кафедра общей врачебной практики и поликлинической терапии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-4292-7723.

Месько Павел Евгеньевич, канд. мед. наук, доцент, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0003-2183-4402.

Мишустина Елена Львовна, канд. мед. наук, доцент, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0003-2498-801X.

Зайцева Анна Александровна, аспирант, кафедра пропедевтики внутренних болезней с курсом терапии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 000-0001-9762-6365.

Параева Ольга Сергеевна, пульмонолог, Городская больница № 5, г. Барнаул. ORCID iD 0000-0002-5919-5098.

Беспалова Инна Давидовна, д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-4513-6329.

Черногорюк Георгий Эдинович, д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-5780-6660.

(✉) **Агеева Татьяна Сергеевна**, e-mail: ageeva.ts@gmail.com.

Поступила в редакцию 17.05.2019

Подписана в печать 11.06.2019

and critical revision of the manuscript for important intellectual content, final approval of the manuscript for publication. Teteneva A.V. – conception and design; analysis and interpretation of data; justification of the manuscript. Dish An.Ju., Kalacheva T.P., Mesko P.E., Mishustina E.L., Zaytseva A.A., Paraeva O.S. Bepalova I.D., Chernogoryuk G.E. – analysis and interpretation of data.

Authors information

Dish Alexandra Ju., PhD, Associate Professor, Department of Propaedeutics of Internal Diseases with a Course of Therapy, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-1574-5243.

Dish Andrey Ju., Anesthesiologist-resuscitator, Department of Anesthesiology and Resuscitation, Faculty Clinics, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-3741-1706.

Ageeva Tatiana S., DM, Professor, Head of the Department of Propaedeutics of Internal Diseases with a Course of Therapy, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-2788-6668.

Karzirov Alexandr I., DM, Professor, Department of Propaedeutics of Internal Diseases with a Course of Therapy, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-3919-720.

Teteneva Anna V., DM, Deputy Chief Medical Officer, Medical and Sanitary Hospital № 2; Associate Professor, Department of Propaedeutics of Internal Diseases with a Course of Therapy, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-4323-2798.

Kalacheva Tatiana P., PhD, Associate Professor, Department of General Practice and Outpatient Therapy, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-4292-7723.

Mesko Pavel E., PhD, Associate Professor, Department of Propaedeutics of Internal Diseases with a Course of Therapy, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-2183-4402.

Mishustina Elena L., PhD, Associate Professor, Department of Propaedeutics of Internal Diseases with a Course of Therapy, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-2498-801X.

Zaytseva Anna A., PhD Student, Department of Propaedeutics of Internal Diseases with a Course of Therapy, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 000-0001-9762-6365.

Paraeva Olga S., Pulmonologist, City Hospital No. 5, Barnaul, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-5919-5098.

Bepalova Inna D., DM, Professor, Department of Hospital Therapy with a Course of Rehabilitation, Physiotherapy and Sports Medicine, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-4513-6329.

Chernogoryuk Georgy E., DM, Professor, Department of Hospital Therapy with a Course of Rehabilitation, Physiotherapy and Sports Medicine, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-5780-6660.

(✉) **Ageeva Tatiana S.**, e-mail: ageeva.ts@gmail.com.

Received 17.05.2019

Accepted 11.06.2019

Патоморфологические особенности регенерации конъюнктивы и склеры на фоне интраоперационной аппликации раствора циклоспорина А

Жигальская Т.А.¹, Кривошеина О.И.¹, Дзюман А.Н.¹, Хлусов И.А.^{1,2}

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 работы: в эксперименте *in vivo* изучить особенности регенерации конъюнктивы и склеры крыс после хирургического вмешательства и интраоперационной аппликации 0,05%-го раствора циклоспорина А.

Материалы и методы. Экспериментальные животные (самцы крыс, $n = 48$) были разделены на основную группу, включающую подгруппы *a* ($n = 16$) и *b* ($n = 16$), и группу сравнения ($n = 16$). Всем животным выполняли сквозной разрез конъюнктивы и непроникающий надраз поверхностных слоев склеры одного из глаз. На область хирургической травмы в основной группе накладывалась гемостатическая губка, пропитанная 0,05%-м раствором циклоспорина А: в подгруппе *a* длительностью 3 мин, в подгруппе *b* – 6 мин. В группе сравнения интраоперационно накладывалась гемостатическая губка без цитостатика.

Результаты. У животных группы сравнения послеоперационный период протекал со стереотипной динамикой смены клеточных фаз в поврежденных тканях. В исходе отмечено развитие плотного конъюнктивально-склерального сращения в зоне хирургической травмы. Интраоперационная аппликация 0,05%-м раствором циклоспорина А приводила к замедлению регенерации, препятствовала формированию грубого конъюнктивально-склерального рубца.

Заключение. Интраоперационные аппликации 0,05%-го раствора циклоспорина А меняют стереотипную динамику течения воспалительно-репаративной регенерации в зоне хирургического вмешательства, подавляя практически в три раза миграцию клеток, и значительно (в два раза) увеличивая продолжительность макрофагальной фазы. Это обуславливает замедление репаративной регенерации, препятствующее избыточному рубцеванию в операционной зоне.

Ключевые слова: глазное яблоко крыс, послеоперационное рубцевание, цитостатическая профилактика избыточной регенерации.

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 СибГМУ (протокол № 4346 от 16.11.2015).

Для цитирования: Жигальская Т.А., Кривошеина О.И., Дзюман А.Н., Хлусов И.А. Патоморфологические особенности регенерации конъюнктивы и склеры на фоне интраоперационной аппликации раствора циклоспорина А. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 46–52. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-46-52>.

УДК 617.711:617.715]-089-003.93-08-039.71:615.27
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-46-52>

Pathomorphological features of conjunctival and scleral regeneration associated with intraoperative application of Cyclosporin A

Zhigalskaya T.A.¹, Krivosheina O.I.¹, Dzyman A.N.¹, Khlusov I.A.^{1,2}

¹ Siberian State Medical University (SSMU)
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

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

ABSTRACT

Purpose. In experiment *in vivo* to study the features of regeneration of the conjunctiva and sclera of rats after surgery with intraoperative application of a 0.05% Cyclosporin A.

Materials and methods. Experimental animals (rats) ($n = 48$) were divided into the main group, including the subgroups *a* ($n = 16$) and *b* ($n = 16$) and the comparison group ($n = 16$). Performed a through cut of the conjunctiva and damage to the surface layers of the sclera one of the eyes of all animals. Further on the surgical trauma zone in the main group, the intraoperative application of the cytostatic was performed. In the subgroup *a* with a duration of 3 minutes, in the subgroup *b* – 6 minutes. In the comparison group a hemostatic sponge without a cytostatic was used intraoperatively.

Results. In the comparison group postoperative period proceeds with a stereotyped dynamics of cell phase changes in damaged tissues. In the end the development of dense conjunctival-scleral fusion in the area of surgical trauma was noted. Intraoperative application of 0.05% Cyclosporine A leads to a slowing of regeneration, preventing formation of rough conjunctival-scleral scar.

Conclusions. Intraoperative applications of 0.05% Cyclosporin A change the stereotyped dynamics of the inflammatory-reparative regeneration in the surgical intervention zone, inhibiting the migration of cells almost in 3 times and significantly (in 2 times) prolonging the duration of the macrophage phase. This causes a slowdown of reparative regeneration, prevents excessive scarring in the operating area.

Key words: rat eye bulb, postoperation scarring, cytostatic prophylaxis of abundant regeneration.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. The study approved by the local ethics committee under SSMU (Protocol No. 4346 of 16.11.2015).

For citation: Zhigalskaya T.A., Krivosheina O.I., Dzyman A.N., Khlusov I.A. Pathomorphological features of conjunctival and scleral regeneration associated with intraoperative application of Cyclosporin A. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 46–52. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-46-52>.

ВВЕДЕНИЕ

Профилактика избыточной регенерации тканей в послеоперационном периоде является одной из актуальных проблем медицины. Для предотвращения грубого рубцевания используются антиметаболические средства, местное применение которых существенно уменьшает выраженность воспалительно-репаративной реакции в

зоне оперативного вмешательства и препятствует интенсивному фиброгенезу. В офтальмохирургии, в частности в ходе антиглаукомных операций, применяются аппликации 5-фторурацила и митомицина С на область хирургически созданных путей оттока внутриглазной жидкости [1–6]. Однако широкое использование указанных средств ограничено из-за высокого риска развития осложнений: несостоятельность швов,

цилиохориоидальная отслойка, прогрессирующие катаракты, гипотония глазного яблока [7, 8]. В связи с вышеизложенным перспективным антипролиферативным средством может быть интраоперационное применение цитостатика нового поколения – 0,05%-го раствора циклоспорина А.

Цель работы – в эксперименте *in vivo* изучить особенности регенерации конъюнктивы и склеры крыс после хирургического вмешательства и интраоперационной аппликации 0,05%-го раствора циклоспорина А.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на базе лаборатории биологических моделей СибГМУ (руководитель – канд. биол. наук В.В. Иванов). Эксперимент выполнен на 48 самцах крыс породы вистар (48 глаз) массой 200–250 г. Всем животным в условиях операционной под общей анестезией в верхнем отделе правого глазного яблока выполняли сквозной разрез конъюнктивы склеры и непроникающий надрез поверхностных слоев склеры. В зависимости от хода операции животных разделяли на две группы: основную группу ($n = 32$) и группу сравнения ($n = 16$).

Животным основной группы во время операции, после проведения сквозного разреза конъюнктивы и непроникающего надреза поверхностных слоев склеры, на зону вмешательства накладывали гемостатическую губку, пропитанную 0,05%-м раствором циклоспорина А. Животных основной группы разделяли на две подгруппы: подгруппу *a* ($n = 16$, длительность аппликации 3 мин) и подгруппу *b* ($n = 16$, длительность аппликации 6 мин). Крысам группы сравнения ($n = 16$) на зону вмешательства на 3 мин накладывали гемостатическую губку без раствора циклоспорина А. По окончании аппликации гемостатическую губку у крыс всех групп убирали, закапывали раствор Тобрекса, швы не накладывали. В послеоперационном периоде всем животным в конъюнктивальную полость оперированного глаза закапывали раствор Тобрекса три раза в день. Общая продолжительность эксперимента составила 21 сут. На 3-и, 7-, 14- и 21-е сут после операции из эксперимента выводили по четыре животных из каждой группы с последующей эвнукацией.

Умерщвление экспериментальных животных на всех этапах эксперимента осуществляли с соблюдением правил и норм Европейского общества (86/609ЕЕС), Хельсинской декларации и приказов Министерства здравоохранения СССР (№ 742 от 13.11.1984 г. и № 48 от 23.01.1985 г.).

Выведение животных из эксперимента выполняли методом декапитации после проведения общего наркоза. Материал фиксировали с последующей окраской гематоксилином и эозином и по методу Маллори для световой микроскопии, $\times 100$, $\times 200$. С помощью цифровой фотокамеры Canon Power Shot G10 (Япония) производили съемку 10 случайных полей зрения для каждого среза, с использованием программы ImageJ 1.46 и плагина Cell Counter подсчитывали абсолютное и относительное содержание клеток в конъюнктиве и склере глаз крыс в области операции. Статистический анализ результатов проводили с использованием статистического пакета IBM SPSS Statistics 20. Нормальность распределения показателей проверяли с помощью закона Колмогорова – Смирнова. Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M – выборочное среднее, m – ошибка среднего. В связи с несоответствием распределения данных нормальному закону распределения использовали непараметрический U -критерий Манна – Уитни. Статистически значимыми различия считали при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По данным световой микроскопии, на 3-и сут после операции у крыс подгруппы *a* основной группы в области вмешательства с аппликацией 0,05%-го раствора циклоспорина А длительно – 3 мин в конъюнктиве выявлялся диффузный отек, в склере – выраженное расслоение коллагеновых волокон. В клеточном составе в зоне вмешательства преобладали мононуклеарные лейкоциты (МНЛ) – $846 \pm 14,0$ (76%) клеток в поле зрения, численность полиморфно-ядерных лейкоцитов (ПМЛ) и фибробластов составляла $38 \pm 2,0$ (3,4%) и $229 \pm 9,0$ (20,6%) соответственно.

У крыс подгруппы *b* на 3-и сут в области вмешательства с аппликацией раствора цитостатика длительно – 6 мин отмечались выраженное истончение эпителия конъюнктивы, субэпителиальные щелевидные полости, нарушение ориентации и фрагментация коллагеновых волокон в склере. В клеточном составе преобладали МНЛ – $339 \pm 7,0$ (80,2%) клеток в поле зрения, число ПМЛ и фибробластов составляло $6,0 \pm 1,0$ (1,4%) и $78 \pm 3,0$ (18,4%) соответственно.

У крыс группы сравнения эпителий конъюнктивы в зоне операции был уплощен, в склере обнаруживались периваскулярный отек, извитой ход коллагеновых волокон. Среди клеток преобладали МНЛ – $795 \pm 23,0$ (67,8%) клеток в поле зрения, численность ПМЛ составляла $46 \pm 4,0$ (3,9%), фибробластов – $332 \pm 8,0$ (28,3%).

На 7-е сут у животных подгруппы *a* началось постепенное восстановление нормальной архитектоники эпителия конъюнктивы, однако коллагеновые волокна склеры были расслоены. В клеточном составе преобладали МНЛ – $637 \pm 18,0$ (57,4%) клеток в поле зрения. Число ПМЛ увеличилось в 2,2 раза, до $82 \pm 1,0$ (7,4%), $p < 0,05$; число фибробластов – в 1,7 раза, до $391 \pm 15,0$ (35,2%) клеток по сравнению с показателями на 3-и сут, $p < 0,05$.

У крыс подгруппы *b* в области аппликации цитостатика отмечались истончение эпителия конъюнктивы, субэпителиальные мелкие щели. Ориентация и тинкториальные свойства коллагеновых волокон склеры были значительно нарушены. Среди клеток преобладали МНЛ – $442 \pm 14,0$ (66,1%) клеток в поле зрения. Число ПМЛ увеличилось в 4,5 раза, до $27 \pm 7,0$ (4,1%), фибробластов – в 2,6 раза, до $199 \pm 11,0$ (29,8%) клеток по сравнению с уровнем на 3-и сут, $p < 0,05$. Однако на 7-е сут эти показатели у крыс подгруппы *a* были меньше в 3,0 и 2,0 раза соответственно, $p < 0,05$.

У крыс группы сравнения на 7-е сут эпителий конъюнктивы в области операции имел нормальное строение, склера представлена рыхлой волокнистой соединительной тканью. В клеточном составе уменьшилось количество МНЛ в 1,5 раза, до $530 \pm 16,0$ (46,1%) клеток в поле зрения по сравнению с 3-ми сут, $p < 0,05$. Число ПМЛ увеличилось в 2,0 раза, до $91 \pm 11,0$ (7,9%), фибробластов – в 1,6 раза, до $529 \pm 18,0$ (46,0%) клеток в поле зрения по сравнению с результатами на 3-и сут, $p < 0,05$.

На 14-е сут у крыс подгруппы *a* в области аппликации цитостатика эпителий конъюнктивы имел нормальное строение, коллагеновые волокна склеры располагались рыхло. Среди клеток преобладали фибробласты – $201 \pm 13,0$ (57,7%) клеток в поле зрения, однако их численность по сравнению с уровнем на 7-е сут уменьшилась в 2,0 раза, $p < 0,05$. Число МНЛ сократилось в 4,8 раза, до $132 \pm 12,0$ (38%) клеток, число ПМЛ уменьшилось в 5,5 раза, до $15 \pm 9,0$ (4,3%) клеток по сравнению с показателями на 7-е сут, $p < 0,05$.

У крыс подгруппы *b* в области аппликации цитостатика эпителий конъюнктивы имел нормальное строение, однако субэпителиально обнаруживались мелкие щели. Пучки коллагеновых волокон склеры в зоне операции располагались рыхло. В клеточном составе преобладали фибробласты – $120 \pm 12,0$ (50%) и МНЛ – $106 \pm 10,0$ (44,2%) клеток в поле зрения, при этом численность клеток данных популяций была меньше, чем у крыс подгруппы *a* на 14-е сут – в 1,7 и

1,3 раза соответственно, $p < 0,05$. Количество ПМЛ сократилось в 1,9 раза по сравнению с показателем на 7-е сут – $14 \pm 2,0$ (5,8%) клеток в поле зрения, $p < 0,05$.

У крыс группы сравнения на 14-е сут после операции конъюнктивна глазного яблока в области вмешательства имела нормальное строение, толстые пучки коллагеновых волокон склеры располагались плотнее. Число фибробластов сократилось в 2,2 раза, до $241 \pm 12,0$ (51,9%) клеток в поле зрения, что, однако, в 2,0 раза превышало данный показатель у животных подгруппы *b* на 14-е сут, $p < 0,05$. Численность ПМЛ по сравнению с уровнем на 7-е сут уменьшилась в 1,7 раза, МНЛ – в 4,2 раза, составив $88 \pm 3,0$ (18,8%) и $136 \pm 8,0$ (29,3%) клеток соответственно, $p < 0,05$.

На 21-е сут у животных подгруппы *a* в области аппликации цитостатика конъюнктивна имела нормальное строение и плотно прилежала к склере, однако не была с ней спаяна (рис. 1). Ход коллагеновых волокон склеры в области операции был упорядоченным. Среди клеток преобладали фибробласты – $121 \pm 12,0$ (68,8%) клеток в поле зрения, их численность по сравнению с уровнем на 14-е сут уменьшилась в 2,0 раза, $p < 0,05$. Число ПМЛ сократилось в 1,7 раза, до $9 \pm 1,0$ (5,1%), МНЛ – в 1,5 раза, до $46 \pm 8,0$ (26,1%) клеток в поле зрения по сравнению с показателями на 14-е сут, $p < 0,05$.

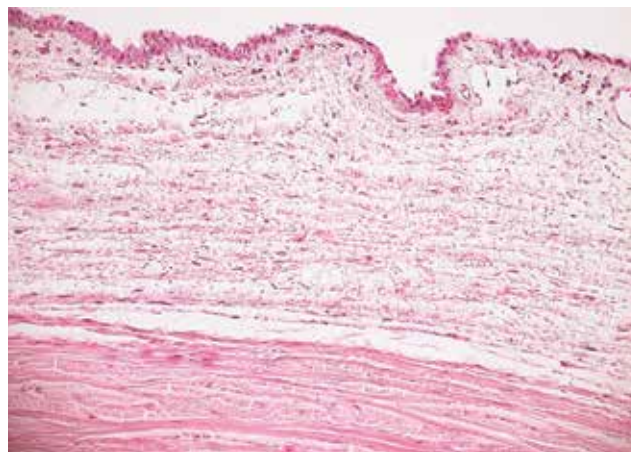


Рис. 1. Состояние конъюнктивы и склеры глазного яблока в области вмешательства у экспериментального животного подгруппы *a* основной группы на 21-е сут после операции с 3-минутной аппликацией 0,05%-го раствора циклоспорина А. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

Fig. 1. Condition of the conjunctiva and sclera of the eye in the area of intervention in the experimental animal subgroup *a* of the main group on the 21st day after surgery with a 3-minute application of a 0.05% Cyclosporin A. Color by hematoxylin and eosin, $\times 200$

У крыс подгруппы *b* конъюнктива в области аппликации цитостатика имела нормальное строение, однако субэпителиально сохранялись мелкие щели. При этом конъюнктива была отделена от склеры щелевидным пространством (рис. 2). Пучки коллагеновых волокон склеры в области вмешательства были расслоены. В клеточном составе преобладали фибробласты – $105 \pm 11,0$ (52,2%) клеток в поле зрения и МНЛ – $84 \pm 7,0$ (41,8%) клеток. При этом численность фибробластов была в 1,2 раза меньше, чем у крыс подгруппы *a* на 21-е сут ($p < 0,05$). Число ПМА по сравнению с показателем на 14-е сут сократилось в 1,2 раза, до $12 \pm 2,0$ (6%) клеток в поле зрения ($p < 0,05$).

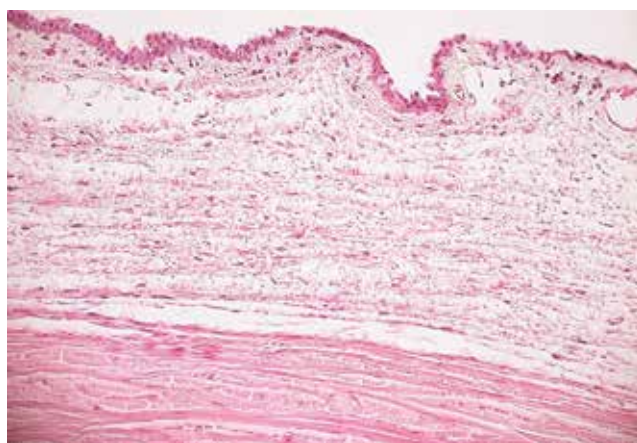


Рис. 2. Щелевидное пространство между конъюнктивой и склерой в области вмешательства у экспериментального животного подгруппы *b* основной группы на 21-е сут после операции с 6-минутной аппликацией 0,05%-го раствора циклоспорина А. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

Fig. 2. The slit-like space between the conjunctiva and the sclera in the area of intervention in the experimental animal subgroup *b* of the main group on the 21st day after the operation with 6-minute application of a 0.05% Cyclosporin A. Color by hematoxylin and eosin, $\times 100$

У крыс группы сравнения на 21-е сут после операции конъюнктива глаза в области вмешательства имела нормальное строение, была плотно спаяна с подлежащей склерой (рис. 3). Склера представлена плотной соединительной тканью. Численность фибробластов сократилась в 1,7 раза от уровня на 14-е сут, составив $138 \pm 12,0$ (78,7%) клеток в поле зрения. Однако это в 1,3 раза превышало таковой показатель у крыс подгруппы *b* на 21-е сут ($p < 0,05$). Число ПМА сократилось в 6,3 раза по сравнению с уровнем на 14-е сут, МНЛ – в 5,7 раза, составив $14 \pm 2,0$ (7,9%) и $24 \pm 5,0$ (13,4%) клеток соответственно ($p < 0,05$).

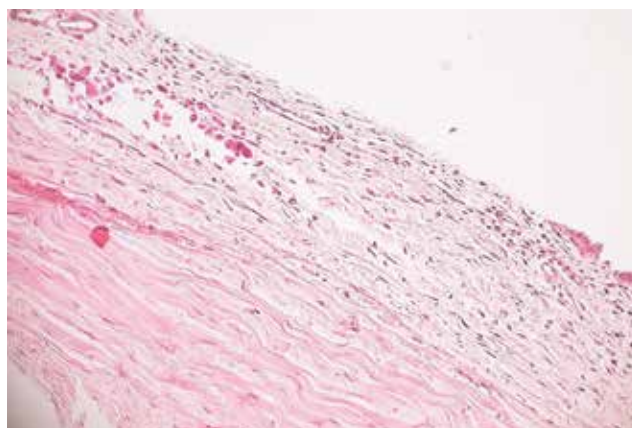


Рис. 3. Конъюнктивно-склеральный рубец в области вмешательства у экспериментального животного группы сравнения на 21-е сут после операции без местной аппликации 0,05%-го раствора циклоспорина А. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 100$

Fig. 3. Conjunctival-scleral scar in the area of intervention in an experimental animal of the comparison group on the 21st day after surgery without local application of a 0.05% solution of Cyclosporin A. Color by hematoxylin and eosin, $\times 100$

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования свидетельствуют о развитии воспалительно-репаративной реакции в конъюнктиве и склере после операции у крыс всех экспериментальных групп. В группе сравнения реакция протекала со стереотипной динамикой смены клеточных фаз, что отражает ее защитно-приспособительный характер. На протяжении всего эксперимента клеточная плотность в зоне операции у крыс группы сравнения была максимальной среди всех экспериментальных групп (табл. 1). На 21-е сут выявлено развитие плотного конъюнктивно-склерального сращения в зоне вмешательства, что свидетельствует о достижении конечной цели воспалительно-репаративной реакции – максимального анатомического восстановления тканей.

Применение 0,05%-го раствора циклоспорина А в виде интраоперационной аппликации оказало значительное влияние на течение послеоперационного периода, зависящее от длительности аппликации. По-видимому, за счет подавления синтеза провоспалительных интерлейкинов [9], цитостатик существенно уменьшил миграцию в зону хирургической травмы клеток, ответственных за интенсивность воспаления. На 3-и сут после операции клеточная плотность в области вмешательства в подгруппе *a* была в 1,05 раза меньше, чем в группе сравнения, однако в подгруппе *b* данный показатель был в 2,8 раза меньше

($p < 0,05$), чем в группе сравнения (таблица). Подобная динамика наблюдалась вплоть до 14-х сут после операции.

Интраоперационная аппликация цитостатика оказала влияние и на смену клеточных фаз воспалительно-репаративной реакции в тканях в зоне вмешательства, увеличив продолжительность макрофагальной фазы и подавив миграцию клеток фибробластической популяции в область хирургической травмы. На 3-и сут после операции плотность фибробластов в подгруппе *a* была в 1,5 раза меньше ($p < 0,05$), в подгруппе *b* – в 4,3 раза меньше ($p < 0,05$), чем в группе сравнения. На 7-е сут количество фибробластов в группе сравнения увеличилось в 1,6 раза. В подгруппах *a* и *b* сдвиг клеточного состава инфильтрата в сторону фибробластической популяции произошел только на 14-е сут после операции.

Таблица
Table

Динамика клеточной плотности инфильтрата в 1 мм ² среза у животных экспериментальных групп, $M \pm m$ Dynamics of cell density of infiltrate in a 1 mm ² slice in animals of experimental groups, $M \pm m$			
Срок наблюдения, дни Terms of observation, days	Экспериментальные группы Experimental groups		
	Подгруппа <i>a</i> основной группы Subgroup <i>a</i> of the main group	Подгруппа <i>b</i> основной группы Subgroup <i>b</i> of the main group	Группа сравнения Comparison group
3	6 956 ± 105**	2 643 ± 115*	7 328 ± 98,2
7	6 937 ± 98**	4 175 ± 124*	7 184 ± 105
14	2 175 ± 95**	1 500 ± 117*	2 902 ± 114
21	1 100 ± 97	1 256 ± 104	1 099 ± 142

* статистически значимые различия ($p < 0,05$) при сравнении с показателями у животных, прооперированных без применения местной аппликации 0,05%-го раствора циклоспорина А (группа сравнения).

** статистически значимые различия ($p < 0,05$) при сравнении показателей подгруппы *a* (аппликация циклоспорина А 3 мин) с показателями подгруппы *b* (аппликация циклоспорина А 6 мин).

* statistically significant differences were ($p < 0.05$) when compared with indicators in the group of animals that were operated on without using a local application of a 0.05% Cyclosporin A solution (comparison group).

** statistically significant differences were ($p < 0.05$) when comparing the indicators of the subgroup *a* (Cyclosporin A application 3 minutes) with those of the subgroup *b* (Cyclosporin A application 6 minutes) of the main group.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Интраоперационная аппликация 0,05%-го раствора циклоспорина А в ходе операции на конъюнктиве и склере глазного яблока крыс в эксперименте *in vivo* изменяет стереотипную динамику

течения воспалительно-репаративной реакции в области вмешательства, подавляя практически в три раза миграцию клеток, и значительно (в два раза) увеличивая продолжительность макрофагальной фазы. Это обуславливает замедление репаративной регенерации, препятствующее избыточному рубцеванию в операционной зоне. Полученные результаты могут быть полезными в клинических ситуациях.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Сахнов С.Н., Науменко В.В., Волик С.А. и др. Способ хирургического лечения рефрактерной глаукомы. *Глаукома*. 2013; 1: 29–34. [Sakhnov S.N., Naumenko V.V., Volik S.A. et al. The method of surgical treatment of refractory glaucoma. *Glaukoma*. 2013; 1: 29–34 (in Russ.).]
2. Bettin P., Di Matteo F. Glaucoma: present challenges and future trends. *Ophthalmic Res*. 2013; 50 (4): 197–208. DOI: 10.1159/000348736.
3. Sengupta S., Venkatesh R., Ravindran R.D. Safety and efficacy of using off-label bevacizumab versus mitomycin C to prevent bleb failure in a single-site phacotrabeculectomy by a randomized controlled clinical trial. *J. Glaucoma*. 2012; 21 (5): 450–459.
4. Ал Немер Д.М. Результаты комбинированной дренажной хирургии рефрактерных форм глаукомы. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2014; 9 (2): 28–30. [Al Nemer D.M. Results of combined drainage surgery of refractory forms of glaucoma. *Meditsinskij vestnik Bashkortostana*. 2014; 9 (2): 28–30 (in Russ.).]
5. Петров С.Ю. Нидлинг как метод активации фильтрационных подушек: показания, особенности техники. *Глаукома*. 2013; 2: 75–84. [Petrov S.Yu. Nidling as a method of activation of filtration pads: indications, technical features. *Glaukoma*. 2013; 2: 75–84 (in Russ.).]
6. Lindemann F., Plange N., Kuerten D. et al. Three-year follow-up of trabeculectomy with 5-fluorouracil. *Ophthalmic Res*. 2017; 58 (2): 74–80. DOI: 10.1159/000464446.
7. Coppens G., Maudgal P. Corneal complications of intraoperative Mitomycin C in glaucoma surgery. *Bull. Soc. Belge Ophtalmol*. 2010; 314: 19–23.
8. Фабрикантов О.А., Николашин С.И., Пирогова Е.С. Хирургия рефрактерной глаукомы – показания, осложнения, исходы. *Медицина*. 2016; 21 (1): 204–207. [Fabrikantov O.L., Nikolashin S.I., Pirogova E.S. Surgery of refractory glaucoma – indications, complications, outcomes. *Meditsina*. 2016; 21 (1): 204–207 (in Russ.).]
9. Германова В.Н., Волжанин А.В., Золотарев А.В., Карлова Е.В., Перов С.Ю. Циклоспорин А в хирургическом лечении глаукомы: перспективы и возможности. *Национальный журнал глаукома*. 2017; 16 (2): 92–100. [Germanova V.N., Volzhanin A.V., Zolotarev A.V., Karlova E.V., Perov S.Yu. Cyclosporin A in the surgical treatment of glaucoma: perspectives and opportunities. *Natsional'nyy zhurnal Glaukoma*. 2017; 16 (2): 92–100 (in Russ.).]

Сведения об авторах

Жигальская Татьяна Александровна, аспирант, кафедры офтальмологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0003-3110-4112.

Кривошеина Ольга Ивановна, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой офтальмологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-7509-5858.

Дзюман Анна Николаевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра морфологии и общей патологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-0795-0987.

Хлусов Игорь Альбертович, д-р мед. наук, профессор, кафедра морфологии и общей патологии, СибГМУ; профессор, Исследовательская школа химических и биомедицинских технологий, НИ ТПУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0003-3465-8452.

(✉) **Хлусов Игорь Альбертович**, e-mail: khlov63@mail.ru.

Поступила в редакцию 18.04.2019
Подписана в печать 11.06.2019

Authors information

Zhigalskaya Tatiana A., Graduate Student, Department of Ophthalmology, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-7509-5858.

Krivosheina Olga I., DM, Professor, Head of the Department of Ophthalmology, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-7509-5858.

Dzyman Anna N., PhD, Assistant Professor, Department of Morphology and General Pathology, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-0795-0987.

Khlovov Igor A., DM, Professor, Department of Morphology and General Pathology, SSMU; Professor, Research School of High-Energy Physics, NR TPU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-3465-8452.

(✉) **Khlovov Igor A.**, e-mail: khlov63@mail.ru.

Received 18.04.2019

Accepted 11.06.2019

Экспериментальная модель сахарного диабета II типа у мышей на основе диеты с избыточным содержанием жиров

Капилевич Л.В.^{1,2}, Захарова А.Н.¹, Дьякова Е.Ю.¹, Кироненко Т.А.¹, Милованова К.Г.¹, Калинин Ю.Г.¹, Чибалин А.В.^{1,3}

¹ *Национальный исследовательский Томский государственный университет (НИ ТГУ)
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36*

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

³ *Karolinska Institutet
Sweden, 17177, Stockholm, Solnavägen, 1*

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: разработать и оценить адекватность модели сахарного диабета II типа у мышей на основе использования диеты с высоким содержанием жиров.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовались самцы мышей линии C57BL/6. Мы разработали диету для экспериментальной группы, в которой 59% от общей калорийности приходилось на жиры. Измерение концентрации глюкозы в крови проводилось при помощи портативного глюкометра ПКГ-02.4 Сателлит Плюс (ООО «Компания ЭЛТА», Россия). Образцы крови получались пункцией хвостовой вены. Концентрация инсулина в плазме крови мышей определялась иммуноферментным методом с помощью набора Ultra sensitive mouse insulin ELISA Kit (CrystalChem, США). Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета статистического анализа Statistica 8.0.

Результаты. В ходе исследования показано, что у мышей, питающихся кормом с высоким содержанием жиров, на 3-й нед зафиксирован значительный прирост массы тела. К концу эксперимента масса тела выросла более чем в 2 раза. У мышей, питающихся нормальным кормом, к концу эксперимента масса тела увеличилась на 50%. Отмечено, что применяемая жировая диета также приводила к нарушению толерантности к глюкозе, при этом концентрация инсулина увеличивалась втрое.

Заключение. Полученные результаты демонстрируют, что использование высокожировой диеты у мышей приводит к увеличению массы тела и формированию ожирения, гипергликемии, снижению толерантности к глюкозе и гиперинсулинемии. Все это свидетельствует о высокой степени адекватности разработанной экспериментальной модели заболеванию диабетом II типа. Созданная модель может быть особенно полезна при исследованиях резистентности к инсулину, диабета и ожирения, чтобы обеспечить лучшее понимание патогенеза, а также для проверки эффектов терапевтического вмешательства.

Ключевые слова: сахарный диабет II типа, модель сахарного диабета, жировая диета, инсулинорезистентность, гипергликемия.

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

Источник финансирования. Исследование выполнено за счет гранта РФ № 19-15-00118.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Биологического института НИ ТГУ (протокол № 11 от 24.09.2015).

✉ Капилевич Леонид Владимирович, e-mail: kapil@yandex.ru.

Для цитирования: Капилевич Л.В., Захарова А.Н., Дьякова Е.Ю., Кироненко Т.А., Милованова К.Г., Калинин Ю.Г., Чибалин А.В. Экспериментальная модель сахарного диабета II типа у мышей на основе диеты с избыточным содержанием жиров. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 53–61. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-53-61>.

УДК 616.379-008.64-021.6:613.25]-092.9
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-53-61>

Mice experimental model of diabetes mellitus type ii based on high fat diet

Kapilevich L.V.^{1,2}, Zakharova A.N.¹, Dyakova E.Yu.¹, Kironenko T.A.¹, Milovanova K.G.¹, Kalinnikova J.G.¹, Chibalin A.V.^{1,3}

¹ National Research Tomsk State University (NR TSU)
36, Lenin Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

² Siberian State Medical University (SSMU)
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

³ Karolinska Institutet
1, Solnavägen, Stockholm, 171 77, Sweden

ABSTRACT

An experimental model of the obesity and type II diabetes mellitus formation in C57BL/6 mice using a high fat diet was developed and tested. In the study, it was shown that mice feeding high-fat diet had a significant body weight gain during the 3rd week. By the end of the experiment, body weight has more than doubled. In mice that feed chow diet, body weight increased by 50%, by the end of the experiment. It was shown that high fat diet also induced glucose tolerance, and the insulin concentration tripled. The data obtained confirm the adequacy of the experimental model of diabetes mellitus type II in mice.

Key words: type 2 diabetes mellitus, model of diabetes mellitus, high fat diet, insulin resistance, hyperglycemia.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was supported by the grant from the Russian Science Foundation No. 19-15-00118.

Conformity with the principles of ethics. The study approved by the local ethics committee under NR TSU (Protocol No. 11 of 24.09.2015).

For citation: Kapilevich L.V., Zakharova A.N., Dyakova E.Yu., Kironenko T.A., Milovanova K.G., Kalinnikova J.G., Chibalin A.V. Mice experimental model of diabetes mellitus type ii based on high fat diet. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 53–60. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-53-60>.

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет (СД) II типа, на который приходится не менее 90% случаев диабета, связан с резистентностью к инсулину в тканях и повышенным уровнем глюкозы в крови [1, 2]. Большинство пациентов с этой формой диабета страдают ожирением, а само ожирение вызыва-

ет некоторую степень резистентности к инсулину [3–5].

При СД II типа снижается чувствительность к инсулину в тканях на пострецепторном уровне. Наличие дефекта в передаче сигнала от β -субъединицы к тирозинкиназе приводит к снижению проницаемости клеточных мембран к глюкозе, уменьшается активность белков – транспортеров

глюкозы (GLUT), в частности GLUT 2 и GLUT 4. В результате развивается инсулинорезистентность и в ответ на нее – гиперинсулинемия, которая определенное время может компенсировать инсулинорезистентность и поддерживает нормогликемию. Избыток инсулина по механизму обратной связи еще больше снижает чувствительность рецепторов к инсулину. Сокращается утилизация глюкозы тканями, увеличивается глюконеогенез в печени, что ведет к гипергликемии. Также при СД II типа снижается чувствительность β -клеток поджелудочной железы к стимуляции глюкозой, что ведет к уменьшению секреции инсулина. В результате запаздывает или отсутствует первая фаза – ранняя фаза секреции инсулина, усиливается глюконеогенез в печени и развивается гипергликемия. СД II типа может быть связан с туловищным ожирением, следствием которого является инсулинорезистентность [6]. Несмотря на значительные достижения, целый ряд молекулярных механизмов регуляции энергетического обмена в норме и патологии остается недостаточно изученным, в то время как необходимы новые подходы к профилактике и лечению диабета [7].

Важным и перспективным направлением поиска новых подходов к лечению данного заболевания являются исследования на экспериментальных моделях. Для моделирования ожирения и сахарного диабета у лабораторных животных используются несколько типов моделей, которые можно разделить на две группы: генетические и негенетические.

Для воспроизведения сахарного диабета II типа на грызунах чаще всего применяют химические цитотоксические диабетогенные вещества – стрептозотоцин, дексаметазон и др., либо сочетанным воздействием химических и диетических факторов [8]. Цитотоксические агенты обладают различными механизмами повреждающего действия на β -клетки поджелудочной железы, поэтому их использование может быть весьма ограничено [9]. Кроме того, в большинстве известных стрептозотоциновых моделей развивается диабет с выраженной инсулинопенией без ожирения, дислипидемии и инсулинорезистентности, что, как правило, не характерно для сахарного диабета II типа [10].

Одной из моделей формирования диабета является содержание животных на высокожировой диете. Питание с высоким содержанием жиров может привести к ожирению, гиперинсулинемии и измененному гомеостазу глюкозы из-за недостаточной компенсации со стороны островков [11]. Поскольку ожирение в этом случае вызвано

манипуляциями с питанием, а не с цитотоксическими веществами, считается, что такие модели более сходны с заболеванием у человека.

Цель исследования: разработать и оценить адекватность модели сахарного диабета II типа у мышей на основе использования диеты с высоким содержанием жиров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовались самцы мышей линии C57BL/6. Мыши были получены из вивария Научно-исследовательского института фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук. Возраст мышей на момент начала эксперимента – 2 нед. Режим содержания животных: день 12 ч, ночь 12 ч, световой день начинается с 6:00, свободный доступ к пище и воде, температура в помещении 24 °С.

Было сформировано две группы: контрольная (мыши, питающиеся обычным кормом, $n = 12$) и экспериментальная (мыши, находящиеся на жировой диете, $n = 12$). Контрольная группа питалась кормом для лабораторных животных «Прокорм» (ЗАО «Биопро», г. Новосибирск), в котором на жиры приходилось 18% от общей калорийности. Состав корма: пшеница, ячмень, отруби, глютен кукурузный, мука рыбная, белковая кормосмесь, масло подсолнечное, шрот соевый.

Для экспериментальной группы мы разработали диету, в состав которой входили описанный выше корм «Прокорм» (50%), животный (свиной) (20%) и растительный (подсолнечное масло) (10%) жир, сахар (15%), сухое молоко (5%). Продукты измельчались в блендере в однородную смесь, из полученной массы формировались гранулы диаметром до 10 мм и высушивались в духовом шкафу при 30 °С. Корм готовился впрок на 5 сут и хранился при 4 °С. Диета удовлетворяла следующим критериям: на жиры приходилось 59% калорийности, в том числе 2/3 от указанного количества – на животные жиры и 1/3 – на растительные жиры, жирно-кислотный состав представлен в табл. 1.

Сравнительный состав двух диет представлен в табл. 2.

Эксперимент продолжался в течение 16 нед. Контроль массы тела проводился каждые 2 нед. Тест на толерантность к глюкозе проводился на 1-й и 16-й нед. Измерение концентрации инсулина проводилось на 1-й и 16-й нед сразу после и через 15 мин после внутрибрюшинной инъекции глюкозы.

Таблица 1

Table 1

Жирно-кислотный состав компонентов корма для экспериментальной группы Fatty acid composition of high fat diet (for the experimental group)			
Показатель Characteristics	Наименование жирной кислоты Fatty acids	Содержание, г на 100 г сырого жира The content in grams per 100 grams of crude fat	
		Масло подсолнечное Sunflower oil	Свиной жир Pork fat
C10:0	Декановая decanoic	–	0,06
C12:0	Лауриновая lauric	До 0,1	0,2
C14:0	Миристиновая myristic	До 0,2	1,1
C16:0	Пальмитиновая palmitic	5,0–7,6	19,5
C16:1	Пальмитолеиновая palmitoleic	До 0,3	2,7
C18:0	Стеариновая stearin	2,7–6,5	11,4
C18:1	Олеиновая olein	14,0–39,4	38,5
C18:2	Линолевая linoleic	48,3–74,0	9,5
C18:3	Линоленовая linolenic	До 0,3	0,7
C20:0	Арахидовая arachidic	0,1–0,5	–
C20:1	Гадолеиновая gadoleic	До 0,3	–
C22:0	Бегеновая behenic	0,3–1,5	–
C22:1	Эруковая erucic	До 0,3	–
C22:2	Докозадиеновая docosadiene	До 0,3	–
C24:0	Лигноцериновая lignoceric	До 0,5	–
C20:4	Арахидоновая arachidonic	–	0,1

Таблица 2

Table 2

Характеристика диет для экспериментальной и контрольной групп Characteristics of diets for the experimental and control groups		
Параметр Characteristic	Экспериментальная группа High fat diet	Контрольная группа Chow diet
Калорийность, ккал/кг Calorie, kcal/kg	5 100	3 000
в том числе количество калорий на жиры, % including of calories for fat, %	59	18
Состав Composition		
Жиры, % Fat, %	33	6
в том числе животные, % including animal fats, %	20	–

Окончание табл. 2
End of table 2

Параметр Characteristic	Экспериментальная группа High fat diet	Контрольная группа Chow diet
Углеводы, % Carbohydrates, %		
в том числе сахар including sugar	15	–
крахмал starch	30	61
сырая клетчатка crude fiber	1,8	3,6
Белки, % Squirrel, %	20	23,9
Лизин, % Lysine, %	0,8	1,5
Метионин + цистеин, % Methionine + Cysteine, %	0,5	0,9
Макроэлементы Macronutrients		
Кальций, % Calcium, %	0,9	1
Фосфор, % Phosphorus, %	0,7	0,8
Хлорид натрия, % Sodium chloride, %	0,24	0,34
Витамины и микроэлементы Vitamins and trace elements	+	+
Антиоксиданты, аминокислоты Antioxidants, Amino Acids	+	+

ТЕСТ НА ТОЛЕРАНТНОСТЬ К ГЛЮКОЗЕ

Измерение концентрации глюкозы в крови проводилось при помощи портативного глюкометра ПКГ-02.4 Сателлит Плюс (ООО «Компания ЭЛТА», Россия). Образцы крови получали при помощи пункции хвостовой вены.

Для проведения теста на толерантность к глюкозе мышам не давали корм в течение 4 ч, сохраняя свободный доступ к воде, утром животных взвешивали и определяли концентрацию глюкозы в крови (0 мин). Затем животным внутривенно вводили раствор 40%-й глюкозы (2 г на 1 кг массы тела) (углеводная нагрузка) [12]. Концентрация глюкозы в крови определялась через 15, 30, 60 и 120 мин после углеводной нагрузки [13]. Оценивались максимальная достигаемая концентрация, время достижения максимума и время возврата к исходному уровню, а также рассчитывался показатель площади под кривой (area under curve, AUC).

ИЗМЕРЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ИНСУЛИНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ

Образцы крови получали при помощи пункции хвостовой вены. Кровь собиралась в капил-

лярные пробирки Microvette Sarstedt (Германия) 200 мкл с КЗЭДТА.

Центрифугирование образцов проводилось сразу после забора крови в течение 6 мин при 10 000 об/мин при 4 °С. Плазма хранилась в замороженном виде при температуре –80 °С не более 1 мес. Концентрация инсулина в плазме крови мышей определялась иммуноферментным методом с помощью набора Ultra sensitive mouse insulin ELISA Kit (CrystalChem, США). Измерение оптической плотности образцов проводилось при помощи микропланшетного спектрофотометра модель Anthos 2010 с фильтрами (400–750 нм). Расчет оптической плотности образцов производился при длине волны 450 нм, референсная длина волны 620 нм.

Для оценки резистентности к инсулину мы рассчитывали индекс инсулинорезистентности HOMA-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) – показатель, представленный в работе D.R. Matthews и соавт. (1985), связанной с получением математической гомеостатической модели для оценки резистентности к инсулину [14]. Расчет выполнялся по формуле $HOMA-IR = (глюкоза \text{ натощак (ммоль/л)} \times \text{инсулин натощак (мкЕД/л)}) / 22,5$.

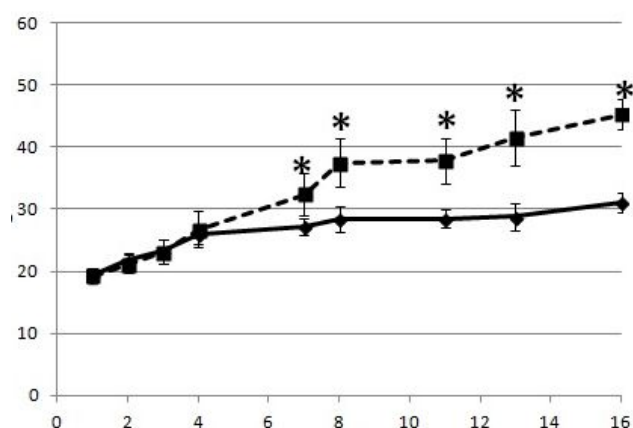


Рис. 1. Влияние высокожировой диеты (59% калорийности – жиры) на массу тела самцов мышей линии C57BL/6: по оси абсцисс – время содержания животных на диете, нед, по оси ординат – масса тела, г. Сплошная линия – контрольная группа, $n = 12$; пунктирная линия – экспериментальная группа, $n = 12$. * достоверность различий с контрольной группой, $p < 0,01$

Fig. 1. The effect of a high-fat diet (59% calorie fat) on C57BL/6 mice body weight: on the abscissa axis – the weeks of keeping animals on a diet, on the ordinate axis – body weight (gram). The solid line is the control group, $n = 12$; the dotted line is the experimental group, $n = 12$. * versus the control group, $p < 0.01$

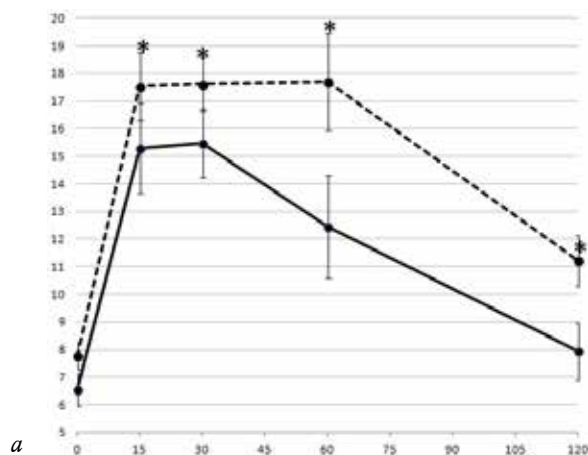


Рис. 2. Результаты теста на толерантность к глюкозе у самцов мышей линии C57BL/6 через 16 нед содержания на высокожировой диете (59% калорийности – жиры): а – динамика концентрации глюкозы в крови у мышей контрольной (сплошная линия, $n = 12$) и экспериментальной (пунктирная линия, $n = 12$) групп после внутрибрюшинного введения глюкозы (2 г/кг). Ось абсцисс – время после внутрибрюшинного введения глюкозы, мин; ось ординат – концентрация глюкозы в крови, ммоль/л; б – величина площади под кривой концентрации глюкозы AUC при глюкозотолерантном тесте в контрольной (темные столбики) и экспериментальной (светлые столбики) группах, мин $\times$ ммоль/л. * достоверность различий в сравнении с контрольной группой, $p < 0,05$

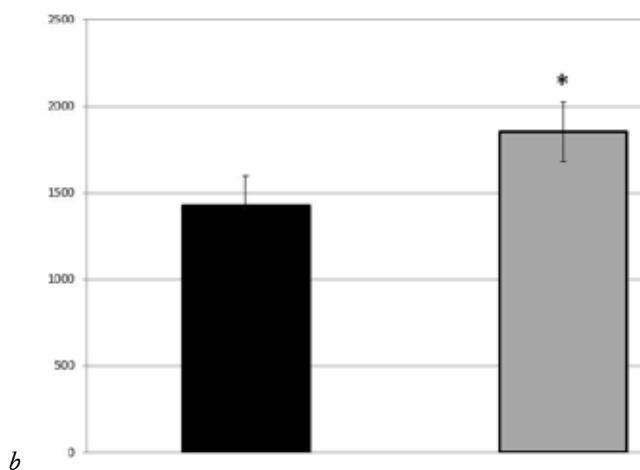
Fig. 2. The results of the glucose tolerance test in C57BL/6 mice after 16 weeks of high-fat diet feeding (59% calorie fat): а – dynamics of blood glucose concentration in mice of the control (solid line, 12 animals) and experimental (dashed line, 12 animals) groups after intraperitoneal glucose invasion (2 g/kg). The abscissa axis is the time after intraperitoneal glucose invasion, minutes, the ordinate axis is the glucose concentration, mmol/l; б – the area under the curve (AUC) in the control (dark bars) and experimental (light bars) groups, min $\times$ mmol/l. * versus the control group, $p < 0.05$

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета статистического анализа Statistica 8.0. Уровень значимости при проверке гипотезы принадлежности двух выборок к одной генеральной совокупности оценивался по тесту Краскела – Уоллиса (ANOVA). Данные представлены в виде среднего значения и его ошибки $\bar{X} \pm SE$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате применения жировой диеты у мышей выявлено формирование избыточной массы тела. Динамика изменения массы тела в течение 16 нед у животных контрольной и экспериментальной групп представлена на рис. 1. Выявленное превышение массы тела над контролем можно трактовать как признак выраженного ожирения, поскольку большинство авторов именно так расценивает увеличение массы тела на 25% и более [8–10].

На 7-й нед наблюдалось значительное увеличение массы тела у мышей экспериментальной группы. Масса тела экспериментальных животных превышала массу контрольной группы на 18%. На 8-й нед различия по массе выросли до 32%. К концу эксперимента масса мышей на жировой диете на 50% превышала массу контрольной группы (см. рис. 1).



Гипергликемия у мышей экспериментальной группы наблюдалась начиная с 8-й нед исследования ($6,63 \pm 0,91$) ммоль/л, в контроле – ($4,4 \pm 1,3$) ммоль/л. К концу эксперимента у мышей экспериментальной группы снизилась степень усвоения глюкозы. Через 15 и 30 мин после углеводной нагрузки у мышей экспериментальной группы уровень глюкозы в крови превышал показатель контрольной группы на 13%. Такое же соотношение сохранилось и через 30 мин. В течение 60 мин уровень глюкозы крови в контрольной группе начал постепенно снижаться, тогда как у мышей экспериментальной группы показатель увеличился и различия с контролем составили 41%. Через 2 ч уровень глюкозы в контрольной группе практически вернулся к исходному уровню, тогда как в экспериментальной группе сохранялся повышенным на 57% (рис. 2, а). У мышей контрольной группы максимальный подъем концентрации глюкозы наблюдался на 30-й мин и составил ($15,46 \pm 1,2$) ммоль/л. У мышей экспериментальной группы максимальная концентрация была достигнута на 60-й мин и составила ($17,7 \pm 2,3$) ммоль/л. Величина площади под кривой AUC в контрольной группе составила ($1\,424,6 \pm 218,7$) мин $\times$ ммоль/л; в экспериментальной – ($1\,851,7 \pm 254,5$) мин $\times$ ммоль/л, $p < 0,05$ (рис. 2, б).

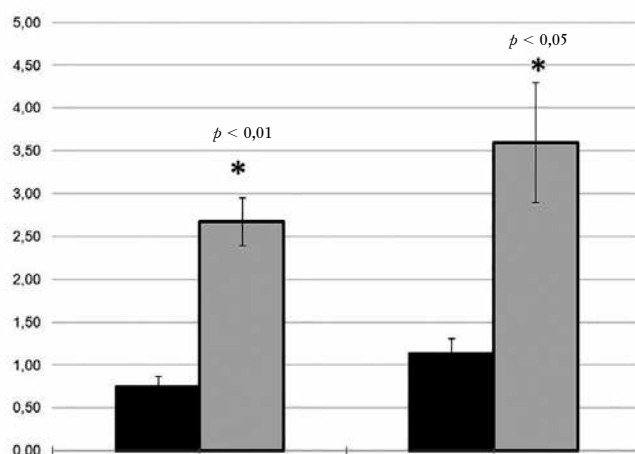


Рис. 3. Концентрация инсулина (нг/мл) в плазме крови самцов мышей линии C57BL/6 до и через 15 мин после введения глюкозы; контрольная группа (темные столбики, $n = 12$), экспериментальная группа (светлые столбики, $n = 12$). * достоверность различий с контрольной группой, $p < 0,05$

Fig. 3. The insulin concentration (ng/ml) in the mice blood plasma before and after 15 min glucose invasion; control group (dark bars, $n = 12$), experimental group (light bars, $n = 12$). * versus the control group, $p < 0.05$

Снижение уровня глюкозы называется гипогликемической фазой и косвенно отражает скорость выработки инсулина и чувствительность тканей к данному гормону. Пролонгация этой фазы характерна для сахарного диабета II типа, что и наблюдалось у мышей экспериментальной группы в данном исследовании.

На рис. 3 представлена концентрация инсулина в плазме крови мышей до и после введения глюкозы. У мышей экспериментальной группы уровень инсулина превышал значение в контрольной группе в 3 раза как до, так и через 15 мин после введения глюкозы.

Расчет HOMA-IR дал следующие результаты: в контрольной группе на 16-й нед эксперимента он составил $3,62 \pm 0,48$; а в экспериментальной – $19,85 \pm 3,07$, $p < 0,001$.

Как правило, СД II типа характеризуется резистентностью к инсулину. Поскольку концентрация глюкозы в крови продолжает расти, это способствует высвобождению большего количества инсулина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют, что использование высокожировой диеты у мышей приводит к увеличению массы тела и формированию ожирения (масса тела более чем на 25% выше, чем в контрольной группе [8–10]), гипергликемии, снижению толерантности к глюкозе и гиперинсулинемии. Все это свидетельствует о адекватности разработанной экспериментальной модели заболеванию сахарным диабетом II типа. Критериями адекватности модели, таким образом, можно считать следующие: динамика массы тела; гипергликемия; результаты теста на толерантность к глюкозе, в том числе величину площади под кривой концентрации глюкозы AUC при глюкозотолерантном тесте.

В то же время высокая концентрация инсулина в крови животных экспериментальной группы свидетельствует о том, что нарушения сформировались только со стороны мышечной ткани, тогда как чувствительность β -клеток поджелудочной железы к глюкозе сохраняется. Это позволяет сделать заключение об относительной адекватности разработанной модели – моделируются нарушения со стороны мышечной ткани, но не поджелудочной железы. Возможно, для формирования резистентности к глюкозе со стороны β -клеток поджелудочной железы требуется больший срок.

Созданная модель может быть особенно полезна в широкой области исследований резистентности к глюкозе.

стентности к инсулину, диабета и ожирения, она позволит обеспечить лучшее понимание патогенеза, а также может быть использована для экспериментальной проверки эффектов терапевтических вмешательств.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Groop L.C., Eriksson J.G. The etiology and pathogenesis of non-insulin-dependent diabetes. *Ann. Med.* 1992; 24 (6): 483–489.
2. Fujimaki S., Kuwabara T. Diabetes-induced dysfunction of mitochondria and stem cells in skeletal muscle and the nervous system. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18 (10): 2147. DOI: 10.3390/ijms18102147.
3. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2010; 33 (1): S62–69.
4. Lyra e Silva N., Lam M.P., Soares C.N., Munoz D.P., Milev R., Felice G. Insulin resistance as a shared pathogenic mechanism between depression and type 2 diabetes. *Front. Psychiatry.* 2019; 10: 57. DOI: 10.3389/fpsyt.2019.00057.
5. Højlund K. Metabolism and insulin signaling in common metabolic disorders and inherited insulin resistance. *Dan. Med. J.* 2014; 61 (7): B4890.
6. Сарвилина И.В., Макляков Ю.С., Криштопа А.В., Каркищенко В.Н. Поиск новых мишеней для разработки сахароснижающих лекарственных средств на основе биомоделирования сахарного диабета второго типа и протеомных технологий. *Биомедицина.* 2008; 1: 5–13. [Sarvilina I.V., Maklyakov Yu.S., Krishtopa A.V., Karkishchenko V.N. *Biomedicine.* 2008; 1: 513 (in Russ.)].
7. Nagy C., Einwallner E. Study of In vivo glucose metabolism in high-fat diet-fed mice using oral glucose tolerance test (OGTT) and insulin tolerance test (ITT). *J. Vis. Exp.* 2018; 131: 112. DOI: 10.3791/56672.
8. Bobkiewicz-Kozłowska T., Dworacka M., Kuczyński S. et al. Hypoglycaemic effect of quinolizidine alkaloids lupanine and 2-thionosparteine on non-diabetic and strep-tozotocin-induced diabetic rats. *European Journal of Pharmacology.* 2007; 565 (13): 240244. DOI: 10.1016/j.ejphar.2007.02.032.
9. Чуканова Г.Н., Дворацка М., Исакова С.С., Курмамбаев Е.Ж. Моделирование сахарного диабета 2 типа для изучения лекарственных средств с антидиабетической активностью. *Наука и здравоохранение.* 2014; 4: 48. [Chukanova G.N., Dvoratska M., Iskakova S.S., Kurmambaev E.Zh. *Science and Health.* 2014; 4: 48 (in Russ.)].
10. Байрашева В.К., Бабенко А.Ю., Дмитриев Ю.В., Байрамов А.А., Чефу С.Г., Шаталов И.С., Пчелин И.Ю., Иванова А.Н., Гринева Е.Н. Новая модель сахарного диабета 2-го типа и диабетической нефропатии у крыс. *Трансляционная медицина.* 2016; 3 (4): 44–55. [Bayrasheva V.K., Babenko A.Yu., Dmitriev Yu.V., Bayramov A.A., Chefu S.G., Shatalov I.S., Pchelin I. Yu., Ivanova A.N., Grineva E.N. *Translational Medicine.* 2016; 3 (4): 44–55 (in Russ.)]. DOI: 10.18705/2311-4495-2016-3-4-44-55.
11. Winzell M.S., Ahren B. The high-fat diet-fed mouse: a model for studying mechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes.* 2004; 53 (3): S215–219.
12. Jørgensen M.S., Tornqvist K.S., Hvid H. Calculation of glucose dose for intraperitoneal glucose tolerance tests in lean and obese mice. *J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.* 2017; 56 (1): 95–97.
13. Горячева М.А., Макарова М.Н. Особенности проведения глюкозотолерантного теста у мелких лабораторных грызунов (мыши и крысы). *Международный вестник ветеринарии.* 2016; 3: 155159. [Goryacheva M.A., Makarova M.N. *International Journal of Veterinary Medicine.* 2016; 3: 155159 (in Russ.)].
14. Matthews D.R. et al. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985; 28 (7): 412419.

Сведения об авторах

Капилевич Леонид Владимирович, д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ; ст. науч. сотрудник, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-2316-576X.

Захарова Анна Николаевна, канд. биол. наук, доцент, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0003-1102-2830.

Дьякова Елена Юрьевна, д-р мед. наук, профессор, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск.

Authors information

Kapilevich Leonid V., DM, Professor, Chief Researcher, Department of Sports Tourism, Sports Physiology and Medicine, NR TSU; Senior Researcher, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-2316-576X.

Zakharova Anna N., PhD, Associate Professor, Department of Sports Tourism, Sports Physiology and Medicine, NR TSU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-1102-2830.

Dyakova Elena Yu., DM, Professor, Department of Sports Tourism, Sports Physiology and Medicine, NR TSU, Tomsk, Russian Federation.

Kironenko Tatiana A., Lecturer, Department of Sports

Кироненко Татьяна Александровна, преподаватель, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-7968-6137.

Милованова Ксения Геннадьевна, аспирант, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-3038-3298.

Калинникова Юлия Геннадьевна, ст. преподаватель, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-5410-1147.

Чибалин Александр Валерьевич, ст. науч. сотрудник, кафедра спортивно-оздоровительного туризма, спортивной физиологии и медицины, НИ ТГУ, г. Томск; Associate Professor, Department of Molecular Medicine and Surgery, Integrative Physiology, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden.

(✉) **Капилевич Леонид Владимирович**, e-mail: kapil@yandex.ru.

Tourism, Sports Physiology and Medicine, NR TSU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-7968-6137.

Milovanova Ksenia G., Post-graduate Student, Department of Sports Tourism, Sports Physiology and Medicine, NR TSU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-3038-3298.

Kalinnikova Julia G., Senior Lecturer, Department of Sports Tourism, Sports Physiology and Medicine, NR TSU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-5410-1147.

Chibalin Alexander V., Senior Researcher, Department of Sports Tourism, Sports Physiology and Medicine, NR TSU, Tomsk, Russian Federation.; Associate Professor, Department of Molecular Medicine and Surgery, Integrative Physiology, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden.

(✉) **Kapilevich Leonid V.**, e-mail: kapil@yandex.ru.

Received 15.04.2019

Accepted 11.06.2019

Поступила в редакцию 15.04.2019

Подписана в печать 11.06.2019

Половые различия в клинических особенностях антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемии у больных шизофренией

Корнетова Е.Г.^{1,2}, Тигунцев В.В.¹, Корнетов А.Н.², Гончарова А.А.¹, Лобачева О.А.¹,
Давыдов А.А.², Харди́кова С.А.², Иванова С.А.¹, Семке А.В.^{1,2}

¹ Научно-исследовательский институт (НИИ) психического здоровья, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634014, г. Томск, ул. Алеутская, 4

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

РЕЗЮМЕ

Цель – выявление половых различий в клинических особенностях антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемии у больных шизофренией.

Материалы и методы. Обследованы 98 больных из отделения эндогенных расстройств клиники НИИ психического здоровья г. Томска. Включались лица 18–50 лет с давностью катмнеза заболевания не менее 1 года, состояние которых соответствовало критериям шизофрении по МКБ-10. Определение пролактина проводили иммуноферментным методом с использованием набора реагентов PRL Test System (Monobind Inc., США). Применялись Базисная карта социодемографических и клинικο-динамических признаков для больных шизофренией, шкала UKU в адаптированной русской версии. Статистическую обработку проводили с использованием пакета программ Statistica 12.0. Применяли непараметрический *U*-критерий Манна – Уитни, χ^2 Пирсона, в том числе с учетом поправки Йейтса, для сравнения малых выборок был использован двухсторонний критерий Фишера.

Результаты. Средние показатели концентрации пролактина в сыворотке крови у женщин зафиксированы на уровне $(52,4 \pm 39,1)$ нг/мл, у мужчин – $(26,7 \pm 19,7)$ нг/мл. Гиперпролактинемия была выявлена у 23 (47,9%) женщин и 25 (50%) мужчин. У женщин с гиперпролактинемией статистически значимо чаще встречались показатели «прибавка в весе» и «головная боль» ($p = 0,044$ и $p = 0,005$ соответственно), у мужчин с гиперпролактинемией – более высокие показатели индекса массы тела ($p = 0,0066$). По остальным пунктам UKU значимых различий не выявлено как у мужчин, так и у женщин. Мужчины предъявляли меньшее количество жалоб и были менее доступны для обсуждения сексуальной дисфункции.

Заключение. Антипсихотик-индуцированная гиперпролактинемия у больных шизофренией не всегда проявляется полным спектром специфических клинических симптомов и нуждается в тщательном обследовании пациентов с учетом пола, а также в регулярном мониторинге уровня пролактина в сыворотке крови больных.

Ключевые слова: шизофрения, антипсихотическая терапия, гиперпролактинемия.

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

Источник финансирования. Исследование проведено в рамках гранта РФФИ № 17-29-06035 «Новые подходы к фармакогенетике антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемии у больных шизофренией» и при частичной поддержке Программы фундаментальных научных исследований, определенной Программой Президиума РАН № 1.42.

Соответствие принципам этики. Все лица, включенные в выборку, дали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ (протокол № 665 от 24.10.2016).

Для цитирования: Корнетова Е.Г., Тигунцев В.В., Корнетов А.Н., Гончарова А.А., Лобачева О.А., Давыдов А.А., Хардикова С.А., Иванова С.А., Семке А.В. Половые различия в клинических особенностях антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемии у больных шизофренией. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 62–71. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-62-71>.

УДК 616.895.8:616.154:577.175.328
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-62-71>

Sexual differences in the clinical features of antipsychotic-induced hyperprolactinemia in patients with schizophrenia

Kornetova E.G.^{1,2}, Tiguntsev V.V.¹, Kornetov A.N.², Goncharova A.A.¹, Lobacheva O.A.¹, Davydov A.A.², Khardikova S.A.², Ivanova S.A.¹, Semke A.V.^{1,2}

¹ Mental Health Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences 4, Aleutskaya Str., Tomsk, 634014, Russian Federation

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

ABSTRACT

The goal was to identify gender differences in the clinical features of antipsychotic-induced hyperprolactinemia in patients with schizophrenia.

Materials and methods. 98 patients from the Department of Endogenous Disorders of the Research Institute of Mental Health Clinic in Tomsk were examined. Persons aged 18–50 were included with follow-up treatment for at least 1 year, whose condition corresponded to the ICD-10 schizophrenia criteria. Prolactin levels were determined by ELISA using the PRL Test System reagent kit (MonobindInc., USA). The base map of sociodemographic and clinical-dynamic features for patients with schizophrenia was used. Statistical processing of data was performed using the Statistica 12.0 software package. Mann–Whitney *U* test, Pearson’s χ^2 criterion, including Yates correction, and Fisher’s two-sided test were used for comparing small samples.

Results. The average serum concentration of prolactin in women was 52.4 ± 39.1 ng/ml, in men it was 26.7 ± 19.7 ng/ml. Hyperprolactinemia was detected in 23 (47.9%) women and 25 (50%) men. Among women with hyperprolactinemia, statistically significant “Weight Gain” and “Headache” parameters were more common ($p = 0.044$ and $p = 0.005$, respectively). Men with hyperprolactinemia had higher BMI rates ($p = 0.0066$). For the rest of the UKU paragraphs, no significant differences were found in both men and women. Men presented fewer complaints and were less willing to discuss sexual dysfunction.

Conclusion. Antipsychotic-induced hyperprolactinemia in patients with schizophrenia does not always have a full range of specific clinical manifestations and needs careful examination of patients with account of gender characteristics, as well as regular monitoring of the prolactin level in the serum of patients.

Key words: schizophrenia, antipsychotic therapy, hyperprolactinemia.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was supported by the grant of the Russian Foundation for Basic Research No. 17-29-06035 “New approaches to pharmacogenetics of antipsychotic-induced hyperprolactinemia in patients with schizophrenia” and partially supported by the Program of Fundamental Research determined by the executive committee of the Russian Academy of Sciences No.1. 42.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed informed consent to participate in the study. The study was approved by the local Ethics Committee at the Mental Health Research Institute, Tomsk (NRMC) (Protocol No. 665 of 24.10.2016).

For citation: Kornetova E.G., Tiguntsev V.V., Kornetov A.N., Goncharova A.A., Lobacheva O.A., Davydov A.A., Khardikova S.A., Ivanova S.A., Semke A.V. Sexual differences in the clinical features of antipsychotic-induced hyperprolactinemia in patients with schizophrenia *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 62–71. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-62-71>.

ВВЕДЕНИЕ

Основной стратегией лечения шизофрении является психофармакотерапия, направленная на купирование острых состояний, редукцию клинических проявлений, предупреждение рецидивов, улучшение качества жизни и обеспечение доступности пациентов психосоциальной реабилитации [1, 2]. Многие широко используемые при шизофрении в последние годы атипичные антипсихотики обладают высокой собственной антипсихотической эффективностью, вместе с тем, как и конвенциональные, вызывают выраженные эндокринные нарушения, в том числе повышение пролактина в сыворотке крови [3, 4]. По данным литературы, частота возникновения гиперпролактинемии у больных шизофренией составляет до 70–88% в зависимости от варианта антипсихотической терапии [5, 6].

Повышенный уровень пролактина в сыворотке крови у больных шизофренией связан с риском возникновения таких серьезных осложнений, как остеопороз и даже онкологическая патология, а также рядом других нежелательных симптомов, в частности с аменореей, сексуальной дисфункцией и бесплодием. Данные нарушения не всегда выявляются практическими врачами-психиатрами, а сама гиперпролактинемия рассматривается как второстепенное явление по отношению к терапевтическим мишеням [7]. Гиперпролактинемия имеет множество специфических и неспецифических клинических проявлений. Чаще всего она сопряжена с сексуальной дисфункцией, также распространенным явлением бывает увеличение веса тела за счет повышенного аппетита [8]. Вместе с тем известно, что бессимптомное течение гиперпролактинемии отмечается у 49% больных шизофренией с повышенным уровнем пролактина в сыворотке крови [9]. Часть симптомов не распознается врачами из-за уменьшения времени на тщательное физикальное обследование, включая соматоскопическое, в силу предпочтения в последнее время инструментальных и параклинических методик. Известно также, что большинство

специалистов не задают вопросов о сексуальных проблемах у больных шизофренией в обычных клинических условиях, в основном из-за нехватки опыта проведения таких интервью, а сами пациенты испытывают чувство стыда или недоверия к медицинским специалистам, в результате чего данные симптомы остаются нераспознанными [10]. Поэтому необходимо внимательное изучение сопряженности гиперпролактинемии, выявленной с помощью параклинических методов, с клиническими симптомами данной нейроэндокринной дисфункции у больных шизофренией, причем особенно важно учитывать половые различия с целью разработки персонализированных программ по превенции, снижению или полной редукции гиперпролактинемии.

Еще в середине XX в. М. Юлес, М. Холло [11] указывали на необходимость детального проведения соматоскопического обследования пациентов, например, оценки кожного покрова (наличие стрий, влажность, оволосение, распределение жировой ткани), пальпации молочных желез, яичек, области щитовидной железы, измерения веса тела, сбора субъективного анамнеза. Отмечалось, что у мужчин особенно важно проводить расспрос на тему интенсивности половой жизни, у женщин – также регулярности менструального цикла. Данное положение и в настоящее время остается актуальным и служит поводом помимо других параклинических исследований для мониторинга уровня гормонов в сыворотке крови, в частности пролактина. Выявлять симптомы гиперпролактинемии могут врачи различного профиля, а у женщин – прежде всего гинекологи, поэтому особенно важны преемственность и согласованность между специалистами.

В эндокринологической практике описана специфика клинических картин при гиперпролактинемии, вызванных аденомами гипофиза. Так, наиболее часто у женщин встречается сочетание таких симптомов, как олигоменорея и галакторея, реже нарушение менструального цикла и головные боли, а также олиго- или аменорея на-

ряду с прибавкой веса и галактореей [12]. У мужчин прежде всего встречаются нарушение либидо и эректильная дисфункция, а также увеличение веса [13]. Спектр клинических проявлений гиперпролактинемии у женщин с шизофренией более широкий по сравнению с пациентами мужского пола [14], однако подробных описаний клинических портретов больных с повышенным уровнем пролактина при шизофрении практически не встречается. В психиатрии известным фактом является то, что чем меньше клинически проявляются симптомы гиперпролактинемии, тем выше уровень депрессивных расстройств и меньше эффективность антипсихотической терапии [15].

Цель исследования – выявление половых различий в клинических особенностях антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемии у больных шизофренией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на базе отделения эндогенных расстройств клиники НИИ психического здоровья г. Томска. Исследование осуществлено в соответствии этическими стандартами, разработанными в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266.

Обследованы 98 пациентов, проходивших стационарное лечение и получающих антипсихотическую терапию конвенциональными нейролептиками (галоперидол, зуклопентиксол) или атипичными антипсихотиками (рисперидон, оланзапин, кветиапин) в рекомендованных терапевтических дозах, подписавших информированное согласие об участии в исследовании. Включались лица 18–50 лет с давностью катмнеза заболевания не менее 1 года, состояние которых на момент обследования соответствовало диагностическим критериям шизофрении по МКБ-10. Средний возраст больных составил $(36,6 \pm 10,5)$ лет, возраст манифестации заболевания на момент осмотра – $(23,9 \pm 6,4)$ лет. В выборке оказалось 50 (51,0%) мужчин и 48 (49,0%) женщин.

Исследование уровня пролактина в сыворотке крови пациентов проводили обычно в первые дни госпитализации. Забор венозной крови у всех обследованных лиц осуществлялся с 8:00 до 9:00; определение пролактина проводили иммуноферментным методом с использованием набора ре-

агентов PRL Test System (Monobind Inc., США) для количественного определения содержания гормона в сыворотке крови. У женской части выборки репродуктивного возраста забор крови производился в первую фазу менструального цикла. Гиперпролактинемия диагностировалась при уровне пролактина выше 25 нг/мл у женщин и 20 нг/мл – у мужчин.

На всех пациентов в процессе 6-недельной антипсихотической терапии заполнялась Шкала оценки побочного действия (Udvald for Kliniske Undersogelser Scale, UKU) [16], с помощью которой оценивались клинические проявления гиперпролактинемии. Антропометрическое исследование включало в себя измерение роста с помощью медицинского ростомера и веса тела медицинским прибором Omron BF508 (Япония) с определением индекса массы тела.

Статистическая обработка выполнена с помощью пакета программ Statistica for Windows 12.0 (StatSoft Inc., США). Применяли непараметрический U -критерий Манна – Уитни, χ^2 Пирсона, в том числе с учетом поправки Йейтса, для сравнения малых выборок был использован двухсторонний критерий Фишера. Пороговое значение достигнутого уровня значимости p было принято равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Средние показатели концентрации пролактина в сыворотке крови у женщин зафиксированы на уровне $(52,4 \pm 39,1)$ нг/мл, у мужчин – $(26,7 \pm 19,7)$ нг/мл. Гиперпролактинемия была выявлена у 23 (47,9%) женщин и 25 (50%) мужчин.

При изучении показателей индекса массы тела обнаружены статистически значимо ($p = 0,0066$) большие показатели у мужчин с гиперпролактинемией, чем без гиперпролактинемии (27 (25,7; 35,2) и 25,5 (20,4; 28,3) соответственно). В отношении данных показателей у женщин установить статистически значимые различия в исследуемых группах не удалось (29 (23,3; 34,7) и 26,1 (22,6; 31,7), $p = 0,338$).

При анализе данных UKU по частотам встречаемости таких симптомов, как прибавка в весе либо потеря в весе, за последний месяц в соответствии с показателями пролактина в сыворотке крови у мужчин не установлено статистически значимых различий ($p = 0,568$; $p = 0,189$ соответственно). Среди женщин с гиперпролактинемией значимо более часто встречалась прибавка в весе (табл. 1), чем у пациенток без гиперпролактинемии ($p = 0,044$), по подпункту «потеря в весе» не наблюдалось статистических различий ($p = 0,275$).

Таблица 1

Table 1

Сравнительная оценка показателей пунктов UKU «прибавка в весе» и «потеря в весе» по полу в зависимости от наличия или отсутствия гиперпролактинемии					
Comparative evaluation of UKU “Weight Gain” and “Weight Loss” categories by sex depending on the presence / absence of hyperprolactinemia					
Показатель Parameter		Мужчины, абс. (%) Men, abs. (%)		Женщины, абс. (%) Women, abs. (%)	
		без ГПРА without HPRL	ГПРА with HPRL	без ГПРА without HPRL	ГПРА with HPRL
UKU «прибавка в весе» UKU “Weight Gain”	Есть Present	12 (54,5)	10 (45,5)	13 (68,4)*	6 (31,6)
	Нет Absent	13 (46,4)	15 (53,6)	10 (34,5)	19 (65,5)
UKU «потеря в весе» UKU “Weight Loss”	Есть Present	(83,3)	1 (16,7)	3 (33,3)	6 (66,7)
	Нет Absent	(45,5)	24 (54,5)	20 (51,3)	19 (48,7)

Примечание. Здесь и в табл. 2–9: ГПРА – гиперпролактинемия, абс. – абсолютное число.

* $p = 0,044$.

Note. Here and in Tables 2–9: HPRL – hyperprolactinemia, as. – absolute number.

* $p = 0.044$.

Установить связь между наличием меноррагии и гипоменореи у женщин с гиперпролактинемией за последние 3 мес не удалось ($p = 0,469$ и $p = 0,571$ соответственно). Хотя чаще фиксировалась

гипоменорея, ее частота в двух изучаемых группах (с наличием – 11 (44,0%) и отсутствием – 14 (56,0%) гиперпролактинемии) была примерно одинаковой (табл. 2).

Таблица 2

Table 2

Сравнительная оценка показателей пунктов UKU «меноррагии» и «гипоменорея» у женщин в зависимости от наличия или отсутствия гиперпролактинемии			
Comparative evaluation of UKU “Menorrhagia” and “Hypomenorrhoea” categories in women depending on the presence / absence of hyperprolactinemia			
Показатель Parameter		ГПРА, абс. (%) HPRL, abs. (%)	Без ГПРА, абс. (%) without HPRL, abs. (%)
UKU «меноррагии» UKU “Menorrhagia”	Есть Present	3 (60,0)	2 (40,0)
	Нет Absent	20 (46,5)	23 (53,5)
UKU «гипоменорея» UKU “Hypomenorrhoea”	Есть Present	11 (44,0)	14 (56,0)
	Нет Absent	12 (52,2)	11 (47,8)

Наличие галактореи оценивалось как у мужчин, так и у женщин (вне периода кормления грудью). Среди мужчин не зарегистрировано ни одного случая увеличения секреции молочных желез на момент обследования, что не подразумевало статистической обработки. Среди женщин было выявлено пять случаев, при этом у трех из них (60,0%) отмечен повышенный уровень пролактина в сыворотке крови ($p = 0,291$). При физикальном осмотре наличие гинекомастии обнаружено у

10 мужчин (табл. 3), гиперпролактинемия выявлена у семи (70%) обследованных ($p = 0,289$).

Еще одним из показателей, оцененным по UKU в изучаемых группах, являлось либидо. Приблизительно половина обследованных лиц с гиперпролактинемией сообщили о снижении влечения к сексуальной активности – 12 (44,4%) и 13 (52,0%) соответственно, однако статистически значимых различий в группах не установлено (табл. 4).

Таблица 3

Table 3

Сравнительная оценка показателей пункта UKU «гинекомастия» у мужчин в зависимости от наличия или отсутствия гиперпролактинемии			
Comparative evaluation of "Gynaecomastia" category values in men depending on the presence / absence of hyperprolactinemia			
Показатель Parameter		ГПРА, абс. (%) HPRL, abs. (%)	Без ГПРА, абс. (%) without HPRL, abs. (%)
UKU «гинекомастия» UKU "Gynaecomastia" category	Есть Present	7 (70,0)	3 (30,0)
	Нет Absent	18 (45,0)	22 (55,0)

Таблица 4

Table 4

Сравнительная оценка показателей пунктов UKU «усиление сексуального влечения» и «ослабление сексуального влечения» по полу в зависимости от наличия или отсутствия гиперпролактинемии					
Comparative evaluation of UKU "Increased Sexual Desire" and "Diminished Sexual Desire" categories by sex, depending on the presence / absence of hyperprolactinemia					
Показатель Parameter		Мужчины, абс. (%) Men, abs. (%)		Женщины, абс. (%) Women, abs. (%)	
		Без ГПРА without HPRL	ГПРА HPRL	Без ГПРА without HPRL	ГПРА HPRL
UKU «усиление сексуального влечения» "Increased Sexual Desire" category	Есть Present	4 (50,0)	4 (42,)	4 (57,1)	3 (42,9)
	Нет Absent	21 (50,0)	21 (50,0)	19 (46,3)	22 (53,7)
UKU «ослабление сексуального влечения» UKU "Diminished Sexual Desire" category	Есть Present	12 (44,4)	15 (55,6)	13 (52,0)	12 (48,0)
	Нет Absent	13 (56,5)	10 (43,5)	10 (43,5)	13 (56,5)

Среди обследованных мужчин (табл. 5) с гиперпролактинемией 10 человек (55,6%) сообщили о нарушении возникновения и поддержания эрекции и восемь (44,4%) не имели повышения концентрации пролактина в сыворотке крови ($p = 0,768$). В большинстве случаев во время сбо-

ра жалоб приходилось задавать много наводящих вопросов, пациенты мужского пола испытывали заметное волнение, пытались уйти от ответов, однако в процессе целенаправленного расспроса удавалось выявить ряд симптомов сексуальной дисфункции.

Таблица 5

Table 5

Сравнительная оценка показателей пункта UKU «эректильная дисфункция» у мужчин в зависимости от наличия или отсутствия гиперпролактинемии			
Comparative evaluation of UKU "Erectile Dysfunction" category values in men depending on the presence / absence of hyperprolactinemia			
Показатель Parameter		ГПРА, абс. (%) HPRL, abs. (%)	Без ГПРА, абс. (%) without HPRL, abs. (%)
UKU «эректильная дисфункция» UKU "Erectile Dysfunction" category	Есть Present	10 (55,6)	8 (44,4)
	Нет Absent	15 (46,9)	17 (53,1)

Мужчины редко сообщали о нарушении способности контролировать эякуляцию (табл. 6). Среди лиц, имеющих повышенный уровень пролактина,

данное нарушение выявлено у шести (46,2%) пациентов, оно же наблюдалось у семи пациентов с нормальным уровнем пролактина (53,8%), $p = 1,0$.

Таблица 6

Table 6

Сравнительная оценка показателей пункта UKU «нарушение эякуляции» у мужчин в зависимости от наличия или отсутствия гиперпролактинемии			
Comparative evaluation of UKU "Ejaculatory Dysfunction" category values in men depending on the presence / absence of hyperprolactinemia			
Показатель Parameter		ГПРА, абс. (%) HPRL, abs. (%)	Без ГПРА, абс. (%) without HPRL, abs. (%)
UKU «нарушение эякуляции» UKU "Ejaculatory Dysfunction" category	Есть Present	6 (46,2)	7 (53,8)
	Нет Absent	19 (51,4)	18 (48,6)

Вне зависимости от уровня пролактина в сыворотке крови одинаковое количество мужчин ($p = 1,0$) заявило о нарушении способности к получению и полноценному переживанию удов-

летворяющего оргазма. У женщин статистически значимые различия также не установлены ($p = 0,940$), большая часть их сообщала об отсутствии нарушений оргазма (табл. 7).

Таблица 7

Table 7

Сравнительная оценка показателей пунктов UKU «нарушение оргазма» по полу в зависимости от наличия или отсутствия гиперпролактинемии					
Comparative evaluation of UKU "Orgasmic Dysfunction" category values by sex, depending on the presence / absence of hyperprolactinemia					
Показатель Parameter		Мужчины, абс. (%) Men, abs. (%)		Женщины, абс. (%) Women, abs. (%)	
		Без ГПРА without HPRL	ГПРА HPRL	Без ГПРА without HPRL	ГПРА HPRL
UKU «нарушение оргазма» UKU "Orgasmic Dysfunction" category	Есть Present	11 (50,0)	11 (50,0)	8 (44,4)	10 (55,6)
	Нет Absent	14 (50,0)	14 (50,0)	15 (50,0)	15 (50,0)

Отсутствие естественного увлажнения вагины при сексуальной стимуляции выявлено у 13 обследованных женщин (табл. 8), при этом повышенный уровень пролактина в сыворотке крови обнаружен у шести (46,2%) пациенток. Значимые статистические различия в сравниваемых группах

не выявлены ($p = 0,860$). Женщин значимо чаще беспокоили головные боли при наличии гиперпролактинемии ($p = 0,005$), мужчины предъявляли эту жалобу в равной степени (табл. 9) как в группе с наличием гиперпролактинемии, так и в группе без нее ($p = 0,568$).

Таблица 8

Table 8

Сравнительная оценка показателей пунктов UKU «вагинальная сухость» у женщин в зависимости от наличия или отсутствия гиперпролактинемии			
Comparative evaluation of UKU "Vaginal Dryness" category values in women depending on the presence / absence of hyperprolactinemia			
Показатель Parameter		ГПРА, абс. (%) HPRL, abs. (%)	Без ГПРА, абс. (%) without HPRL, abs. (%)
UKU «вагинальная сухость» UKU "Vaginal Dryness" category	Есть Present	6 (46,2)	7 (53,8)
	Нет Absent	17 (48,6)	18 (51,4)

Сравнительная оценка показателей пунктов UKU «головные боли» по полу в зависимости от наличия или отсутствия гиперпролактинемии

Comparative evaluation of UKU "Headache" category values by sex depending on the presence / absence of hyperprolactinemia

Показатель Parameter		Мужчины, абс. (%) Men, abs. (%)		Женщины, абс. (%) Women, abs. (%)	
		Без ГПРА without HPRL	ГПРА HPRL	Без ГПРА without HPRL	ГПРА with HPRL
UKU «головные боли» UKU "Headache" category	Есть Present	15 (53,6)	13 (37,5)	20 (62,5) *	12 (37,5)
	Нет Absent	10 (45,5)	12 (54,5)	3 (18,7)	13 (81,3)

* $p = 0,005$.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования показали, что спектр клинических проявлений гиперпролактинемии у женщин с шизофренией, получающих антипсихотическую терапию, был более разнообразный и широкий по сравнению с пациентами мужского пола, регистрируемый как по UKU, так и по арсеналу предъявляемых жалоб. Так, среди женщин с шизофренией и наличием антипсихотик-индуцированной гиперпролактинемии отмечалось статистически значимо большее число лиц с жалобами на головные боли. Кроме того, у них также чаще фиксировалась по UKU прибавка в весе при данном нежелательном явлении. У мужчин с гиперпролактинемией обнаружены более высокий показатели индекса массы тела при отсутствии субъективных жалоб на прибавку веса, но отличий по каким-либо симптомам, зарегистрированным по UKU, в зависимости от наличия или отсутствия гиперпролактинемии не наблюдалось. Это, возможно, связано с более высоким уровнем показателей пролактина в сыворотке крови у женщин, с одной стороны, и меньшей доступностью мужской части выборки для обсуждения вопросов, связанных с сексуальной активностью, – с другой.

Данный феномен объясняется тем, что внутренний локус контроля (интернальности) имеет для мужчин большую значимость, чем для женщин [17]. В связи с этим можно констатировать, что сбор информации у мужчин более затруднителен, так как они склонны к ограничению экстернальности. Поэтому представляется целесообразным перед проведением клинического интервью у мужчин дополнительно к процедуре информированного согласия напоминать о конфиденциальности предоставляемой информации и других этических принципах для преодоления иррациональных страхов пациента «показаться

слабым» с учетом специфики воспитания мужчин в российской популяции и социально-средовыми факторами, формирующими табу в отношении обсуждения сексуальной сферы. Важным также будет являться комментарий врача о том, что «пациент существенно поможет в лечебном процессе, если будет открыт и честен в ответах». Такой подход поможет ему сместить коммуникацию с интеральной направленности в экстернальный вектор взаимодействия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Антипсихотик-индуцированная гиперпролактинемия у больных шизофренией не всегда проявляется полным спектром специфических клинических симптомов, что подтверждает необходимость тщательного обследования пациентов с учетом половых различий и регулярного мониторинга уровня пролактина в сыворотке крови больных с целью своевременной коррекции данного нежелательного явления.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Шмуклер А.Б. Шизофрения. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017: 176. [Shmukler A.B. Schizophrenia. Moscow: GEOTAR-Media Publ., 2017: (in Russ.)].
2. Tandon R. Antipsychotics in the treatment of schizophrenia: an overview. *J. Clin. Psychiatry*. 2011; 72 (1): 4–8. DOI: 10.4088/JCP.10075su1.01.
3. Горобец А.Н., Узбеков М.Г. Динамика уровней пролактина, эстрадиола и тестостерона у женщин с шизоаффективным расстройством при терапии атипичными антипсихотиками. *Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова*. 2008; 71–79. [Gorobets L.N., Uzbekov M.G. Dynamics of prolactin, estradiol and testosterone levels in women with schizoaffective disorder during treatment with atypical antipsychotics. *Russian Medical and Biological Bulletin named after acad. I.P. Pavlov*. 2008; 71–79 (in Russ.)].

4. Юнилайнен О.А., Доровских И.В. Гиперпролактинемия, ассоциированная с приемом нейролептиков. *Социальная и клиническая психиатрия*. 2013; 23 (1): 100–106. [Junilainen O.A., Dorovskikh I.V. Hyperprolactinemia associated with the administration of neuroleptics. *Social and Clinical Psychiatry*. 2013; 23 (1): 100–106 (in Russ.)].
5. Буланов В.С., Горобец Л.Н., Литвинов А.В. Синдром нейролептической гиперпролактинемии у амбулаторных больных с параноидной шизофренией и его коррекция каберголином (достинексом). *Современная терапия психических расстройств*. 2016; 1: 17–23. [Bulanov V.S., Gorobets L.N., Litvinov A.V. Neuroleptic hyperprolactinemia syndrome in outpatient patients with paranoid schizophrenia and its correction with Cabergoline (Dostinex). *Modern Therapy of Mental Disorders*. 2016; 1: 17–23 (in Russ.)].
6. Янковская А.Г. Уровень пролактина у женщин с шизофренией на ранних этапах заболевания в условиях психофармакотерапии. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2017; 15 (4): 437–441. [Jankovskaja A.G. The level of prolactin in women with schizophrenia at the early stages of the disease in terms of psychopharmacotherapy. *Journal of Grodno State Medical University*. 2017; 15 (4): 437–441 (in Russ.)].
7. Горобец Л.Н., Мазо Г.Э. Гиперпролактинемия при использовании антипсихотиков второго поколения: принципы профилактики, диагностики и коррекции. *Обзор психиатрии и медицинской психологии имени В.М. Бехтерева*. 2017; (1): 63–69. [Gorobets L.N., Mazo G.E. Hyperprolactinemia during application of second-generation antipsychotics: the principles of prevention, diagnosis and correction. *V.M. Bekhterev Review of Psychiatry and Medical Psychology*. 2017; (1): 63–69 (in Russ.)].
8. Zhang Y., Tang Z., Ruan Y., Huang C., Wu J., Lu Z., Li W., Tang Y., Liu J., She J., Wang T.T., Zhu Y., Teng Z.W., Zeng Y. Prolactin and thyroid stimulating hormone (TSH) levels and sexual dysfunction in patients with schizophrenia treated with conventional antipsychotic medication: a cross-sectional study. *Med. Sci. Monit.* 2018; 24: 9136–9143. DOI: 10.12659/MSM.913759.
9. Grigg J., Worsley R., Thew C., Gurvich C., Thomas N., Kulkarni J. Antipsychotic-induced hyperprolactinemia: synthesis of world-wide guidelines and integrated recommendations for assessment, management and future research. *Psychopharmacology (Berl.)*. 2017; 234 (22): 3279–3297. DOI: 10.1007/s00213-017-4730-6.
10. Montejo A.L., Montejo L., Baldwin D.S. The impact of severe mental disorders and psychotropic medications on sexual health and its implications for clinical management. *World Psychiatry*. 2018; 17 (1): 3–11. DOI: 10.1002/wps.20509.
11. Юлес М., Холло М. Диагностика и патофизиологические основы невроэндокринных заболеваний. Будапешт, 1967: 882. [Jules M., Hollo M. Diagnosis and pathophysiological foundations of neuroendocrine diseases. Budapest, 1967: 882 (in Russ.)].
12. Дзеранова Л.К., Федорова Н.С., Воротникова С.Ю., Пигарова Е.А. Описание клинических портретов пациентов с гиперпролактинемией. Ожирение и метаболизм. 2018; 15 (3): 65–69. [Dzeranova L.K., Fedorova N.S., Vorotnikova S.Ju., Pigarova E.A. *Obesity and Metabolism*. 2018; 15 (3): 65–69 (in Russ.)]. DOI: 10.14341/OMET9866.
13. Дудинская Е.Н. Особенности клинической симптоматики, диагностики и лечения гиперпролактинемии опухолевого и неопухолевого генеза у мужчин. М., 2011: 232. [Dudinskaja E.N. Features of clinical manifestations, diagnosis and treatment of tumor and non-tumor genesis hyperprolactinemia in men. Moscow, 2011: 232 (in Russ.)].
14. Горобец Л.Н., Буланов В.С., Литвинов А.В. Особенности формирования нейроэндокринных дисфункций у больных шизофренией в амбулаторной практике (натуралистическое исследование). *Фарматека*. 2016; S4: 41–45. [Gorobets L.N., Bulanov V.S., Litvinov A.V. Features of the formation of neuroendocrine dysfunctions in patients with schizophrenia in outpatient practice (naturalistic study). *Pharmacy*. 2016; S4: 41–45 (in Russ.)].
15. Lypez-Mucoz F., Álamo C. Neurobiological background for the development of new drugs in schizophrenia. *Clinical Neuropharmacology*. 2011; 34 (3): 111–126. DOI: 10.1097/WNF.0b013e318215c2f7.
16. Lingjaerde O., Ahlfors U.G., Bech P., Dencker S.J., Elgen K. The UKU side effect rating scale. A new comprehensive rating scale for psychotropic drugs and a cross-sectional study of side effects in neuroleptic-treated patients. *Acta Psychiatr. Scand. Suppl.* 1987; 334: 1–100.
17. Визгина А.В., Пантеев С.Р. Проявление личностных особенностей в самоописаниях мужчин и женщин. *Вопросы психологии*. 2001; 3: 91–100. [Vizgina A.V., Pantileev S.R. The manifestation of personal characteristics in the self-description of men and women. *Psychology Issues*. 2001; 3: 91–100 (in Russ.)].

Вклад авторов

Корнетова Е.Г. – разработка концепции и дизайна исследования, интерпретация данных, написание статьи. Тигунцев В.В. – участие в наборе материала, обработка и анализ данных, написание статьи. Корнетов А.Н. – про-

Authors contribution

Kornetova E.G. – conception and design, interpretation of the data, drafting of the manuscript. Tiguntsev V.V. – collection of the material, analysis and interpretation of the data, drafting of the manuscript. Kornetov A.N. – critical

верка критически важного интеллектуального содержания, интерпретация данных, написание статьи. Гончарова А.А. – участие в наборе материала, обработка и анализ данных. Лобачева О.А. – участие в наборе материала, написании статьи, Давыдов А.А. – участие в написании статьи. Хардикова С.А. – сбор литературы и ее анализ, обработка данных. Иванова С.А. – анализ данных, обоснование рукописи. Семке А.В. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

revision of the manuscript for important intellectual content, interpretation of the data, drafting of the manuscript. Goncharova A.A. – collection of the material, analysis and interpretation of the data. Lobacheva O.A. – collection of the material, drafting of the manuscript. Davydov A.A. – drafting of the manuscript. Khardikova S.A. – review of literature, interpretation of the data. Ivanova S.A. – analysis of the data, justification of the manuscript. Semke A.V. – final approval of the manuscript for publication.

Сведения об авторах

Корнетова Елена Георгиевна, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, отделение эндогенных расстройств, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ; психиатр, клиники СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-5179-9727.

Тигунцев Владимир Владимирович, аспирант, лаборатория молекулярной генетики и биохимии, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-9083-0339.

Корнетов Александр Николаевич, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой фундаментальной психологии и поведенческой медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-2342-7504.

Гончарова Анастасия Александровна, аспирант, отделение эндогенных расстройств, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-5260-5245.

Лобачева Ольга Анатольевна, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория психонейроиммунологии и нейробиологии, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-7477-6296.

Давыдов Артем Александрович, ассистент, кафедра фундаментальной психологии и поведенческой медицины, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-7663-3961.

Хардикова Светлана Анатольевна, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой дерматовенерологии и косметологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-9496-1221.

Иванова Светлана Александровна, д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией молекулярной генетики и биохимии, зам. директора по научной работе, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-7078-323X.

Семке Аркадий Валентинович, д-р медицинских наук, профессор, зав. отделением эндогенных расстройств, зам. директора по научной и лечебной работе, НИИ психического здоровья, Томский НИМЦ; кафедра психиатрии, наркологии и психотерапии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-8698-0251.

(✉) **Корнетов Александр Николаевич**, e-mail: alkornetov@gmail.com.

Authors information

Kornetova Elena G., DM, Leading Researcher, Endogenous Disorders Department, Mental Health Research Institute, Tomsk NRMC; SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-5179-9727.

Tiguntsev Vladimir V., PhD Student, Mental Health Research Institute, Tomsk NRMC, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-9083-0339.

Kornetov Aleksandr N., DM, Professor, Head of the Division of Fundamental Psychology and Behavioral Medicine, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-2342-7504.

Goncharova Anastasija A., PhD Student, Endogenous Disorders Department, Mental Health Research Institute, Tomsk NRMC, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-5260-5245.

Lobacheva Olga A., DM, Leading Researcher, Laboratory of Psychoneuroimmunology and Neurobiology, Mental Health Research Institute, Tomsk NRMC, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-7477-6296.

Davydov Artjom A., Assistant, Division of Fundamental Psychology and Behavioral Medicine, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-7663-3961.

Khardikova Svetlana A., DM, Professor, Head of the Division of Dermatology, Venereology and Cosmetology, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-9496-1221.

Ivanova Svetlana A., DM, Professor, Head of the Laboratory of Molecular Genetics and Biochemistry, Deputy Director for Science, Mental Health Research Institute, Tomsk NRMC, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-7078-323X.

Semke Arkadiy V., DM, Professor, Head of the Endogenous Disorders Department, Deputy Director, Mental Health Research Institute, Tomsk NRMC, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-8698-0251.

(✉) **Kornetov Aleksandr N.**, e-mail: alkornetov@gmail.com.

Received 12.03.2019

Accepted 11.06.2019

Поступила в редакцию 12.03.2019

Подписана в печать 11.06.2019

Разработка способа получения производного октреотида для диагностики нейроэндокринных опухолей

Ларькина М.С.¹, Подрезова Е.В.², Брагина О.Д.³, Тагирова Е.А.²,
Чернов В.И.³, Юсубов М.С.², Нестеров Е.А.², Скуридин В.С.²,
Кривошеков С.В.^{1,2}, Яновская Е.А.⁴, Гурто Р.В.⁴, Белоусов М.В.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

³ Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

⁴ Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины (НИИФРМ) им. Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3

РЕЗЮМЕ

Введение. В настоящее время разработка технологии меченых аналогов соматостатина технецием-99м (^{99m}Tc) для радионуклидной диагностики нейроэндокринных опухолей активно проводится по всему миру. Аналоги соматостатина, к которым относится октреотид, связываются с ^{99m}Tc только путем предварительного присоединения к ним хелатирующего агента. Поэтому актуальным является модификация октреотида прекурсорами с высокой хелатирующей способностью для прочного связывания ^{99m}Tc. В качестве таких прекурсоров успешно могут применяться ω-бис(пиридин-2-илметил)амино)алифатические кислоты.

Цель исследования. Разработка способа получения нового производного октреотида, пригодного для диагностики нейроэндокринных опухолей.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовали октреотид – аналог соматостатина. В качестве бифункционального хелатирующего агента использовали сукцинимид-1-ил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноат, синтезированный по модифицированной методике с учетом специфики агента. Для разделения и анализа синтезированных соединений применяли методы высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии.

Результаты исследования. Предложен способ получения производного октреотида с применением хелатирующего агента сукцинимид-1-ил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноата в среде 10 ммоль PBS (pH = 6,0) с добавлением 20%-го ацетонитрила в течение 24 ч. Разработаны условия для анализа и очистки активного производного октреотида с использованием аналитической и полупрепаративной жидкостной хроматографии.

Заключение. Впервые в результате модификации октреотида по остатку D-фенилаланина создан центр хелатирования для технеция-99м на основе ω-бис(пиридин-2-илметил)амино)алифатических кислот. Производное октреотида является перспективным для дальнейшего изучения его функциональной пригодности для диагностики нейроэндокринных опухолей.

Ключевые слова: октреотид, технеций-99м, хелатирующий агент, соматостатиновые рецепторы, нейроэндокринные опухоли, ОФЭКТ.

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

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» (Государственный контракт № 14.N08.11.0166 от 14.09.2017).

Для цитирования: Ларькина М.С., Подрезова Е.В., Брагина О.Д., Тагирова Е.А., Чернов В.И., Юсубов М.С., Нестеров Е.А., Скуридин В.С., Кривошеков С.В., Яновская Е.А., Гурто Р.В., Белоусов М.В. Разработка способа получения производного октреотида для диагностики нейроэндокринных опухолей. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 72–80. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-72-80>.

УДК 616-006.48-07:577.171.7

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-72-80>

Development of a method for preparing octreotide derivative for diagnosis of neuroendocrine tumors

Larkina M.S.¹, Podrezova E.V.², Bragina O.D.³, Tagirova E.A.², Chernov V.I.³, Yusubov M.S.², Nesterov E.A.², Skuridin V.S.², Krivoshchekov S.V.^{1,2}, Yanovskaya E.A.⁴, Gurto R.V.⁴, Belousov M.V.¹

¹ Siberian State Medical University (SSMU)

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² National Research Tomsk Polytechnic University (NR TPU)

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

³ Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Science

5, Kooperativnyi Str., Tomsk, 634009, Russian Federation

⁴ Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine (GRIPhRM), Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Science

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

ABSTRACT

Currently the development of technologies for labeling somatostatin with technetium-99m for diagnosing radionuclide neuroendocrine tumors is under way. Somatostatin analogues are binded with technetium-99m only by the preliminary addition of a chelating agent. Therefore, it is important to develop a method for preparation of an octreotide derivative by modifying octreotide with precursors: ligands with high chelating ability for its tight binding with technetium-99m. ω-Bis(pyridin-2-ylmethyl)amino)aliphatic acids can be used successfully as such precursors.

The purpose of the study was to develop a method for obtaining a new octreotide derivative for diagnosing neuroendocrine tumors.

Materials and methods. The somatostatin octreotide analogue was used as the object of the study; succinimid-1-yl 6-(bis(pyridin-2-ylmethyl)amino)hexanoate was used as a chelating agent. Methods of high performance liquid chromatography and mass spectrometry were used to separate and analyze the synthesized compounds.

Results. A method to produce an original octreotide derivative using a succinimid-1-yl 6-(bis(pyridin-2-ylmethyl)amino)hexanoate as a chelating agent was proposed. The conditions of analytical and semi-preparative HPLC for the analysis and purification of the active octreotide derivative (a monosubstituted derivative of the amino acid residue of D-phenylalanine) were suggested.

Conclusion. The synthesized derivative of octreotide has a chelating center for strong binding to technetium-99m in its structure, which can be useful for diagnosing neuroendocrine tumors.

Key words: octreotide, technetium-99m, chelating agent, somatostatin receptors, neuroendocrine tumors, SPECT.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was supported by the federal target program "Development of the pharmaceutical and medical industries in the Russian Federation up to 2020 and further" (State contract No. 14.N08.11.0166 of 14.09.2017).

For citation: Larkina M.S., Podrezova E.V., Bragina O.D., Tagirova E.A., Chernov V.I., Yusev M.S., Nesterov E.A., Skuridin V.S., Krivoshechekov S.V., Yanovskaya E.A., Gurto R.V., Belousov M.V. Development of a method for preparing octreotide derivative for diagnosis of neuroendocrine tumors. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 72–80. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-72-80>.

ВВЕДЕНИЕ

Нейроэндокринные опухоли (НЭО) – группа новообразований, происходящих из клеток нейроэндокринной системы, способных продуцировать пептидные гормоны и биогенные амины [1]. Нейроэндокринные опухоли относятся к числу редко встречающихся онкологических заболеваний: статистические показатели заболеваемости составляют 2–3 человека на 100 тыс. населения. Однако специалисты указывают на то, что при аутопсии НЭО обнаруживаются у 10 человек на 100 тыс. населения, что свидетельствует о низком уровне прижизненной диагностики [2]. Следует отметить, что у более 70% пациентов с НЭО тонкой кишки и у 30–80% – поджелудочной железы диагноз ставится уже на стадии метастатического поражения печени [3].

Диагноз НЭО обычно ставится на основании клинической симптоматики, данных гистологического и иммуногистохимического исследований с оценкой гормональной экспрессии. К сожалению, использование традиционных диагностических методов не всегда в полной мере позволяет оценить распространенность опухолевого процесса, что обуславливает необходимость создания новых диагностических агентов. В последние годы активно развиваются радиоизотопные методы для выявления специфических опухолевых мишеней с применением радиоизотопов [4–7].

В настоящее время в качестве перспективных адресных молекул в онкологии изучаются низкомолекулярные пептиды, имеющие сродство с рецепторами опухолевых клеток. Одними из наиболее изученных и часто упоминаемых в литературе являются синтетические пептиды, производные

соматостатина, применяемые для диагностики и лечения НЭО [8]. Молекулярными предпосылками для разработки и клинического применения, направленными на соматостатиновые рецепторыsstr препаратов на основе меченных радиоизотопами производных соматостатина, является высокий уровень экспрессии этих рецепторов на поверхности опухолевой клетки [9].

Метод визуализацииsstr-позитивных опухолей человека впервые был применен с использованием соматостатинового аналога [^{123}I -Tyr³]октреотида, имеющего избыточное накопление в печени, желчном пузыре, желчных протоках и т.п. Наиболее распространенным соматостатиновым аналогом, использующимся для скинтиграфии в настоящее время, является ^{111}In -пентетреотид (^{111}In -DTPA-D-Phe-октреотид, Octreoscan, Mallinckrodt Int., Великобритания), являющийся золотым стандартом для выявления соматостатиновых рецепторов (sstr2, sstr3, sstr5) на поверхности опухолевых клеток основного опухолевого узла и метастатических очагов. В России применяется только ^{111}In -октреотид (АО «Фарм-синтез»), являющийся аналогом ^{111}In -пентетреотид. Однако, входящий в их состав радионуклид индий-111 (^{111}In) имеет очень высокую стоимость и длительный период полураспада (67 ч), что ограничивает применение препарата для рутинной диагностики НЭО [10, 11].

Кроме того, за рубежом зарегистрированы и активно разрабатываются различные радиофармпрепараты (РФП) на основе аналогов соматостатина для однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ), позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) и радионуклидной терапии (таблица) [12–17].

Таблица
Table

Характеристика радиофармпрепаратов на основе аналогов соматостатина для радионуклидной диагностики и терапии нейроэндокринной опухоли			
Characteristics of radiopharmaceuticals based on somatostatin analogues for radionuclide diagnosis and treatment of neuroendocrine tumors			
Радиофармпрепарат Radiopharmaceutical	Радионуклид Radionuclide	Период полураспада / тип распада Half-life period / type of decay	Область применения Area of application
¹⁸ F-FP-Gluc-TOCA Cel-S-Dpr([¹⁸ F]FBOA)TOCA	¹⁸ F	109.8 min / β^+ (97%)	Позитронно-эмиссионная томография Positron-emission tomography
⁶⁸ Ga-DOTATATE ⁶⁸ Ga-DOTATOC ⁶⁸ Ga-DOTANOC	⁶⁸ Ga	67.6 min / β^+ (89%), EC (17%)	
⁶⁴ Cu-DOTATATE	⁶⁴ Cu	1.7 hours / β^+ (18%), β^- (37%), EC (24%)	
⁸⁶ Y-DOTATOC	⁸⁶ Y	14.7 hours / β^+ (33%) EC (67%)	
¹¹¹ In-pentetreotide ¹¹¹ In-DTPAOC ¹¹¹ In-octreotide ¹¹¹ In-DOTA-NOC-ATE ¹¹¹ In-DOTA-BOC-ATE ¹¹¹ In-DOTA-lanreotide	¹²³ I ¹¹¹ In	13.27 hours / EC 100% 2.8 days / EC 100%	Однофотонная эмиссионная компьютерная томография ¹²³ I-октреотид SPECT ¹²³ I-octreotide
^{99m} Tc-depreotide ^{99m} Tc-octreotide	^{99m} Tc	6.01 hours / IT* (99.99%) β^- (0.004%)	
⁹⁰ Y-DOTATOC	⁹⁰ Y	64 hours / β^- (100%)	Терапия Therapy
¹⁷⁷ Lu-DOTATOC ¹⁷⁷ Lu-DOTATATE	¹⁷⁷ Lu	6.7 days / β^- (100%)	

Примечание. EC – электронный захват; IT – изомерный переход.
Note. EC – electron capture; IT – isomeric transition.

Следует отметить, что радиоизотоп ^{99m}Tc, получаемый непосредственно в клиниках из генератора ⁹⁹Mo/^{99m}Tc, является наиболее приемлемым по цене и идеальным по физико-химическим характеристикам (период полураспада 6 ч, γ -излучение, энергия 140 кэВ) для создания РФП на основе аналогов соматостатина. В настоящее время исследования по разработке технологии меченя аналогов соматостатина технецием-99м активно проводятся по всему миру [17].

Ввиду своей недостаточной реакционной способности аналоги соматостатина, в частности производные октреотида, связывают с технецием-99м только путем предварительного присоединения к нему хелатирующего агента. За рубежом для этого применяют в основном коммерчески недоступный бифункциональный хелатор HYNIC (6-гидразиноникотинамид), неспособный самостоятельно к комплексообразованию без со-лигандов (EDDA (этилендиаминдиуксусная кислота) и трицин в различных модификациях) [18].

Поэтому актуальным является разработка метода получения производных октреотида по-

средством модификации прекурсорами – лигандами с высокой хелатирующей способностью для прочного связывания технецием-99м. Для решение этой задачи успешно могут применяться ω -бис(пиридин-2-илметил)амино)алифатические кислоты [19, 20].

Цель настоящего исследования – создание центра хелатирования путем модификации октреотида с использованием в качестве хелатирующего агента ω -бис(пиридин-2-илметил)амино)алифатических кислот.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовали фармацевтическую субстанцию «Октреотид» (АО «Фарм-синтез»), в качестве бифункционального хелатирующего агента – сукцинимид-1-ил 6-(бис(пиридин-2-илметил)амино)гексаноат (DPAH-NHS), синтезированный по разработанной методики на кафедре технологии органических веществ и полимерных материалов НИ ТПУ.

Для исследования, синтеза хелатирующего агента и производного октреотида использовали

субстраты, реагенты и органические растворители, являющиеся товарными продуктами фирм Aldrich (США), Fluka (США) и других соответствующей чистоты.

Методика получения производного октреотида (ДРАН-Октреотид). $1,96 \cdot 10^{-3}$ ммоль (2 мг) октреотида растворяли в 1 мл 10 ммоль PBS (pH = 6,0), добавляли $9,8 \cdot 10^{-3}$ ммоль ДРАН-NHS (2 мг) в 1 мл 10 ммоль PBS (pH = 6,0), содержащем 20% ацетонитрила, перемешивали 24 ч при температуре 4–6 °С. Контроль за ходом реакции осуществляли с помощью жидкостной хроматографии в подкисленной трифторуксусной кислоте (TFA) в среде ($t_R = 14,09$ мин, система Ultimate 3000 (Thermo, Германия), колонка Luna C18(2) 5 мкм, 100 Å, 250 × 4,6 мм, градиент концентрации: 0 мин 100% А (0% В), 5 мин 80% А (20% В), 10 мин 65% А (35% В), 15 мин 50% А (50% В), 25 мин 20% А (80% В), 30 мин 0% А (100% В), 32 мин 95% А (5% В), где система А – 0,1% TFA в воде и система В – 0,1% TFA в ацетонитриле, скорость потока 1 мл/мин). Очистку продукта проводили полупрепаративным методом (система Ultimate 3000 (Dione, Германия), колонка Luna C18(2) 10 мкм, 100 Å, 250 × 10 мм, градиент концентрации 0 мин 100% А (0% В), 5 мин 80% А (20% В), 10 мин 65% А (35% В), 15 мин 50% А (50% В), 25 мин 20% А (80% В), 30 мин 0% А (100% В), 32 мин 95% А (5% В), где система А – 0,1% TFA в воде и система В – 0,1% TFA в ацетонитриле, скорость потока 5 мл/мин). Фракции, соответствующие целевому продукту ($t_R = 13,09$ мин), объединяли и лиофилизировали. Расчет выходов всех продуктов реакции проводили методом нормирования.

Идентификацию выделенных соединений проводили по масс-спектрам, которые регистрировали, используя высокоэффективный жидкостный хроматограф LC-20 Prominence (Shimadzu) с тандемным масс-спектрометром QTrap 3200 (AB Sciex), снабженный источником ионов для ионизации электрораспылением. Для разделения использовали колонку аналитическую Macherey-Nagel Nucleodur C18 Gravity (50 мм × 2 мм, 3 мкм) с предколоночным картриджем, термостатируемую при 40 °С. Объем вводимой пробы 1 мкл. В качестве подвижной фазы использовали: элюент А – 0,1%-й водный раствор муравьиной кислоты, элюент В – ацетонитрил. Элюирование проводили 50%-м раствором элюента В в течение 5 мин. Затем проводили промывание системы в градиентном режиме: 5,5–6 мин 50–100% В; 6–7 мин 100% В; 7–8 мин 50% В. Скорость потока элюента 0,2 мл/мин. Для регистрации октреотида и его производных в режиме положительных

ионов (M+H)⁺ использовали параметры источника ионов: напряжение на капилляре 2,8 кВ, потенциал декластеризации 20 В, входной потенциал – 9 В. В качестве осушающего газа в источнике использовали азот с температурой 300 °С. Для качественной оценки осуществляли полное сканирование ионов с использованием первого квадрупольа (Q_1) в диапазоне m/z от 100 до 1 700. Оптимальное время сканирования составило 0,5 с.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В структуре октреотида, представляющего собой циклический октапептид, можно выделить только две свободные аминокислоты (два N-конца), по которым возможна модификация с образованием амидной связи с ДРАН-NHS. Это аминокислоты в остатках аминокислот D-фенилаланина и L-лизина. При этом аминокислота в L-лизине имеет минимальное стерическое препятствие и более доступна для образования амидной связи. Следовательно, ацилирование в наших исследованиях проходило предпочтительно по остатку L-лизина. При действии активированного хелатора была получена смесь трех соединений: двух структурных изомеров, различающихся местом образования амидной связи (целевой продукт ДРАН-Октреотид и продукт 2), и продукта 3, содержащего два хелатирующих центра с амидными связями, образованными по двум N-концам одновременно.

Учитывая тот факт, что фармакофорический фрагмент октреотида представлен аминокислотной последовательностью Phe-D-Trp-Lys-Thr, дериватизация в этой части разрушит высокое сродство октреотида к соматостатиновым рецепторам (рис. 1).

Поэтому основными труднорешаемыми проблемами в химической модификации октреотида и других аналогов соматостатина являются повышение избирательности модификации и разделение продуктов синтеза для получения высокоочищенного производного октреотида, обладающего сродством к соматостатиновым рецепторам.

Для повышения избирательности в синтезе было изучено влияние параметров реакции на выходы целевого и нецелевых продуктов химической модификации октреотида (ДРАН-Октреотид, продукт 2 и продукт 3).

Изучение влияния растворителей и pH среды на селективность реакции

Учитывая липофильность ДРАН-NHS, проводить синтез в воде крайне затруднительно, несмотря на гидрофильные свойства октреотида.

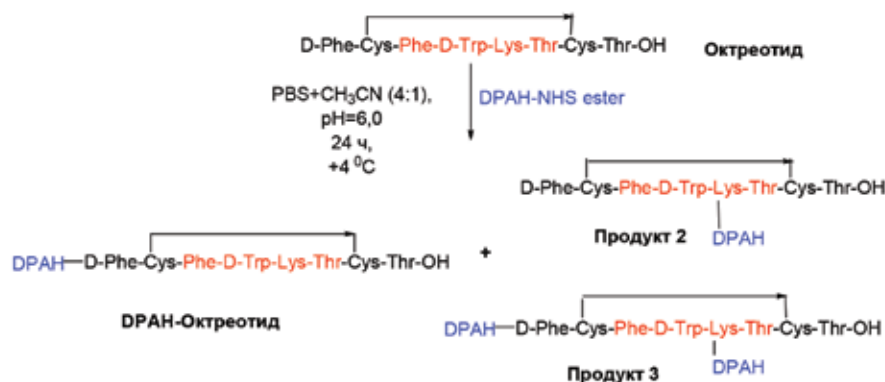


Рис. 1. Схема способа получения производных октреотида (DPAH-Октреотид)

Fig. 1. Scheme of producing octreotide derivatives (DPAH-Octreotide)

Для повышения растворимости DPAH-NHS использовали смесь воды и ацетонитрила. Учитывая влияние pH среды на протекание реакции, более подходящим растворителем вместо воды явился фосфатно-буферный раствор (PBS), подающийся лучшей корректировке и поддержанию необходимого значения pH реакционной среды. Для того чтобы избежать нежелательного влияния солей буфера, использовали буфер низкой молярности (10 ммоль).

Экспериментально установлено, что увеличение содержания ацетонитрила приводит к повышению выхода продукта 3, поэтому оптимальным является добавление ацетонитрила (до 20% по объему) к раствору PBS, такое количество является достаточным для растворения DPAH-NHS. Также стоит отметить существенное увеличение выхода продукта 3 при использовании в качестве растворителей чистого ацетонитрила, диметилформамида или диметилсульфоксида, являющихся основными растворителями в модификациях аналогов соматостатина.

Повышение pH буферной смеси (более 7) приводит к резкому возрастанию выхода продукта 3 (более 80%). Уменьшение же ($\text{pH} < 6,5$) приводит к снижению скорости реакции образования амидных связей, при этом наблюдается изменение соотношения продуктов реакции в сторону существенного увеличения образования целевого продукта (выход более 20%) и продукта 2 (выход более 60%), являющихся монозамещенными производными октреотида. Снижение pH до 5 приводит к резкому сокращению выхода продуктов реакции модификации, что связано с гидролизом и, следовательно, инактивацией DPAH-NHS в этих условиях. Учитывая вышеизложенное, на данном этапе в качестве среды для синтеза обосновано использование смеси 10 ммоль PBS ($\text{pH} = 6,0$) – ацетонитрила (4 : 1).

Изучение влияния времени проведения реакции на селективность и выход готового продукта

Отбор пробы для анализа проводили каждые 10 мин в течение первого часа, затем каждый час, до 30 ч после начала синтеза. При этом отмечено, что максимальный выход продуктов реакции достигается при проведении синтеза в течение 24 ч, дальнейшее увеличение времени не приводит к изменению выхода продуктов.

Изучение влияния температурного режима на селективность реакции

Использовали температурные режимы: 4–6 °C, 20, 25 и 30 °C. Установлено, что применение температуры 20 °C и выше приводит к возрастанию скорости реакции и увеличению выхода продукта 3 и, соответственно, уменьшению выхода монозамещенных производных октреотида, что является нежелательным. Проведение синтеза при 4–6 °C влияет на замедление скорости реакции, и соотношение продуктов синтеза резко изменяется: уменьшается выход дизамещенного производного и, соответственно, возрастает выход монозамещенных производных октреотида. Поэтому оптимальным является проведение синтеза при пониженной температуре (4–6 °C).

Изучение влияния соотношения субстрата и реагента на селективность реакции

Для оптимизации данного параметра использовали соотношения (моль) октреотида и DPAH-NHS 1 : 1, 1 : 2, 1 : 3, 1 : 4, 1 : 5, 1 : 7 соответственно. Как правило, при модификации биомолекул используют мольный избыток хелатирующего агента, при этом достигается максимальная доля прореагировавшего октреотида. При соотношении 1 : 7 непрореагировавшего октреотида остается не более 1%, но при этом резко возрастает выход дизамещенного производного октреотида (свыше 90%). Основное количество октреотида расходуется на дизамещенный продукт,

и выходы монозамещенных продуктов несущественны. Соотношения 1 : 5, 1 : 4 и 1 : 3 октреотида и ДРАН-NHS характеризуются снижением выхода продукта 3 и увеличением выхода целевого продукта и продукта 2. Оптимальным является соотношение 1 : 2 октреотида и ДРАН-NHS, при этом доля прореагировавшего октреотида – более 90%, соотношение целевого продукта, продукта 2 и продукта 3 составляет 1 : 3 : 0,5 соответственно. Значительное уменьшение выхода продукта 3 при этом соотношении приводит к тому, что большая часть октреотида расходуется на образование монозамещенных производных.

Следовательно, экспериментальным путем были подобраны следующие оптимальные условия для модификации октреотида:

- мольное соотношение октреотида и ДРАН-NHS 1 : 2;
- температурный режим 4–6 °C;
- время реакции – 24 ч;
- растворители: смесь 10 ммоль PBS (pH = 6,0) – ацетонитрил в соотношении 4 : 1.

Учитывая, что при модификации октреотида образуется смесь продуктов со схожим строением и физико-химическими свойствами, для разделения производных октреотида и очистки целевого продукта был предложен метод полупрепаративной хроматографии в условиях, достигающих эффективного разделения. В качестве системы для разделения был выбран градиентный режим с использованием 0,1% TFA и 0,1% TFA/ацетонитрила. Следует отметить, что разделение монозамещенных производных октреотида проводили, учитывая различия в константах pK_a D-фенилаланина (pK_a 7,8) и L-лизина (pK_a 10,1) в подвижной фазе, содержащей 0,1% трифторуксусной кислоты. Производные октреотида в этих условиях по-разному протонированы, более протонированным является продукт – производное октреотида по остатку L-лизина, поэтому монозамещенный продукт октреотида по остатку D-фенилаланина будет иметь время удерживания меньше (t_R = 13,093 мин), чем монозамещенный продукт октреотида по остатку L-лизина (t_R = 13,507 мин). Время удерживания продукта 3 составило t_R = 14,167 мин. Каждый продукт после разделения был охарактеризован методом аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и ВЭЖХ/МС (ионизация электрораспылением).

Целевой продукт и другие производные октреотида были получены по данным анализа с чистотой более 99% (рис. 2). Масс-спектры ДРАН-Октреотида и продукта 2 имеют молекулярный ион

1314,1 m/z, что соответствует монозамещенным производным октреотида. Масс-спектр продукта 3 имеет молекулярный ион 1610,7 m/z, что соответствует дизамещенному производному октреотида.

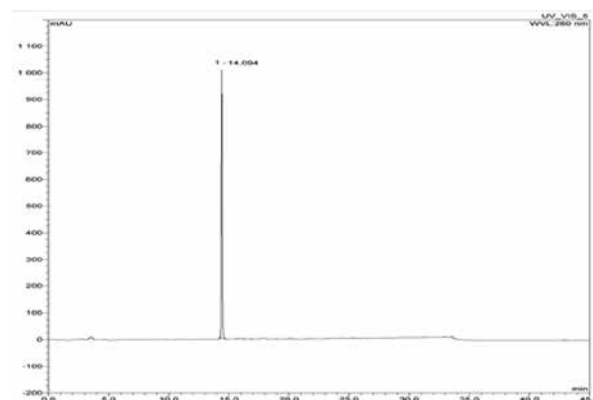


Рис. 2. Репрезентативная высокоэффективная жидкостная хроматограмма ДРАН-Октреотида (t_R = 14,09 мин, чистота более 99%)

Fig. 2. Representative high performance liquid chromatography of DРАН-Octreotide (t_R = 14.09 min, purity more than 99%)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, впервые разработан способ получения производного октреотида с применением хелатирующего агента ДРАН-NHS в среде 10 ммоль PBS (pH = 6,0) – ацетонитрил в соотношении 4 : 1. Предложены условия аналитической и полупрепаративной хроматографии для анализа и очистки активного производного октреотида, которым является монозамещенное производное октреотида по остатку аминокислоты D-фенилаланина. ДРАН-Октреотид имеет в своей структуре хелатный центр для особо прочного связывания технеция-99м, что делает перспективным дальнейшее изучение его функциональной пригодности для диагностики нейроэндокринных опухолей.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Sundin A., Rockall A. Therapeutic monitoring of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors: the challenges ahead. *Neuroendocrinology*. 2012; 96 (4): 261–271. DOI: 10.1159/000342270.
2. Oberg K.E., Reubi J.C., Kwekkeboom D.J. et al. Role of somatostatins in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumor development and therapy. *Gastroenterology*. 2010; 139 (3): 742–753. DOI: 10.1053/j.gastro.2010.07.002.
3. Eads J.R., Meropol N.J. A New Era for the Systemic Therapy of Neuroendocrine Tumors. *The Oncologist*. 2012; 17 (3): 326–338. DOI: 10.1634/theoncologist.2011-0356.

4. Strosberg J.R., Fine R.L., Choi J. et al. First-line chemotherapy with capecitabine and temozolomide in patients with metastatic pancreatic endocrine carcinomas. *Cancer*. 2011; 117: 268–275. DOI: 10.1002/cncr.25425.
5. 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. [Chernov V.I., Bragina O.D., Sinilkin I.G. et al. Radioimmunotherapy: current state of the problem. *Vestnik Rentgenologii and Radiologii*. 2016; 62 (1): 24–30 (in Russ.)].
6. 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. [Chernov V.I., Bragina O.D., Sinilkin I.G. et al. Radioimmunotherapy in the treatment of malignancies. *Questions of Oncology*. 2016; 15 (2): 101–106 (in Russ.)].
7. 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. [Chernov V.I., Bragina O.D., Sinilkin I.G. et al. Radioimmunotherapy in treatment of malignancies. *Siber. J. Oncol.* 2016; 97 (5): 306–313 (in Russ.)].
8. Kwekkeboom D.J., Boen L.K., Martijn E. et al. Somatostatin receptor-based imaging and therapy of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Endocr. Relat. Cancer*. 2010; 17 (1): R53–73. DOI: 10.1677/ERC-09-0078.
10. Kulke M.H., Siu L.L., Tepper J.E. et al. Future directions in the treatment of neuroendocrine tumors: consensus report of the National Cancer Institute Neuroendocrine Tumor clinical trials planning meeting. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29 (7): 934–943. DOI: 10.1200/JCO.2010.33.2056.
11. Mikołajczak R., Maecke H.R. Radiopharmaceuticals for somatostatin receptor imaging. *Nuclear Medicine Review*. 2016; 19 (2): 126–132. DOI: 10.5603/NMR.2016.0024.
12. Krenning E.P., Kwekkeboom D.J., Bakker W.H. et al. Somatostatin receptor scintigraphy with [¹¹¹In]DT-PA-D-Phe and [¹²³I-tyr]-octreotide: the Rotterdam experience with more than 1000 patients. *Eur. J. Nucl. Med.* 1993; 20 (8): 716–731.
13. Kunikowska J., Krrolicki L., Hubalewska-Dydejczyk A., Mikołajczak R. et al. Clinical results of radionuclide therapy of neuroendocrine tumours with ⁹⁰Y-DOTATATE and tandem ⁹⁰Y/¹⁷⁷Lu-DOTATATE: which is a better therapy option? *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. 2011; 38 (10): 1788–1797. DOI: 10.1007/s00259-011-1833-x.
14. Kwekkeboom D.J., De Herder W.W., Kam B.L. et al. Treatment with the radiolabeled somatostatin analog [¹⁷⁷Lu-DOTA0, Tyr3]octreotate: toxicity, efficacy, and survival. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26 (13): 2124–2130. DOI: 10.1200/JCO.2007.15.2553.
15. Makris G., Radford L., Gallazzi F. et al. Synthesis and evaluation of fac-[^{99m}Tc/Re(CO)3] complexes with a new (N,S,N) bifunctional chelating agent: The first example of a fac-[Re(CO)3(N,S,N-sst2-ANT)] complex bearing a somatostatin receptor antagonist peptide. *Journal of Organometallic Chemistry*. 2016; 805: 100–107. DOI: 10.1016/j.jorgchem.2016.01.005.
16. Zhao R., Wang J. et al. Efficacy of ^{99m}Tc-EDDA/HYNIC-TOC SPECT/CT scintigraphy in Graves' ophthalmopathy. *Am. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. 2012; 2 (2): 242–247.
17. Wild D., Macke H.R., Waser B. et al. ⁶⁸Ga-DOTANOC: a first compound for PET imaging with high affinity for somatostatin receptor subtypes 2 and 5. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. 2005; 32 (6): 724. DOI: 10.1007/s00259-004-1697-4.
18. Чернов В.И., Брагина О.Д., Зельчан Р.В. и др. Меченые аналоги соматостатина в тераностике нейроэндокринных опухолей. *Медицинская радиология и радиационная безопасность*. 2017; 3: 42–49. [Chernov V.I., Bragina O.D., Zelchan R.V. et al. Labeled somatostatin analogues in theranostics of neuroendocrine tumors. *Medical Radiology and Radiation Safety*. 2017; 3: 42–49 (in Russ.)].
19. Behera A., De K., Chandra S. Synthesis, radiolabelling and biodistribution of HYNIC-Tyr3octreotide: a somatostatin receptor positive tumour imaging agent. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2011; 290: 123–129. DOI: 10.1007/s10967-011-1156-1.
20. Skuridin V., Stasyuk E., Bragina O., Yusubov M., Chernov V., Larkina M., Zelchan R., Rogov A., Sinilkin I., Larionova L. Development of radiopharmaceutical based on mini-antibody for early cancer detection. Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine. Spain, Barcelona, October 15–19, 2016; 43: 465.
21. Sundararajan C., Besanger T.R., Labiris R. et al. Synthesis and characterization of rhenium and technetium-^{99m} labeled insulin. *J. Med. Chem.* 2010; 53 (6): 2612–2621. DOI: 10.1021/jm100096c.

Вклад авторов

Ларькина М.С., Подрезова Е.В., Кривошеков С.В., Брагина О.Д., Тагирова Е.А. – проведение практической части исследования, разработка концепции, дизайна, анализ и интерпретация данных. Чернов В.И., Юсубов М.С., Нестеров Е.А., Скуридин В.С., Белоусов М.В. – разработка концепции, дизайна, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение

Authors contribution

Larkina M.S., Podrezova E.V., Krivoshechekov S.V., Bragina O.D., Tagirova E.A. – carrying out of the practical part of the research, conception and design, analysis and interpretation of the data. Chernov V.I., Yusubov M.S., Nesterov E.A., Skuridin V.S., Belousov M.V. – conception and design, critical revision of the manuscript for important intellectual content, final approval of the manuscript for

дение для публикации рукописи. Яновская Е.А., Гурто Р.В. – проведение практической части исследования (хромато-масс-спектрометрия).

publication. Yanovskaya E.A., Gurto R.V. – carrying out of the practical part of the research (chromatography-mass spectrometry).

Сведения об авторах

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

Подрезова Екатерина Владимировна, аспирант, кафедры технологии органических веществ и полимерных материалов, НИ ТПУ, г. Томск.

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

Тагирова Екатерина Алексеевна, канд. техн. наук, инженер лаборатории № 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, г. Томск.

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

Нестеров Евгений Александрович, канд. техн. наук, науч. сотрудник, лаборатория № 31, НИ ТПУ, г. Томск.

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

Кривошеков Сергей Владимирович, мл. науч. сотрудник, Центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ; инженер, кафедра технологии органических веществ и полимерных материалов, НИ ТПУ, г. Томск.

Яновская Елена Анатольевна, канд. биол. наук, мл. науч. сотрудник, НИИФирМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск.

Гурто Роман Владимирович, канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник, НИИФирМ им. Е.Д. Гольдберга, Томский НИМЦ, г. Томск.

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

(✉) **Ларькина Мария Сергеевна**, e-mail: marialarkina@mail.ru.

Authors information

Larkina Mariia S., PhD, Associate Professor, Pharmaceutical Analysis Division, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Podrezova Ekaterina V., Post-Graduate Student, Division of Technology of Organic Substances and Polymer Materials, NR TPU, Tomsk, Russian Federation.

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

Tagirova Ekaterina A., PhD, Engineer, Laboratory No. 31, NR TPU, Tomsk, Russian Federation.

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

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

Nesterov Evgeny A., PhD, Researcher, Laboratory No. 31, NR TPU, Tomsk, Russian Federation.

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

Krivoshchekov Sergey V., Junior Researcher, Central Research Laboratory, SSMU; Engineer; Division of Technology of Organic Substances and Polymer Materials, NR TPU, Tomsk, Russian Federation.

Yanovskaya Elena A., PhD, Junior Researcher, GRIPhRM, Tomsk NRMC, Tomsk, Russian Federation.

Gurto Roman V., PhD, Leading Researcher, GRIPhRM, Tomsk NRMC, RAS, Tomsk, Russian Federation.

Belousov Mikhail V., DPhSc, Professor, Head of the Division of Pharmaceutical Analysis, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

(✉) **Larkina Mariia S.**, e-mail: marialarkina@mail.ru.

Received 15.11.2017

Accepted 11.06.2019

Поступила в редакцию 15.11.2017

Подписана в печать 11.06.2019

Уровень проадреномедулина при хронической сердечной недостаточности ишемического генеза: ассоциации с клиническими проявлениями

Мясоедова Е.И.

*Астраханский государственный медицинский университет
Россия, 414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, 121*

РЕЗЮМЕ

Цель исследования – выявить и оценить взаимосвязи уровня проадреномедулина с клинико-анамнестическими данными пациентов с хронической сердечной недостаточностью ишемического генеза.

Материалы и методы. Обследованы 240 мужчин с хроническими формами ишемической болезни сердца (средний возраст – 55,9 [43; 63] года) и перенесенным в прошлом Q-образующим инфарктом миокарда. Из них 110 пациентов с хронической сердечной недостаточностью и сохраненной фракцией выброса левого желудочка (группа 1) и 130 человек с хронической сердечной недостаточностью и дилатацией с низкой фракцией выброса левого желудочка (группа 2). Всем пациентам производилось определение в сыворотке крови уровня MR-proADM.

Результаты. В группе контроля уровень MR-proADM составил 0,49 [0,18; 0,58] нмоль/л. При этом в исследуемых группах пациентов он был статистически значимо выше, чем в группе контроля ($p < 0,001$ и $p < 0,001$ соответственно). А в группе пациентов с хронической сердечной недостаточностью и дилатацией с низкой фракцией выброса левого желудочка он статистически значимо превышал показатели в группе больных с хронической сердечной недостаточностью и сохраненной фракцией выброса левого желудочка (1,72 [1,56; 1,98] нмоль/л и 0,89 [0,51; 1,35] нмоль/л соответственно, $p < 0,038$). Исследование продемонстрировало наличие статистически значимых связей уровня MR-proADM со степенью тяжести хронической сердечной недостаточности и стенокардии напряжения, наличием постоянной формы фибрилляции предсердий и уровнями систолического и диастолического артериального давления.

Заключение. MR-proADM является новым перспективным маркером, который можно использовать в качестве диагностического стандарта и для оценки эффективности лечения пациентов кардиологического профиля.

Ключевые слова: проадреномедулин, хронические формы ишемической болезни сердца, хроническая сердечная недостаточность, клинические проявления болезни.

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. Все пациенты получили полную информацию об исследовании и дали осознанное письменное согласие на добровольное участие в нем. Исследования одобрено региональным независимым этическим комитетом Астраханской государственной медицинской академией (протокол № 11 от 6.11.2014).

Для цитирования: Мясоедова Е.И. Уровень проадреномедулина при хронической сердечной недостаточности ишемического генеза: ассоциации с клиническими проявлениями. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 81–89. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-81-89>.

УДК 616.12-008.46-036.1-02-005.4:57.083.3'175.343

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-81-89>

Level of aurathrenomedullin in chronic heart failure of ischemic genesis: associations with clinical manifestations

Myasoedova E.I.

Astrakhan State Medical University

121, Bakinskaya Str., Astrakhan, 414000, Russian Federation

ABSTRACT

Objective. To identify and evaluate the relationship between the level of proadrenomedullin and clinical and anamnestic data of patients with chronic heart failure of ischemic genesis.

Materials and methods. 240 men with chronic forms of coronary heart disease (mean age 55.9 [43; 63] years) and past Q-forming myocardial infarction were examined. Of these, 110 patients had chronic heart failure and preserved left ventricular ejection fraction (group 1) and 130 patients had chronic heart failure and dilatation with a low left ventricular ejection fraction (group 2). In all patients the MR-proADM level in the blood serum was determined.

Results. In the control group, the level of MR-proADM was 0.49 [0.18; 0.58] nmol/l. In the meantime, it was statistically significantly higher in the studied groups of patients than in the control group ($p < 0.001$ and $p < 0.001$, respectively). And in the group of patients with chronic heart failure and dilatation with a low left ventricular ejection fraction, it was statistically significantly higher than in the group of patients with chronic heart failure and preserved left ventricular ejection fraction (1.72 [1.56; 1.98] nmol/l and 0.89 [0.51; 1.35] nmol/l, respectively, $p < 0.038$). The study demonstrated the presence of statistically significant associations between the level of MR-proADM and the severity of chronic heart failure and exertional angina pectoris as well as between the presence of a constant form of atrial fibrillation and the levels of systolic and diastolic blood pressure.

Conclusion. MR-proADM is a new promising marker, which will be possible to use as a diagnostic standard for assessing the effectiveness of treatment of cardiac patients.

Key words: proadrenomedullin; chronic forms of coronary heart disease; chronic heart failure, clinical manifestations of the disease.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at Astrakhan State Medical University (Protocol No. 11 of 6.11.2014).

For citation: Myasoedova E.I. Level of aurathrenomedullin in chronic heart failure of ischemic genesis: associations with clinical manifestations. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 81–89. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-81-89>.

ВВЕДЕНИЕ

Во всем мире сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) остаются главной причиной инвалидизации и смерти населения, при этом в значи-

тельной степени это обусловлено ишемической болезнью сердца (ИБС). Кроме этого, ИБС является самой частой этиологической причиной развития хронической сердечной недостаточности

(ХСН) [1, 2]. Указанные обстоятельства определяют необходимость улучшения лечебно-профилактических мероприятий ИБС, в основе которых лежит уточнение механизмов развития и прогрессирования заболевания и совершенствование методов его диагностики.

На сегодняшний день известно, что в сложные этиопатогенетические механизмы ИБС вовлекаются нейрогуморальные системы, нарушение которых наблюдается уже на ранних стадиях заболевания, предшествуя структурным изменениям органов мишеней, а также сопряжено с прогрессированием заболевания и исходом [3, 4]. Многие из нейрогуморальных факторов в настоящее время рассматриваются в качестве биомаркеров – лабораторных показателей, которые могут быть объективно измерены и являются индикаторами биологических процессов в норме и при патологии, а также при мониторинге лечебно-профилактических мероприятий [5–7].

Последние десятилетия ознаменовались лавинообразным количеством исследований в этом направлении. Это, с одной стороны, можно объяснить желанием найти «идеальный маркер», а с другой – научно-техническим прогрессом, который позволил создать лабораторные тест-системы, отличающиеся высокой чувствительностью, точностью и специфичностью. Биохимических маркеров ИБС условно, в соответствии с патогенезом, можно поделить на следующие группы: маркеры дислипидемии и модификации липопротеидов, маркеры тромбообразования и фибринолиза, противовоспалительные маркеры, маркеры ишемии и некроза миокарда, маркеры дисфункции миокарда, маркеры ремоделирования сердечной мышцы, маркеры нестабильности и повреждения атеросклеротической бляшки [8]. В настоящее время поиски высокоинформативных маркеров продолжаются. Так, в последние годы в зарубежной литературе производится и обсуждается оценка роли аденомедуллина (АМ) и его предшественника MR-proADM в диагностике ССЗ [9]. Его впервые выделили в 1993 г. в Японии К. Kitamura и соавт. из мозгового вещества надпочечников у пациентов с феохромоцитомой [10]. Установлено, что синтез и секреция АМ происходят эндотелиальными и гладкомышечными клетками сосудов, кардиомиоцитами, эпителиоцитами слизистой, макрофагами, фибробластами и адипоцитами преимущественно в таких органах, как надпочечники, сосуды, легкие, сердце, почки и жировая ткань [11]. Данный пептид обладает целым рядом физиологических действий: участвует в регуляции аппетита и жажды, артериального давления (АД),

водно-электролитного баланса, эндокринной системы, реакции на стресс, нейротрансмиссии, во внутриутробном развитии человека, ангиогенезе, обладает пролиферативным и иммуномодулирующим эффектами, а также оказывает анаболическое действие на костную ткань. Кроме того, инотропно влияет на кардиомиоциты, вызывает бронходилатацию и повышает уровень глюкозы в крови, обладает противовоспалительным, анимикробным и антиоксидантным действиями [11, 12]. Указанная полифункциональность и определяет перспективность изучения диагностического значения АМ в кардиологии.

Цель исследования – выявить и оценить взаимосвязи уровня проаденомедуллина с клинико-анамнестическими данными пациентов с хронической сердечной недостаточностью ишемического генеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В одномоментное исследование вошли 240 мужчин с хроническими формами ИБС, средний возраст – 55,9 [43; 63] года, и перенесенным в прошлом Q-образующим инфарктом миокарда (ИМ), подтвержденным документально. В зависимости от наличия или отсутствия систолической дисфункции и дилатации левого желудочка (ЛЖ), а также тяжести клинического состояния были разделены на две группы. Группа 1 – 110 пациентов с хронической сердечной недостаточностью и сохраненной фракцией выброса (ФВ) ЛЖ. Критерии включения: наличие сохраненной сократительной функции миокарда ЛЖ (фракция выброса ЛЖ (Simpson) $\geq 50\%$); отсутствие признаков дилатации ЛЖ по данным эхокардиографии. Группа 2 – 130 больных с дилатацией и низкой ФВ ЛЖ (группа пациентов с ХСНнФВ). Критерии включения: наличие систолической дисфункции ЛЖ (ФВ ЛЖ (Simpson) $< 40\%$); признаки дилатации ЛЖ (КДО ≥ 180 мл). Критерии исключения из исследования: возраст старше 65 лет, нестабильная стенокардия, ИМ и острые цереброваскулярные события давностью менее 6 мес до начала исследования, хроническая сердечная недостаточность с промежуточной ФВ ЛЖ 40–49%, врожденные пороки сердца, острые и (или) хронические заболевания в стадии обострения, аутоиммунные заболевания, злокачественные новообразования, давность хирургического вмешательства менее 6 мес. Контрольная группа состояла из 30 соматически здоровых лиц мужского пола, средний возраст – 49,6 [41; 57] года. Клиническая характеристика пациентов представлена в табл. 1.

Таблица 1

Table 1

Клиническая характеристика пациентов, включенных в исследование Clinical characteristics of patients included in the study		
Показатель Parameter	Группа 1, $n = 110$ Group 1, $n = 110$	Группа 2, $n = 130$ Group 2, $n = 130$
Возраст, годы, $Me [P_3, P_{95}]$ Age, years, $Me [P_3, P_{95}]$	56,51 [43; 64]	55,58 [43; 63] $p_1 = 0,621$
Индекс массы тела, $кг/м^2$, $Me [P_3, P_{95}]$ Body mass index, kg/m^2 , $Me [P_3, P_{95}]$	34,05 [29,41; 53,26]	31,66 [22,90; 45,93] $p_1 = 0,138$
Длительность симптомов ИБС, годы, $Me [P_3, P_{95}]$ The duration of symptoms of coronary artery disease, years, $Me [P_3, P_{95}]$	5,16 [2; 14]	4,94 [2; 13] $p_1 = 0,587$
Функциональный класс стенокардии Functional class of angina pectoris		
Без стенокардии, n (%) No angina pectoris, n (%)	12 (11)	54 (41) $\chi^2 = 16,5$; $df = 1$; $p_1 < 0,001$
Класс 2, n (%) Class 2, n (%)	25 (23)	51 (39) $\chi^2 = 3,9$; $df = 1$; $p_1 = 0,046$
Класс 3, n (%) Class 3, n (%)	73 (66)	25 (20) $\chi^2 = 23,0$; $df = 1$; $p_1 < 0,001$
Длительность симптомов ХСН, годы, $Me [P_3, P_{95}]$ Duration of CHF symptoms, years, $Me [P_3, P_{95}]$	1,35 [0,50; 4]	2,82 [1; 6] $p_1 = 0,006$
Стадия ХСН (по NYHA) Stage of CHF (according to NYHA)		
Стадия I–II А, n (%) Stage I–II A, n (%)	81 (74)	27 (21) $\chi^2 = 25,59$; $df = 1$; $p_1 < 0,001$
Стадия II Б–III, n (%) Stage II B–III, n (%)	29 (26)	103 (79) $\chi^2 = 20,72$; $df = 1$; $p_1 < 0,001$
Функциональный класс ХСН (по NYHA) Functional class of CHF (according to NYHA)		
Класс 2, n (%) Class 2, n (%)	53 (48)	21 (16)
Класс 3, n (%) Class 3, n (%)	50 (46)	88 (68)
Класс 4, n (%) Class 4, n (%)	7 (6)	21 (16)
Шестиминутный тест ходьбы, м, $Me [P_3, P_{95}]$ 6 minute walk test, $Me [P_3, P_{95}]$	273,33 [61; 434]	169,68 [38; 368] $p_1 < 0,001$
Шкала оценки клинического состояния, баллы, $Me [P_3, P_{95}]$ Scale of assessment of the clinical condition, score, $Me [P_3, P_{95}]$	4,84 [1; 13]	9,19 [4; 15] $p_1 < 0,001$
Длительность артериальной гипертонии в анамнезе, годы, $Me [P_3, P_{95}]$ The duration of arterial hypertension in medical history, years, $Me [P_3, P_{95}]$	14,28 [2; 30]	14,13 [3; 25] $p_1 = 0,809$
Систолическое артериальное давление, мм рт. ст., $Me [P_3, P_{95}]$ Systolic blood pressure, mm hg. art., $Me [P_3, P_{95}]$	146,22 [125; 170]	98,54 [80; 130] $p_1 < 0,001$
Диастолическое артериальное давление, мм рт. ст., $Me [P_3, P_{95}]$ Diastolic blood pressure, mm hg. art., $Me [P_3, P_{95}]$	88,76 [80; 100]	65,81 [60; 80] $p_1 < 0,001$
Постоянная форма фибрилляции предсердий, n (%) Permanent atrial fibrillation, n (%)	29 (26)	59 (45) $\chi^2 = 4,37$; $df = 1$; $p_1 = 0,036$
Отягощенный наследственный анамнез по сердечно-сосудистым заболеваниям, n (%) Family history with cardiovascular diseases, n (%)	75 (68)	94 (72) $\chi^2 = 0,08$; $df = 1$; $p_1 = 0,771$

Примечание. Уровень статистической значимости различий с группой 1 – p_1 .

Note. The level of statistical significance of the differences compared with a group of patients 1 – p_1 .

* уровень статистической значимости различий для группы 2 только II А стадия ХСН.

* for the group 2 only II A stage of CHF.

В табл. 2 представлены данные о систолической функции ЛЖ и распределение пациентов в

зависимости от типа диастолической дисфункции ЛЖ в исследуемых группах.

Таблица 2
Table 2

Показатели систолической и диастолической функции левого желудочка в исследуемых группах Parameters of systolic and diastolic functions of the left ventricle in the studied groups		
Показатель Parameter	Группа 1, $n = 110$ Group 1, $n = 110$	Группа 2, $n = 130$ Group 2, $n = 130$
Фракция выброса левого желудочка (Simpson), %, $Me [P_5, P_{95}]$ Left ventricular ejection fraction (Simpson), %, $Me [P_5, P_{95}]$	54,69 [52; 64]	34,55 [26; 37] $p_1 < 0,001$
Результаты оценки диастолической функции The results of the evaluation of the diastolic function		
Не нарушена, n (%) Not impaired, n (%)	34 (31)	0 $\chi^2 = 35,04; df = 1; p_1 < 0,001$
Изменена по типу замедления релаксации, n (%) Changed by the type of slow relaxation, n (%)	64 (58)	14 (11) $\chi^2 = 31,17; df = 1; p_1 < 0,001$
Изменена по псевдонормальному типу, n (%) Modified by the pseudonormal type, n (%)	12 (11)	37 (28) $\chi^2 = 7,60; df = 1; p_1 = 0,005$
Изменена по рестриктивному типу, n (%) Changed by the restrictive type, n (%)	0	79 (61) $\chi^2 = 55,27; df = 1; p_1 < 0,001$

Примечание. Уровень статистической значимости различий с группой 1 – p_1 .

Note. The level of statistical significance of the differences compared with a group of patients 1 – p_1 .

Все пациенты прошли комплексное обследование, необходимое для постановки диагноза, включавшее сбор жалоб, изучение анамнеза, современные функциональные и лабораторные исследования. Диагноз ИБС устанавливали в соответствии с клиническими рекомендациями «Диагностика и лечение хронической ишемической болезни сердца» Минздрава России (2013) и формулировали по Международной классификации болезней X пересмотра [13]. Диагноз хроническая сердечная недостаточность (ХСН) устанавливали в соответствии с Национальными рекомендациями по диагностике и лечению ХСН (V пересмотр, 2017) [14]. Для оценки тяжести клинических проявлений использовали шкалу оценки клинического состояния (ШОКС) при ХСН в модификации В.Ю. Мареева (2000). ФК ХСН выставляли по результатам теста с 6-минутной ходьбой.

В работе применялись специальные методы: определение в образцах сыворотки крови уровня MR-proADM с использованием тест-системы BRANMSMR-proADM KRYPTOR (Германия). Так как известно, что, в отличие от биологически активной молекулы АМ, ее предшественник MR-proADM не подвергается значительному разрушению протеазами и связыванию в тканях и циркулирующей крови, при этом их соотношение 1 : 1.

Статистическая обработка данных была проведена с помощью программы Statistica 12.0 (StatSoft Inc., США). Нормальность распределения полученных данных оценивали с помощью

теста Колмогорова – Смирнова. Изучаемые показатели представлены в виде медианы, 5 и 95 перцентилей $Me [P_5, P_{95}]$. При сравнении количественных параметров в двух независимых группах для проверки статистических гипотез использовали U -критерий Манна – Уитни, в также критерий χ^2 Пирсона. Интенсивность корреляционной зависимости между показателями исследовалась с помощью рангового коэффициента корреляции Спирмена. Статистически значимыми различия считались при $p < 0,05$.

Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики Good Clinical Practice и принципами Хельсинкской декларации.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведя исследование уровня MR-proADM в группах больных ХСНсФВ и ХСНнФВ, мы получили следующие результаты (табл. 3).

Как показывают приведенные в табл. 3 данные, значение уровня MR-proADM в группе контроля составило 0,49 [0,18; 0,58] нмоль/л. При этом в исследуемых группах пациентов он был статистически значимо выше, чем в группе контроля ($p < 0,001$ и $p < 0,001$ соответственно), а в группе ХСНнФВ он статистически значимо превышал показатели в группе ХСНсФВ ($p < 0,038$).

В табл. 4 приведены результаты уровня MR-proADM в исследуемых группах в зависимости от ФК ХСН.

Таблица 3

Table 3

Уровень MR-proADM в исследуемых группах The level of MR-proADM in the studied groups			
Показатель Parameter	Контроль, $n = 30$ Control, $n = 30$	Группа 1, $n = 110$ Group 1, $n = 110$	Группа 2, $n = 130$ Group 2, $n = 130$
MR-proADM, нмоль/л, $Me [P_5, P_{95}]$ MR-proADM, nmol/l, $Me [P_5, P_{95}]$	0,49 [0,18; 0,58]	0,89 [0,51; 1,35] $p_1 = 0,017$	1,72 [1,56; 1,98] $p_1 < 0,001$, $p_2 < 0,038$

Примечание. Уровень статистической значимости различий с группой контроля – p_1 ; с группой 1 – p_2 .

Note. The level of statistical significance of the differences compared with the control group – p_1 ; with the group 1 – p_2 .

Таблица 4

Table 4

Уровень MR-proADM в исследуемых группах больных в зависимости от функционального класса хронической сердечной недостаточности, нмоль/л, $Me [P_5, P_{95}]$ The level of MR-proADM in the studied groups of patients depending on the functional class of chronic heart failure, nmol/l, $Me [P_5, P_{95}]$			
Функциональный класс ХСН Functional class (FC) of chronic heart failure	Контроль, $n = 30$ Control, $n = 30$	Группа 1, $n = 110$ Group 1, $n = 110$	Группа 2, $n = 130$ Group 2, $n = 130$
2	0,49 [0,18; 0,58]	$n = 53$ 0,56 [0,47; 0,62] $p_1 = 0,075$	$n = 21$ 1,39 [0,90; 1,63] $p_1 < 0,001$ $p_4 < 0,001$
3		$n = 50$ 0,97 [0,74; 1,19] $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,011$	$n = 88$ 1,58 [1,34; 1,71] $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,023$ $p_4 < 0,001$
4		$n = 7$ 1,21 [1,14; 1,52] $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 = 0,014$	$n = 21$ 1,82 [1,66; 2,05] $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 = 0,009$ $p_4 < 0,001$

Примечание. Уровень статистической значимости различий с группой контроля – p_1 ; с группой больных с ФК 2 ХСН в соответствующих группах – p_2 ; с группой больных с ФК 3 ХСН в соответствующих группах – p_3 ; с группой больных с ХСНсФВ и соответствующим ФК ХСН – p_4 .

Note. The level of statistical significance of the differences compared with the control group – p_1 ; the group of patients with the FC 2 CHF in the respective groups – p_2 ; with the group of patients with FC 3 CHF in the respective groups – p_3 ; with the group of patients with chronic heart failure and SVF and the corresponding FC CHF – p_4 .

Представленные в табл. 4 данные показывают, что в подгруппе пациентов с ХСНсФВ ФК 2 показатель уровня MR-proADM статистически значимо не отличался от показателя группы контроля ($p = 0,002$). При этом в подгруппе ХСНнФВ ФК 2 он превышал контрольные значения, а также значения в группе ХСНсФВ. У пациентов с ФК 3 и 4 в обеих группах уровни изучаемого маркера были статистически значимо выше, чем в группе контроля. Кроме того, в группе ХСНнФВ они были статистически значимо выше, чем в соответствующих подгруппах пациентов с ХСНсФВ. Таким образом, в обеих группах пациентов увеличение уровня MR-proADM ассоциируется со

степенью нарушения функционального состояния пациента.

Поскольку ШОКС – интегральный показатель тяжести состояния больного ХСН, включающий несколько клинических признаков и устанавливающий возможные взаимосвязи между клиническими проявлениями болезни и уровнем изучаемого пептида, мы провели корреляционный анализ Спирмена. В обеих группах пациентов выявлены прямые статистически значимые связи уровня MR-proADM с суммарным баллом по ШОКС (ХСНнФВ $r = 0,516$; $p = 0,021$; ХСНсФВ $r = 0,482$; $p = 0,034$). Наличие данных связей также говорит о сопряженности уровня MR-proADM с

клинической тяжестью ХСН. Кроме того, в обеих группах были статистически значимы коэффициенты корреляций между показателем теста 6-минутной ходьбы и уровнем MR-proADM (ХСНФВ $r = 0,350$; $p = 0,044$; ХСНсФВ $r = 0,283$; $p = 0,046$).

Корреляционный анализ выявил наличие статистически значимой связи уровня MR-proADM с ФК стенокардии в обеих группах (ХСНсФВ

$r = 0,475$; $p = 0,021$; ХСНФВ $r = 0,394$, $p = 0,045$). Статистически значимых связей с длительностью ИБС и временем после ИМ в обеих группах не найдено. Мы также провели сравнение уровня MR-proADM в исследуемых группах пациентов в зависимости от наличия (отсутствия) у пациентов постоянной формы фибрилляции предсердий ФП (табл. 5).

Таблица 5
Table 5

Показатели уровня в исследуемых группах в зависимости от наличия/отсутствия постоянной формы фибрилляции предсердий, $Me [P_1, P_2]$					
Level parameters in the studied groups depending on the presence (absence) of a constant form of atrial fibrillation, $Me [P_1, P_2]$					
Показатель Parameter	Контроль, $n = 30$ Control, $n = 30$	Группа 1, $n = 110$ Group 1, $n = 110$		Группа 2, $n = 130$ Group 2, $n = 130$	
		Ритм синусовый, $n = 76$ Sinus rhythm, $n = 76$	Постоянная форма фибрилляции, $n = 34$ предсердий Permanent atrial fibrillation, $n = 34$	Ритм синусовый, $n = 81$ Sinus rhythm, $n = 81$	Постоянная форма фибрилляции предсердий, $n = 49$ Permanent atrial fibrillation, $n = 49$
MR-proADM, нмоль/л MR-proADM, nmol/l	0,49 [0,18; 0,58]	0,76 [0,38; 1,08] $p_1 = 0,028$	0,95 [0,74; 1,35] $p_1 < 0,04$ $p_2 = 0,023$	1,76 [1,51; 1,85] $p_1 = 0,011$ $p_3 = 0,034$	1,94 [1,73; 2,13] $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 = 0,026$

Примечание. Уровень статистической значимости различий с группой контроля – p_1 ; с группой больных с синусовым ритмом в соответствующих группах – p_2 ; с группой больных с фибрилляцией предсердий в соответствующих группах – p_3 .
Note. The level of statistical significance of the differences compared with the control group – p_1 ; the group of patients with sinus rhythm in the respective groups – p_2 ; with the group of patients with permanent atrial fibrillation in the respective groups – p_3 .

Исследование показало, что наличие постоянной формы ФП в обеих группах ассоциировано со статистически значимо более высокими уровнями MR-proADM по сравнению с лицами с синусовым ритмом.

Далее мы провели корреляционный анализ уровня MR-proADM с показателем длительности гипертонического анамнеза, уровнем систолического и диастолического артериального давления. В группе пациентов с ХСНсФВ выявлены статистически значимые связи уровня изучаемого маркера с уровнем систолического и диастолического артериального давления ($r = 0,306$; $p = 0,034$ и $r = 0,306$; $p = 0,034$ соответственно), в группе ХСНФВ данные связи были также статистически значимы, но отрицательными и значительно слабее ($r = -0,212$, $p = 0,043$ и $r = -0,195$, $p = 0,046$ соответственно). С длительностью гипертонического анамнеза уровень MR-proADM в обеих группах не коррелировал.

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлено увеличение уровня MR-proADM у больных ИБС, которые перенесли Q-образующий ИМ.

В работах зарубежных исследователей выявлено увеличение его уровня при ИБС и имеются указания на возможные причинно-следственные механизмы этого повышения. Например, O.S. Dhillon и соавт. указывают на то, что состояние гипоксии и цитокиновый выброс при ИБС вызывает повышенную секрецию АМ сосудистыми клетками [15]. В других работах представлены данные о том, что увеличение АМ является механизмом компенсации, стимулирующим неоваскуляризацию при ишемических состояниях [16]. Также предполагается, что АМ через цАМФ сигнальный механизм подавляет коллагеновый синтез и пролиферацию фибробластов в ткани миокарда и может участвовать в структурно-функциональном ремоделировании сердца [17].

Мы выявили ассоциации уровня MR-proADM с выраженностью клинических симптомов ХСН (суммарным баллом по ШОКС, результатами теста 6-минутной ходьбы), что отражает роль АМ в процессах функциональной адаптации сердечно-сосудистой при ХСН и согласуется с предварительными данными клиническо-экспериментальных исследований. Данные указывают на то, что АМ может быть важным биомаркером

оценки тяжести ХСН. Так, Т. Nishikimi и соавт. выявили у пациентов с ХСН повышение содержания АМ в крови пропорционально степени тяжести ХСН, что ученые объясняют увеличением объема плазмы и (или) активацией симпатической нервной системы [18]. Кроме того, имеются данные о том, что АМ увеличивает контрактильность миокарда через цАМФ-независимые механизмы, также подтверждая, что АМ является эндогенным инотропным пептидом при ХСН [11]. Установлено, что у пациентов со сниженной систолической функцией ЛЖ после перенесенного ИМ внутривенное введение АМ увеличивает контрактильность миокарда ЛЖ и улучшает его диастолическую функцию без повышения потребности миокарда в кислороде [12].

Представляет интерес выявление корреляции между уровнем MR-proADM и ФК стенокардии, которая еще раз доказывает связь повышенной экспрессии изучаемого биомаркера с гипоксией, воспалением и неоангиогенезом в виде своеобразной компенсаторной реакции. Выявленные корреляционные взаимосвязи между уровнем MR-proADM и наличием ФП могут быть отражением усиления процессов ремоделирования миокарда предсердий, что согласуется с данными об обнаружении АМ в предсердном миокарде в большем количестве, чем в желудочковом [11].

Роль АМ в регуляции тонуса сосудов подтверждается выявленной зависимостью между уровнем MR-proADM, систолического и диастолического артериального давления в исследуемых группах. Известно, что АМ экспрессируется гладкомышечными клетками сосудов и через цАМФ/протеинкиназу опосредует свой вазодилатирующий эффект, а в эндотелиальных клетках – NOS/NO-путем [18]. Кроме того, на уровень артериального давления изучаемый маркер может воздействовать через регуляцию водно-солевого баланса организма, оказывая влияние на диурез и натрийурез [19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные выше результаты исследования подтверждают наличие взаимосвязи уровня MR-proADM с клиническо-анамнестическими данными пациентов с хроническими формами ИБС. Можно предполагать, что АМ является новым перспективным маркером, который в недалеком будущем будет использоваться в общеклинической практике в качестве диагностического стандарта и оценки эффективности лечения пациентов с ССЗ. На сегодняшний день при интерпретации результатов уровня MR-proADM необходи-

мо рассматривать комплексно анамнестические и клинические данные больного, а также учитывать референсные значения исследуемого маркера.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Сайгитов Р.Т., Чулок А.А. Сердечно-сосудистые заболевания в контексте социально-экономических приоритетов долгосрочного развития России. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2015; 3: 286–299. [Saygitov R.T., Chulok A.A. Cardiovascular diseases in the context of social and economic priorities of the long-term development of Russia. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 3: 286–299 (in Russ.)]. DOI: 10.15690/vramn.v70i3.1324.
2. Концевая А.В., Драпкина О.М., Баданова Ю.А., Имаева А.Э., Суворова Е.И., Худяков М.Б. Экономический ущерб от сердечно-сосудистых заболеваний в Российской Федерации в 2016 году. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2018; 14 (2): 156–166. [Kontsevaya A.V., Drapkina O.M., Badanova Yu.A., Imayeva A.E., Suvorova E.I., Khudyakov M.B. Economic damage from cardiovascular diseases in the Russian Federation in 2016. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2018; 14 (2): 156–166 (in Russ.)]. DOI: 10.20996/1819-6446-201814-2-156-166.
3. Лупанов В.П. Стабильная ишемическая болезнь сердца: патогенез, клиническая диагностика и классификация (Лекция для врачей). *Терапевт*. 2017; 9: 34–40. [Lupanov V.P. Stable coronary heart disease: pathogenesis, clinical diagnosis and classification. (Lecture for doctors). *Therapist*. 2017; 9: 34–40 (in Russ.)].
4. Хазов В.С. Общетеоретические и патофизиологические аспекты этиологии и патогенеза ИБС с системных позиций. *Архивъ внутренней медицины*. 2015; 21 (1): 46–53. [Khazov V.S. General theoretical and pathophysiological aspects of the etiology and pathogenesis of coronary artery disease from system positions. *Archive of Internal Medicine*. 2015; 21 (1): 46–53 (in Russ.)]. DOI: 10.20514/2226-6704-2015-0-1-46-53.
5. Лямина Н.П., Карпова Э.С., Котельникова Е.В. Маркеры ишемии миокарда: патофизиологическое обоснование клинического применения. *Патогенез*. 2018; 16 (1): 17–25. [Lyamina N.P., Karpova E.S., Kotelnikova E.V. Markers of myocardial ischemia: pathophysiological substantiation for clinical use. *Pathogenesis*. 2018; 16 (1): 17–25 (in Russ.)]. DOI: 10.25557/2310-0435.2018.01.17-25.
6. Gaggin H.K., Januzzi J.L. Jr. Biomarkers and diagnostics in heart failure. *Biochim. Biophys. Acta*. 2013; 1832 (12): 2442–2450. DOI: 10.1016/j.bbadis.2012.12.014.
7. Медведева Е.А., Суркова Е.А., Лимарева А.В., Щукин Ю.В. Молекулярные биомаркеры в диагностике, стратификации риска и прогнозировании сердечной недостаточности. *Российский кардиологический журнал*. 2016; 21 (8): 86–91. [Medvedeva E.A., Surkova E.A., Limareva L.V., Shchukin Yu.V. Molecular biomarkers in the diagnosis, risk stratification and prediction of heart

- failure. *Russian Journal of Cardiology*. 2016; 21 (8): 86–91 (in Russ.)). DOI: 10.15829/1560-4071-2016-8-86-91.
8. Островский О.В., Ткачева В.В., Островская В.О. Лабораторные маркеры повреждения миокарда в кардиологической практике. *Поликлиника*. 2013; 1–3: 31–36 [Ostrovskiy O.V., Tkacheva V.V., Ostrovskaya V.O. Laboratory markers of myocardial damage in cardiology practice. *Poliklinika*. 2013; 1–3: 31–36 (in Russ.)].
 9. Neumann J.T., Tzikas, Funke-Kaiser A., Wilde S., Appelbaum S., Till K. Association of MR-proadrenomedullin with cardiovascular risk factors and subclinical cardiovascular disease. *Atherosclerosis*. 2013; 228 (2): 451–459. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.03.006.
 10. Kitamura K., Kangawa K., Kawamoto M., Ichiki Y., Nakamura S., Matsuo H., Eto T. Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1993; 192 (2): 55–560. DOI: 10.1006/bbrc.1993.1451.
 11. Лискова Ю.В., Столбова М.В., Стадников А.А. Нейроэндокринные маркеры хронической сердечной недостаточности. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 5: 319 [Liskova Yu.V., Stolbova M.V., Stadnikov A.A. Neuroendocrine markers of chronic heart failure. *Modern Problems of Science and Education*. 2015; 5: 319 (in Russ.)].
 12. Lu W.W., Qi Y.F. Cardiovascular effects and pathophysiological significance of adrenomedullin family peptides. *Sheng Li Ke Xue Jin Zhan*. 2013; 44 (3): 177–182.
 13. Карпов Ю.А. Диагностика и лечение хронической ишемической болезни сердца. *Кардиологический вестник*. 2015; 10 (3): 3–33. [Karpov Yu.A. Diagnosis and treatment of chronic ischemic heart disease. *Cardiac Herald*. 2015; 10 (3): 3–33 (in Russ.)].
 14. Мареев В.Ю., Фомин И.В., Агеев Ф.Т., Артюнов Г.П., Беграббекова Ю.Л., Беленков Ю.Н., Васюк Ю.А., Галывич А.С., Гарганеева А.А., Гендлин Г.Е., Гиляревский С.Р., Глезер М.Г., Драпкина О.М., Дупляков Д.В., Кобалава Ж.Д., Козиолова Н.А., Лопатин Ю.М., Мареев Ю.В., Моисеев В.С., Недошивин А.О., Перепеч Н.Б., Ситникова М.Ю., Скибицкий В.В., Тарловская Е.И., Чесникова А.И., Шляхто Е.В. Клинические рекомендации. Хроническая сердечная недостаточность (ХСН). *Журнал Сердечная Недостаточность*. 2017; 18 (1): 3–40. [Mareev V.Yu., Fomin I.V., Ageev F.T., Artyunov G.P., Begrambekova Yu.L., Belenkov Yu.N., Vasyuk Yu.A., Galyavich A.S., Garganeeva A.A., Gendlin G.E., Gilyarevskiy S.R., Glezer M.G., Drapkina O.M., Duplyakov D.V., Kobalava Zh.D., Kozioleva N.A., Lopatin Yu.M., Mareev Yu.V., Moiseev V.S., Nedoshivin A.O., Perepech N.B., Sitnikova M.Yu., Skibitskiy V.V., Tarlovskaya E.I., Chesnikova A.I., Shlyakhto E.V. Clinical guidelines. Chronic heart failure (CHF). *Heart Failure Journal*. 2017; 18 (1): 3–40 (in Russ.)]. DOI: 10.18087/rhfj.2017.1.2346.
 15. Dhillon O.S., Khan S.Q., Narayan H.K., Ng K.H., Struck J., Quin P.A., Morgenthaler N.G., Squire I.B., Davies J.E., Bergmann A., Ng L.L. Prognostic value of mid-regional proadrenomedullin levels taken on admission and discharge in non-ST-elevation myocardial infarction: the LAMP (Leicester Acute Myocardial Infarction Peptide) II study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2010; 56 (2): 125–133. DOI: 10.1016/j.jacc.2010.01.060.
 16. Hay D.L., Walker C.S., Poyner D.R. Adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide receptors in endocrine-related cancers: opportunities and challenges. *Endocr Relat Cancer*. 2011; 18 (1): 1–14.
 17. Yamamoto C., Fukuda N., Jumabay M., Saito K., Matsumoto T., Ueno T., Soma M., Matsumoto K., Shimomura T. Protective effects of statin on cardiac fibrosis and apoptosis in adrenomedullin-knockout mice treated with angiotensin II and high salt loading. *Hypertens Res*. 2011; 34 (4): 348–353. DOI: 10.1038/hr.2010.243.
 18. Nishikimi T., Kuwahara K., Nakagawa Ya., Kangawa K., Nakao K. Adrenomedullin in cardiovascular disease: a useful biomarker, its pathological roles and therapeutic application. *Curr Protein Pept. Sci.* 2013; 14 (4): 256–267. DOI: 10.2174/13892037113149990045.
 19. Rademaker M.T., Charles C.J., Nicholls M.G., Richards A.M. Haemodynamic, endocrine and renal actions of adrenomedullin 5 in an ovine model of heart failure. *Clin. Sci. (Lond.)*. 2012; 122 (9): 429–437. DOI: 10.1042/CS20110483.

Сведения об авторе

Мясоедова Екатерина Игоревна, канд. мед. наук, ст. лаборант, кафедра внутренних болезней, Астраханский государственный медицинский университет, г. Астрахань. ORCID iD 0000-0001-6820-733X.

(✉) Мясоедова Екатерина Игоревна, e-mail: k.kopnina@yandex.ru.

Author information

Myasoedova Ekaterina I., PhD, Senior Laboratory Assistant, Division of Internal Diseases, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-6820-733X.

(✉) Myasoedova Ekaterina I., e-mail: k.kopnina@yandex.ru.

Поступила в редакцию 01.02.2019
Подписана в печать 11.06.2019

Received 01.02.2019
Accepted 11.06.2019

Взаимосвязь курения с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей и течением деструктивно-цитолитических процессов в бокаловидном эпителии бронхов больных бронхиальной астмой

Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Колосов В.П., Перельман Ю.М.

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания (ДНЦ ФПД)
Россия, 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22

РЕЗЮМЕ

Введение. Табакокурение больных бронхиальной астмой (БА) может усилить повреждение слизистой оболочки бронхов и существенно ухудшить течение заболевания.

Цель. Оценить влияние табакокурения на клинические проявления болезни, реакцию дыхательных путей на воздействие холодного воздуха, деструктивно-цитолитические процессы в бокаловидном эпителии бронхов больных БА.

Материалы и методы. У 145 больных БА определяли уровень контроля над заболеванием по данным вопросника Asthma Control Test, функцию легких (ОФВ₁, %), реакцию дыхательных путей (ΔОФВ₁, %) на 3-минутную изокапническую гипервентиляцию холодным (–20 °С) воздухом (ИГХВ), осуществляли сбор индуцированной мокроты (ИМ). В цитограммах ИМ определяли процентное содержание, индекс деструкции клеток (ИДК) и интенсивность цитолиза (ИЦ), гистохимически – активность миелопероксидазы (МПО) и содержание гликопротеинов. В группу 1 включены 102 некурящих лица, в группу 2 – 43 курящих.

Результаты. В ИМ больных группы 2 по сравнению с группой 1 найдено усиление деструктивной (ИДК = $0,47 \pm 0,02$ и $0,40 \pm 0,02$ соответственно, $p = 0,044$) и цитолитической активности бокаловидных клеток (ИЦ = $0,22 \pm 0,03$ и $0,15 \pm 0,02$ соответственно, $p = 0,047$) с преобладанием количества полностью разрушенных клеток ($(21,7 \pm 2,4)$ и $(14,5 \pm 1,6)\%$, $p = 0,043$) и снижением клеток нормальной структуры ($(52,5 \pm 2,1)$ и $(60,5 \pm 3,1)\%$, $p = 0,047$). Для курящих характерно высокое содержание нейтрофилов в ИМ ($(34,1 \pm 3,0)$ и $(23,9 \pm 1,4)\%$ соответственно, $p = 0,0006$) и уровня миелопероксидазы в гранулоцитах бронхов ($(94,3 \pm 5,4)$ и $(80,7 \pm 3,6)$ пикселей, $p = 0,037$). Курящие активнее реагировали на ИГХВ ($\Delta\text{ОФВ}_1 = (-13,7 \pm 2,6)$ и $(-7,9 \pm 1,2)\%$ соответственно, $p = 0,032$), и степень реакции коррелировала с показателями деструктивно-цитолитической активности клеток ИМ.

Заключение. Табакокурение у больных БА приводит к нарушению структуры бокаловидного эпителия бронхов с усилением деструктивно-цитолитических процессов, что сопровождается снижением уровня содержания гликопротеинов в цитоплазме, увеличением секреторной активности бокаловидных клеток, нейтрофилией, усилением оксидативной пероксидазной активности гранулоцитов, ухудшением бронхиальной проходимости и усилением реакции дыхательных путей на воздействие холодного воздуха.

Ключевые слова: бронхиальная астма, табакокурение, холодовая гиперреактивность дыхательных путей, бокаловидные клетки, гранулоциты, воспаление, оксидативный стресс.

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

Источник финансирования. Исследование выполнено за счет средств государственного задания ДНЦ ФПД.

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписывали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено локальным комитетом по биомедицинской этике Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания (протокол № 120/1 от 25.10.2017).

Благодарность. Выражаем признательность кандидату медицинских наук Зиновьеву Сергею Васильевичу за сотрудничество и помощь в обработке цитологического материала.

Для цитирования: Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Колосов В.П., Перельман Ю.М. Взаимосвязь курения с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей и течением деструктивно-цитолитических процессов в бокаловидном эпителии бронхов больных бронхиальной астмой. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 90–100. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-90-100>.

УДК 616.248-001.19-02:613.84:612.29

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-90-100>

The influence of smoking on the formation of airway hyperresponsiveness to cold and the course of destructive-cytological processes in the goblet cells of the bronchial epithelium in patients with asthma

Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Kolosov V.P., Perelman Ju.M.

*Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology
22, Kalinina Str., Blagoveschensk, 675000, Russian Federation*

ABSTRACT

Tobacco smoking in patients with asthma can intensify the bronchi mucosa damage and significantly worsen the course of the disease.

Aim. To assess the influence of tobacco smoking on the clinical manifestations of the disease, airway response to cold air exposure and destructive-cytological processes in the goblet cells of bronchial epithelium in patients with asthma.

Materials and methods. In 145 patients with asthma their asthma control level was determined by the Asthma Control Test, lung function (FEV_1 , %) and airway response (ΔFEV_1 , %) to a 3-minute isocapnic hyperventilation (-20°C) of cold air (IHCA) were evaluated, and induced sputum (IS) was collected. In cytograms of IS a percentage content, the index of cell destruction (ICD) and the index of cytolysis intensiveness (IC) were assessed; histochemically the activity of myeloperoxidase (MPO) and the contents of glycoproteins were identified. The 1st group included 102 non-smokers and the 2nd group included 43 smokers.

Results. In IS of patients of the 2nd group in comparison with the 1st one we found intensification of the destructive (ICD = 0.47 ± 0.02 and 0.40 ± 0.02 , respectively, $p = 0.044$) and cytolytic activity of goblet cells (IC = 0.22 ± 0.03 and 0.15 ± 0.02 , respectively, $p = 0.047$) with the domination of the number of completely destroyed cells (21.7 ± 2.4 vs. $14.5 \pm 1.6\%$, $p = 0.043$) and the decrease in the number of cells with a normal structure (52.5 ± 2.1 vs. $60.5 \pm 3.1\%$, $p = 0.047$). For smokers it was typical to have high contents of neutrophils in IS (34.1 ± 3.0 vs. $23.9 \pm 1.4\%$, respectively, $p = 0.0006$) and high level of myeloperoxidase in granulocytes of bronchi (94.3 ± 5.4 vs. 80.7 ± 3.6 pixels, $p = 0.037$). Smokers responded more actively to IHCA (ΔFEV_1 was -13.7 ± 2.6 vs. $-7.9 \pm 1.2\%$, respectively, $p = 0.032$), and the degree of the response correlated with the indices of destructive-cytological activity of IS cells.

Conclusion. Tobacco smoking in patients with asthma leads to the disturbance of the structure of goblet epithelium in the bronchi with the intensification of destructive-cytological processes, which is accompanied by a decrease in the level of glycoproteins in cytoplasm, an increase in the secretory activity of the goblet cells, neutrophilia, growth of oxidative peroxidase activity of granulocytes, worsening of the bronchial conductance, and intensification of airway response to cold air.

Key words: asthma, tobacco smoking, airway hyperresponsiveness to cold, goblet cells, granulocytes, inflammation, oxidative stress.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was supported by the state order of the Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology.

Conformity with the principles of ethics. All patients included in the study signed an informed consent. The study was approved by the local Ethics Committee at Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology (Protocol No. 120/1 of 25.10.2017).

Acknowledgements. The authors would like to thank S.V. Zinovyev, Candidate of Medical Science, for collaboration and assistance in processing cytological material.

For citation: Pirogov A.B., Prikhodko A.G., Kolosov V.P., Perelman Ju.M. The influence of smoking on the formation of airway hyperresponsiveness to cold and the course of destructive-cytological processes in the goblet cells of the bronchial epithelium in patients with asthma. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 90–100. [https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2019-3-90-100](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-90-100).

ВВЕДЕНИЕ

Курение табака играет важную роль в патогенезе заболеваний бронхолегочного аппарата в связи с тем, что органы дыхания являются основной мишенью воздействия табачного дыма [1, 2]. У больных бронхиальной астмой (БА) курение увеличивает частоту и тяжесть респираторных симптомов, ускоряет темпы снижения легочных функций [3], усиливает степень тяжести астмы [4], снижает ответ на ингаляционные и системные глюкокортикостероиды [5], а также другие противоастматические препараты [6], уменьшает вероятность достижения контроля болезни, повышает частоту обострений и госпитализаций, увеличивает риск смерти от астмы [7], снижает качество жизни [8].

Прогрессирование нарушения вентиляционной функции легких при табакокурении поддерживается хроническим воспалением и ремоделированием дыхательных путей, обусловленными оксидативным повреждением, бокаловидно-клеточной гиперплазией и плоскоклеточной метаплазией бронхиального эпителия, продукцией провоспалительных медиаторов и цитокинов активированными нейтрофилами и макрофагами, разрушением соединительнотканного матрикса нейтрофильными протеиназами, интерстициальным фиброзом, гиперсекрецией бронхиальной слизи и мукоцилиарной недостаточностью [2]. Кроме того, в настоящее время курение рассматривается в ряду механизмов бронхиальной гиперреактивности, достоверный риск развития которой у курильщиков характеризуется доза-эффект-зависимостью, а увеличение тяжести коррелирует с нарастанием интенсивности и продолжительности курения, выраженных в показателе «пачка/лет» [9].

В выполненных нами ранее работах установлено, что индукция нейтрофилами повреждения и некроза бронхиального эпителия у больных БА опосредована осуществляемым при дегрануляции, деструкции и цитолизе гранулоцитов экзоцитозом лизосомальных ферментов, в частности миелопероксидазы [10], обеспечивающей гене-

рацию наряду с активными формами кислорода (АФК) высокоактивных форм галогенов, что, в свою очередь, приводит к утяжелению течения болезни [11].

Сочетанное влияние табакокурения и такого потенциально бронхопровоцирующего экзогенного триггера, как низкая температура атмосферного воздуха, на архитектуру слизистой оболочки бронхов, может служить важным фактором формирования эпителиальной и мукоцилиарной дисфункции в ассоциации с морфофункциональными преобразованиями структурного и ферментативно-оксидантного статуса нейтрофильного сегмента воспалительного инфильтрата.

Целью настоящей работы явилось изучение взаимосвязи табакокурения с клиническими проявлениями болезни, реакцией дыхательных путей на воздействие холодного воздуха и течением деструктивно-цитолитических процессов в бокаловидном эпителии бронхов больных БА.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 145 больных легкой персистирующей БА [12] в период наступления низких температур (-5°C и ниже) окружающей среды (октябрь – апрель). Из них 93 (64%) женщины, 52 (36%) мужчины, средний возраст ($40,5 \pm 1,2$) лет, рост – ($168,4 \pm 0,8$) см, вес – ($80,4 \pm 1,3$) кг. Критерием включения в клиническое исследование являлись: базовое значение $\text{ОФВ}_1 \geq 75\%$ от должной величины, терапия ингаляционными кортикостероидами в виде монотерапии либо в сочетании с длительно действующими β_2 -агонистами в соответствии со степенью тяжести заболевания, отсутствие острой респираторной инфекции, патологии других органов и систем, влияющей на результаты исследования, в течение предшествующих 4 нед до взятия биологического материала и проведения клинико-функционального тестирования.

Клиническое исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с

участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Пациенты подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с протоколом, одобренным локальным Комитетом по биомедицинской этике Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания.

Дизайн работы предполагал оценку уровня контроля над заболеванием по данным вопросника Asthma Control Test (АСТ, Quality Metric Inc., 2002), в баллах, исследование функции внешнего дыхания посредством спирометрии форсированного выдоха (Easy on-PC, nddMedizintechnik AG, Швейцария) с определением показателей ОФВ₁, ФЖЕЛ, ОФВ₁/ФЖЕЛ, ПОС, МОС₅₀, СОС₂₅₋₇₅ и последующей проверкой на обратимость обструкции (ΔОФВ_{1Б}, %) после введения β₂-агониста (сальбутамол), выявление гиперреактивности дыхательных путей (ΔОФВ_{1ИГХВ}, %) путем проведения 3-минутной изокапнической гипервентиляции холодным (–20 °С) воздухом (ИГХВ) [13], сбор индуцированной мокроты (ИМ) по стандартной методике [14].

Цитологическое исследование индуцированной мокроты (ИМ) пациентов проводили не позднее 2 ч после ее получения. Отбирался материал с минимальным уровнем контаминации плоскоклеточным эпителием. Подсчитанное количество клеток (нейтрофилов, эозинофилов, макрофагов, лимфоцитов, клеток бронхиального эпителия и бокаловидных клеток) выражали в процентах от общего числа. Степень деструкции и интенсивности цитолиза бронхиального эпителия, бокаловидных клеток, эозинофилов и нейтрофилов определяли по методу Л.А. Матвеевой [15]. Выделяли пять классов деструкции клеток в зависимости от изменений структурной целостности клеточных элементов: 0 – нормальная структура; I – частичное (не более 1/2) деструктивное повреждение цитоплазмы, нормальная структура ядра; II – значительная (более 1/2), но неполная деструкция цитоплазмы, частичное повреждение ядра; III – полная деструкция цитоплазмы, значительная деструкция ядра; IV – полная деструкция с распадом цитоплазмы и ядра. Вычисляли суммарный индекс деструкции клеток (ИДК) и индекс интенсивности цитолиза (ИЦ как отношение наиболее разрушенных клеток к содержанию остальных поврежденных клеток):

$$\text{ИДК} = \frac{n_1 + n_2 + n_3 + n_4}{100};$$

$$\text{ИЦ} = \frac{n_4}{n_0 + n_1 + n_2 + n_3 + n_4},$$

где 0, 1, 2, 3, 4 – номера классов деструкции; n_1 , n_2 , n_3 , n_4 – количество клеток соответствующего класса.

Цитохимическое исследование активности миелопероксидазы (МПО) нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов в цитологических мазках ИМ проводили по методу Грэхема – Кнолля с докраской мазков после обработки бензидином и перекисью водорода водным раствором азура-2 [16]. Изображения микропрепаратов получали с помощью цифровой видеокамеры ДСМ 510 с системой захвата изображения. Для цифровой обработки изображений клеток использовали компьютерные программы Image Tool и Optika Vision Pro (Италия), Mac Biophotonics Image S (США). На основании полученных данных рассчитывали средний цитохимический коэффициент (СЦК) активности МПО в пикселях.

Для изучения содержания гликопротеинов в бокаловидном эпителии после фиксации препаратов в формалине использовали метод окраски цитологических мазков альциановым синим, селективно выявляющим муцины (гликопротеины, кислые гликозаминогликаны – ГАГ) в цитоплазме бокаловидных клеток [17]. Уровень содержания гликопротеинов и ГАГ в бокаловидном эпителии оценивали по количеству окрашенных альциановым синим клеток, выраженному в процентах.

Статистический анализ выполнялся на основе стандартных методов вариационной статистики. Проверка на нормальность распределения выборок проводилась методами Колмогорова – Смирнова и Пирсона – Мизеса. Количественные значения исследуемых параметров представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего $M \pm m$. Для определения уровня статистической значимости различий между группами в случае нормального распределения использовали непарный *t*-критерий Стьюдента. Различие считалось достоверным при $p < 0,05$. В случаях отклонения закона распределения в выборке от нормального для сравнения использовали непараметрический критерий Колмогорова – Смирнова. С целью определения степени связи между двумя случайными величинами проводили корреляционный анализ, рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона *r*. Корреляция считалась значимой при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам обследования больные БА были разделены на следующие группы. В группу

1 вошли 102 некурящих лица, в группу 2 – 43 курящих и ранее куривших пациента (ИК в среднем $14,8 \pm 2,1$) пачка/лет, 5–40 сигарет в сутки). Среди них активно курили 55% больных (в 21% случаев стаж курения превышал 10 пачка/лет, в 33% – 20 пачка/лет), 45% больных курили в прошлом, прекратив курение после выявления астмы. Обращает на себя внимание практически равное количество курящих лиц мужского и женского

пола (56 и 44% соответственно).

При оценке основных клинических и функциональных параметров состояния больных на момент проведения исследования (табл. 1) не выявлено существенных различий по уровню контроля над заболеванием: 69% больных группы 1 и 74% больных группы 2 последние 4 нед, по данным АСТ, характеризовались отсутствием контроля над астмой на фоне применяемой терапии (табл. 1).

Таблица 1
Table 1

Сравнительная клинко-функциональная характеристика больных БА, $M \pm m$ Comparative clinical characteristics and indices of the lung function in the studied groups, $M \pm m$			
Показатель Parameter	Группа 1, $n = 102$ Group 1, $n = 102$	Группа 2, $n = 43$ Group 2, $n = 43$	p
Возраст, лет Age, years	$42,1 \pm 1,0$	$39,8 \pm 1,4$	0,210
ОФВ ₁ , % долж. FEV ₁ , % from predicted value	$92,7 \pm 1,6$	$87,8 \pm 2,9$	0,131
ОФВ ₁ /ФЖЕЛ, % FEV ₁ /FVC, % from predicted value	$73,4 \pm 0,7$	$70,3 \pm 1,4$	0,034
ПОС, % долж. FEF ₅₀ , % from predicted value	$100,4 \pm 2,1$	$91,7 \pm 3,3$	0,023
МОС ₅₀ , % долж. FEF ₅₀ , % from predicted value	$69,4 \pm 2,8$	$61,1 \pm 3,1$	0,047
МОС ₂₅₋₇₅ , % долж. FEF ₂₅₋₇₅ , % from predicted value	$67,2 \pm 2,6$	$60,1 \pm 2,8$	0,062
Δ ОФВ ₁ ИГХВ, % Δ FEV ₁ after IHCA, %	$-7,9 \pm 1,2$	$-13,7 \pm 2,6$	0,032
Δ ОФВ ₁ БА, % Δ FEV ₁ after the bronchodilator test with salbutamol, %	$8,5 \pm 1,0$	$14,9 \pm 2,6$	0,007
АСТ, баллы ACT, scores	$16,6 \pm 0,5$	$16,2 \pm 0,8$	0,591

Примечание. Здесь и в табл. 4: ИГХВ – изменение показателя в ответ на пробу ИГХВ; БА – бронходилататор, изменение показателя в ответ на введение β_2 -агониста, ОФВ₁ – объем форсированного выдоха за первую секунду; ФЖЕЛ – форсированная жизненная емкость легких; ПОС – пиковая объемная скорость; МОС – мгновенная объемная скорость. Note. Here and in Table 4: IHCA – change of the parameter in response to the IHCA test; FEV₁ – forced expiratory volume, 1 second, FVC – forced vital capacity of the lungs; PEF – peak expiratory flow rate; MEF – maximum expiratory flow.

В то же время при спирометрическом исследовании зарегистрированы более низкие значения показателей функции внешнего дыхания у курящих лиц и достоверно более высокий прирост ОФВ₁ в ответ на введение β_2 -агониста. При проведении пробы ИГХВ данные пациенты активнее реагировали на бронхопровокацию холодным воздухом. В свою очередь, это было сопряжено с более значимой гиперплазией бронхиального бокаловидного эпителия, судя по увеличению в цитограммах ИМ количества бокаловидных клеток (табл. 2). Фоном для интенсификации бокаловидно-клеточной гиперплазии у больных группы 2 являлись увеличение количества нейтрофилов и снижение числа эозинофилов в воспалительном инфильтра-

те бронхов, что отмечалось одновременно с достоверным снижением уровня макрофагов и повышению цитоза мокроты (см. табл. 2). Показатели уровня синтеза и депонирования пероксидазы в гранулоцитах также достигали максимума в группе 2, о чем свидетельствовали значения СЦК МПО нейтрофилов и эозинофилов (см. табл. 2).

Экзоцитоз МПО в группе 2 преобладал только в отношении дегранулирующих и деструктурированных эозинофилов, ИДК которых был достоверно выше, чем в группе 1 (см. табл. 2). Вероятно, это было связано с более интенсивным накоплением в дыхательных путях курильщиков пероксидазы гранулярных лейкоцитов, преимущественно нейтрофильных.

Таблица 2

Table 2

Клеточный состав индуцированной мокроты и показатели деструктивно-цитолитической активности нейтрофилов и эозинофилов у больных БА, $M \pm m$

Cellular composition of induced sputum and the indices of destruction and intensity of cytolysis of neutrophils and eosinophils in patients with asthma, $M \pm m$

Показатель Parameter	Группа 1, $n = 102$ Group 1, $n = 102$	Группа 2, $n = 43$ Group 2, $n = 43$	p
Цитоз, % Cytosis, %	$2,8 \pm 0,2$	$2,9 \pm 0,38$	0,672
Нейтрофилы, % Neutrophils, %	$23,9 \pm 1,4$	$34,1 \pm 3,0$	0,0006
Макрофаги, % Macrophages, %	$52,7 \pm 1,6$	$44,0 \pm 2,9$	0,007
Эозинофилы, % Eosinophils, %	$19,6 \pm 1,2$	$15,0 \pm 1,9$	0,034
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	$2,9 \pm 0,17$	$3,1 \pm 0,50$	0,663
БЭ, % Bronchial epithelium, %	$1,7 \pm 0,21$	$1,5 \pm 0,38$	0,701
БК, % Goblet cells, %	$0,10 \pm 0,06$	$0,21 \pm 0,08$	0,634
ГП БК, % Number of goblet cells containing glycoproteins, %	$56,7 \pm 7,3$	$47,3 \pm 8,7$	0,543
СЦК МПО, пиксель MPO, pixels	$79,1 \pm 3,5$	$96,6 \pm 9,1$	0,031
ИЦ нейтрофилов, усл. ед IC of neutrophils, units	$0,44 \pm 0,02$	$0,41 \pm 0,04$	0,535
ИЦ эозинофилов, усл. ед IC of eosinophils, units	$0,28 \pm 0,03$	$0,23 \pm 0,03$	0,874
ИДК нейтрофилов, усл. ед ICD of eosinophils, units	$0,49 \pm 0,02$	$0,47 \pm 0,03$	0,893
ИДК эозинофилов, усл. ед ICD of eosinophils, units	$0,39 \pm 0,02$	$0,45 \pm 0,02$	0,043

Примечание. БЭ – бронхиальный эпителий; БК – бокаловидные клетки; ГП БК – количество бокаловидных клеток, содержащих гликопротеины; СЦК МПО – средний цитохимический коэффициент активности миелопероксидазы; ИЦ – индекс деструкции клеток; ИДК – индекс интенсивности цитолиза.

Note. Here and in Table 3: MPO – myeloperoxidase; ICD – index of cell destruction; IC – index of cytolysis.

Резервирование в бронхах курящих пациентов большого количества нейтрофильной МПО, очевидно, связано с усугублением окислительно-восстановительного дисбаланса путем снижения на определенных этапах активности деструкции и цитолиза нейтрофилов с целью дальнейшей наиболее эффективной индукции праймированными нейтрофилами воспаления и оксидативного стресса в результате накопления в лизосомальных цитоплазматических гранулах окислительно-ферментативного запаса.

Количество бокаловидных эпителиоцитов, дающих положительную цитохимическую реакцию на гликопротеины и ГАГ, превалировало в группе 1 (табл. 2). В группе 2 прослеживалось падение

уровня гликопротеинов в бокаловидных клетках, что подтверждалось, наряду с признаками более выраженной дезорганизации бокаловидного эпителия, более значимой деструктивно-цитолитической и секреторной муциновой эпителиальной активностью, обуславливающей высвобождение мукопротеидов из цитоплазмы бокаловидных клеток (табл. 3).

Так, показатели ИДК БК и ИЦ БК, характеризующие деструктивную и цитолитическую активность бокаловидных клеток, у курящих пациентов были выше, чем у лиц группы 1. В мокроте курящих больных превалировало содержание бокаловидных клеток, подвергшихся наибольшему разрушению: II, III и IV классов деструкции.

Таблица 3
Table 3

Индексы деструкции клеток и интенсивности цитолиза бронхиального эпителия и бокаловидных клеток, классы деструкции клеток бронхиального эпителия и бокаловидных клеток больных БА, $M \pm m$ Indices of destruction and cytolysis of bronchial epithelium and goblet cells, classes of destruction of cells in patients with asthma, $M \pm m$			
Показатель Parameter	Группа 1, $n = 102$ Group 1, $n = 102$	Группа 2, $n = 43$ Group 2, $n = 43$	p
Бронхиальный эпителий Bronchial epithelium			
ИДК ICD	$0,55 \pm 0,02$	$0,47 \pm 0,03$	0,039
ИЦ IC	$0,43 \pm 0,02$	$0,32 \pm 0,03$	0,010
N_0	$45,3 \pm 2,1$	$53,4 \pm 2,6$	0,050
N_1	$8,1 \pm 0,84$	$9,7 \pm 1,4$	0,362
N_2	$2,8 \pm 0,23$	$4,3 \pm 0,55$	0,004
N_3	$1,1 \pm 0,18$	$1,7 \pm 0,40$	0,375
N_4	$42,5 \pm 2,4$	$31,5 \pm 2,9$	0,013
Бокаловидные клетки Goblet cells			
ИДК ICD	$0,40 \pm 0,02$	$0,47 \pm 0,02$	0,044
ИЦ IC	$0,15 \pm 0,02$	$0,22 \pm 0,02$	0,047
N_0	$60,5 \pm 3,1$	$52,5 \pm 2,1$	0,047
N_1	$15,4 \pm 2,4$	$14,5 \pm 1,7$	0,808
N_2	$6,8 \pm 0,89$	$8,7 \pm 0,86$	0,146
N_3	$2,8 \pm 0,76$	$2,9 \pm 0,96$	0,934
N_4	$14,5 \pm 1,6$	$21,7 \pm 2,4$	0,043

Примечание. N_0, N_1, N_2, N_3, N_4 – количество клеток 0, I, II, III, IV классов деструкции, %.

Note. N_0, N_1, N_2, N_3, N_4 – the number of cells of the corresponding class of destruction, %.

Содержание наименее разрушенных бокаловидных клеток I класса деструкции и сохранивших структурную целостность ядра и цитоплазмы бокаловидных клеток 0 класса деструкции, напротив, доминировало в группе 1 (см. табл. 3).

Снижение содержания бронхиального эпителия в цитограммах мокроты курящих лиц по сравнению с некурящими (см. табл. 2), скорее всего, связано с бокаловидно-клеточной гиперплазией эпителиального пласта бронхов и замещением бокаловидными клетками мерцательных и камбиальных клеточных элементов. В мокроте больных группы 2 среди деструктурированных клеток бронхиального эпителия преобладали клетки с 0 по III класс деструкции, тогда как процентное содержание клеток с полной деструкцией с распадом цитоплазмы и ядра (IV класс) присутствовало в достоверно меньшем количестве относительно больных группы 1 (см. табл. 3). Кроме того, у последних были получены более высокие расчетные величины ИДК и ИЦ бронхиального эпителия, что свидетельствовало об уязвимости бронхиального эпителиального пласта в целом у некурящих больных. Курящие пациенты характеризовались приоритетным и более значительным повреждением бокаловидного компонента эпителия, сопровождающимся ростом муциновой активности секреторных клеток и инициирующей оксидативный стресс пероксидазной активности нейтрофильного звена воспалительного паттерна бронхов.

Нами обнаружена тесная корреляционная связь между деструктивно-цитолитической активностью клеточных элементов ИМ и степенью выраженности реакции дыхательных путей в ответ на холодовую бронхопровокацию (табл. 4).

Таблица 4
Table 4

Корреляционные взаимосвязи между деструктивно-цитолитической активностью клеточных элементов ИМ и степенью выраженности реакции дыхательных путей на холодовую бронхопровокацию у курящих астматиков (группа 2) Correlation between the destructive and cytolytic activity of cellular elements in IS and the degree of airway hyperresponsiveness to cold-air bronchoprovocation in smokers with asthma (Group 2)						
Показатель Parameter	ИДК _{БЭ} ICD bronchial epithelium	ИЦ _{БЭ} IC bronchial epithelium	$N_{0\text{ БЭ}}$ N_0 bronchial epithelium	$N_{4\text{ БЭ}}$ N_4 bronchial epithelium	ИДК _{БК} ICD goblet cells	$N_{0\text{ БК}}$ N_0 goblet cells
$\Delta\text{ОФВ}_{1\text{ ИГХВ}}$ $\Delta\text{FEV}_{1\text{ ИСА}}$	$r = -0,44$; $p = 0,011$	$r = -0,44$; $p = 0,011$	$r = 0,49$; $p = 0,0004$	$r = -0,44$; $p = 0,011$	$r = -0,57$; $p = 0,086$	$r = 0,57$; $p = 0,086$
$\Delta\text{МОС}_{50\text{ ИГХВ}}$ $\Delta\text{FEF}_{50\text{ ИСА}}$	$r = -0,57$; $p = 0,0001$	$r = -0,42$; $p = 0,016$	$r = 0,57$; $p = 0,0001$	$r = -0,44$; $p = 0,018$	$r = -0,68$; $p = 0,031$	$r = 0,68$; $p = 0,031$
$\Delta\text{МОС}_{25-75\text{ ИГХВ}}$ $\Delta\text{FEF}_{25-75\text{ ИСА}}$	$r = -0,59$; $p = 0,0004$	$r = -0,49$; $p = 0,004$	$r = 0,60$; $p = 0,0003$	$r = -0,48$; $p = 0,005$	$r = -0,67$; $p = 0,033$	$r = 0,67$; $p = 0,033$

ОБСУЖДЕНИЕ

Как известно, оксидативный стресс лежит в основе механизма формирования гиперреактив-

ности бронхов у курильщиков, а также принимает участие в появлении чрезмерной реакции бронхов на холодное воздействие у больных астмой

[13]. При вдыхании табачного дыма, содержащего большое количество свободных радикалов, в дыхательных путях курильщиков нарушается равновесие в системе прооксиданты–антиоксиданты с превалированием оксидантов и активацией пула нейтрофилов [2]. Аналогичным образом при бронхоспазме в паренхиме легких усиленно синтезируются АФК, пероксинитрит, гипохлорит [18, 19], модифицирующие активность ядерного транскрипционного фактора NF-kB с последующей стимуляцией экспрессии генов провоспалительных цитокинов [20], увеличением генерации циркулирующих нейтрофилов и миграции гранулоцитов в очаг воспаления [21].

Активация нейтрофилов, установленная у курящих лиц [2], в том числе у курящих больных БА с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей, обуславливающая в последнем случае высокий уровень дезорганизации и деструкции бокаловидного эпителия, приводит к свободно-радикальному повреждению крист митохондрий и деэнергизации эпителиоцитов, разрушению эндоплазматического ретикулума и гибели клеток [22]. Деэнергизация эпителиоцитов считается альтернативным путем, опосредующим развитие клеточного апоптоза, в отличие от традиционного прямого пути передачи сигналов апоптоза – от лигирования рецептора смерти до активации каспазного каскада и гибели клеток [22]. При астме эпителиальная дисфункция потенцируется низким уровнем экспрессии факторов антиоксидантной защиты, таких как супероксиддисмутаза, которые способствуют увеличению восприимчивости эпителиальных клеток к агрессивному действию оксидантов, в частности продуцируемых гранулоцитами [23].

Ключевым механизмом воспалительного повреждения эпителия со стороны активированных нейтрофилов выступает респираторный взрыв, сопровождаемый экзоцитозом МПО. В результате взаимодействия МПО с H_2O_2 генерируются высокореакционные галогенсодержащие соединения, модифицирующие функциональные группы белков, липидов, гликопротеинов, нуклеиновых кислот и других жизненно важных молекул [24]. Биологическая конструкция МПО– H_2O_2 конвертирует оксидативный стресс в галогенирующий с образованием, помимо АФК, активных форм галогенов и нарастанием воспалительной альтерации тканей [24].

Выраженное нарушение структурной организации бокаловидного эпителия, эскалация продукции и секреции гликопротеинов и кислых ГАГ, манифестирующие мукостаз и снижение мукоцилиарного клиренса в бронхах, у курящих больных

БА ассоциированы с риском увеличения реакции дыхательных путей на воздействие холодного воздуха и усилением воспаления. Персистенция воспаления базируется у таких пациентов на нейтрофилии бронхиального инфильтрата, способствуя появлению высокой лабильности бронхов в ответ на холодовой стимул и β_2 -агонисты. Согласно данным литературы, гранулоцитарный нейтрофилез и нейтрофильный тип воспаления дыхательных путей коррелируют с системным воспалением у астматиков, клинические результаты лечения которых оказываются хуже, чем у пациентов с ненейтрофильным фенотипом [25].

В проведенных нами ранее исследованиях, касающихся деструкции эпителия бронхов у больных тяжелой БА с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей, высокий уровень эпителиальной дисфункции [26], сопряженной с хроническим воспалением, супрессией антиоксидантной и иммунной защиты, ремоделированием бронхов [27], рассматривался в качестве морфологического маркера инертности достижения контроля над болезнью [11]. Массивное повреждение эпителия с преобладанием III и IV классов деструкции служит одним из параметров ремоделирования слизистой оболочки бронхов и ассоциируется со смешанным паттерном бронхиального воспаления, в котором активация нейтрофильного пула оказывает негативное влияние на клиническое течение тяжелой неконтролируемой астмы [11].

Аналогичным образом можно утверждать, что более выраженные бокаловидно-клеточная гиперплазия и активация муциновой секреции у курящих больных БА, индуцирующие на фоне нейтрофилии бронхиального воспалительного инфильтрата мукоцилиарную недостаточность и ремоделирование дыхательных путей, способствуют ухудшению проходимости и появлению высокой лабильности бронхов. Кроме того, наиболее значимая перестройка citoархитектоники десмо-эпителиального барьера слизистой оболочки респираторного тракта у курящих пациентов ассоциируется с усилением реакции дыхательных путей на холодный воздух. Одним из ведущих факторов, инициирующих дезорганизацию и разрушение бокаловидного эпителия и, следовательно, оказывающих негативное влияние на клиническое течение астмы, является рост оксидантной миелопероксидазной активности нейтрофилов и эозинофилов дыхательных путей. Связанная с табакокурением гиперпродукция гранулоцитами МПО, обеспечивающая повышение содержания в экстрацеллюлярном пространстве бронхов АФК и активных форм галогенов, принимает участие в эскалации оксида-

тивного стресса и развитии бронхоспастической реакции больных БА на холодовой триггер.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Табакокурение у больных БА приводит к нарушению структуры бокаловидного эпителия бронхов с усилением деструктивно-цитолитических процессов, что сопровождается снижением уровня содержания гликопротеинов в цитоплазме, увеличением секреторной активности бокаловидных клеток, нейтрофилией, усилением оксидативной пероксидазной активности гранулоцитов, инфильтрирующих дыхательные пути. Структурная дезорганизация бокаловидного эпителия, обусловленная активацией нейтрофильного пула бронхиальных гранулоцитов, влечет за собой ухудшение бронхиальной проходимости и усиление реакции дыхательных путей на воздействие холодного воздуха.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Гамбарян М.Г. Хронические респираторные заболевания и потребление табака (обзор). *Медицинский совет*. 2016; 17: 144–152. [Gambaryan M.G. Chronic respiratory diseases and tobacco use (review). *Medical Council*. 2016; 17: 144–152 (in Russ.)]. DOI: 10.21518/2079-701X-2016-17-144-152.
2. Краснова Ю.Н. Влияние табачного дыма на органы дыхания. *Сибирский медицинский журнал*. 2015; 137 (6): 11–16. [Krasnova Yu.N. Effect of tobacco smoke on the respiratory system. *Siberian Medical Journal*. 2015; 137 (6): 11–16 (in Russ.)].
3. Backman H., Hedman L., Jansson S., Lindberg A., Lundbäck B., Rönmark E. Prevalence trends in respiratory symptoms and asthma in relation to smoking – two cross-sectional studies ten years apart among adults in northern Sweden. *World Allergy Organ. J.* 2014; 7 (1): 1–7. DOI: 10.1186/1939-4551-7-1.
4. Polosa R., Russo C., Caponnetto P., Bertino G., Sarva M., Antic T., Mancuso S., Al-Delaimy W. Greater severity of new onset asthma in allergic subjects who smoke: a 10-year longitudinal study. *Respiratory Research*. 2011; 12 (1): 16. DOI: 10.1186/1465-9921-12-16.
5. Chalmers G.W., Macleod K.J., Little S.A., Thomson L.J., McSharry C.P., Thomson N.C. Influence of cigarette smoking on inhaled corticosteroid treatment in mild asthma. *Thorax*. 2002; 57 (3): 226–230. DOI: 10.1136/thorax.57.3.226.
6. Thomson N.C., Spears M. The influence of smoking on the treatment response in patients with asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2005; 5 (1): 57–63. DOI: 10.1097/00130832-200502000-00011.
7. Boulet L.P., FitzGerald J.M., McIvor R.A., Zimmerman S., Chapman K.R. Influence of current or former smoking on asthma management and control. *Can. Respir. J.* 2008; 15 (5): 275–279. DOI: 10.1155/2008/725074.
8. Перельман Н.Л. Влияние табакокурения на связанное со здоровьем качество жизни у больных бронхиальной астмой. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2014; 53: 30–35. [Perelman N.L. Effects of tobacco smoking on health-related quality of life in patients with asthma. *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration*. 2014; 53: 30–35 (in Russ.)].
9. Juusela M., Pallasaho P., Rönmark E., Sarna S., Sovijärvi A., Lundbäck B. Dose-dependent association of smoking and bronchial hyperresponsiveness. *Eur. Respir. J.* 2013; 42: 1503–1512. DOI: 10.1183/09031936.00073712.
10. Пирогов А.Б., Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Зиновьев С.В. Влияние нейтрофильного компонента бронхиального воспаления на уровень контроля болезни и функцию внешнего дыхания у больных бронхиальной астмой. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2016; 61: 16–24. [Pirogov A.B., Perelman J.M., Prikhodko A.G., Zinov'ev S.V. Influence of the neutrophilic component of bronchial inflammation on the level of disease control and lung function in patients with asthma. *Bulletin Physiology and Pathology of Respiration*. 2016; 61: 16–24 (in Russ.)]. DOI: 10.12737/21434.
11. Пирогов А.Б., Колосов В.П., Перельман Ю.М., Приходько А.Г., Зиновьев С.В., Гассан Д.А., Мальцева Т.А. Особенности воспалительных паттернов бронхов и клинично-функциональная характеристика тяжелой неконтролируемой астмы у больных с холодовой гиперреактивностью дыхательных путей. *Пульмонология*. 2016; 26 (6): 701–707. [Pirogov A.B., Kolosov V.P., Perelman J.M., Prikhod'ko A.G., Zinov'ev S.V., Gassan D.A., Mal'tseva T.A. Airway inflammation patterns and clinical and functional features in patients with severe uncontrolled asthma and cold-induced airway hyperresponsiveness. *Russian Pulmonology*. 2016; 26 (6): 701–707 (in Russ.)]. DOI: 0.18093/086901892016266701707.
12. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention (Updated 2016). URL: <http://www.ginasthma.com>.
13. Приходько А.Г., Перельман Ю.М., Колосов В.П. Гиперреактивность дыхательных путей. Владивосток: Дальнаука, 2011: 204. [Prikhodko A.G., Perelman J.M., Kolosov V.P. Airway hyperresponsiveness. Vladivostok: Dal'nauka Publ., 2011: 204 (in Russ.)].
14. Bakakos P., Schleich F., Alchanatis M., Louis R. Induced sputum in asthma: From bench to bedside. *Curr. Med. Chem.* 2011; 18 (10): 1415–1422. DOI: 10.2174/092986711795328337.
15. Матвеева Л.А. Местная защита респираторного тракта у детей. Томск: Издательство Томского университета, 1993: 276. [Matveeva L.A. Local protection of the respiratory tract in children. Tomsk: Tomsk University Publ., 1993: 276 (in Russ.)].
16. Хейхоу Ф.Г.Дж., Кваглино Д. Гематологическая цитохимия; пер. с англ.; под ред. Н.С. Кисляк. М.:

- Медицина, 1983: 319. [Hauhoe F.G.J., Quaglini D. Hematologic cytochemistry. per. s angl; pod red. N.S. Kislyak. Moscow: Meditsina Publ., 1983 (in Russ.)].
17. Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике в 2 т.; под ред. А.И. Карпищенко; 3-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012: 472. [Medical laboratory technologies: a guide on clinical laboratory diagnostics in 2 vol.; pod red. A.I. Karpishhenko; 3-e izd., pererab. i dop. Moscow: GEHOTAR-Media Publ., 2012: 472 (in Russ.)].
 18. Соодаева С.К., Климанов И.А. Нарушения окислительного метаболизма при заболеваниях респираторного тракта и современные подходы к антиоксидантной терапии. Атмосфера. Пульмонология и аллергология. 2009; 1: 34–38. [Soodaeva S.K., Klimanov I.A. Disorders of oxidative metabolism in respiratory diseases and modern approaches to antioxidant therapy. *Atmosphere. Pulmonology and Allergology*. 2009; (1): 34–38 (in Russ.)].
 19. Соодаева С.К. Свободнорадикальные механизмы повреждения при болезнях органов дыхания. Пульмонология. 2012; 1: 5–10. [Soodaeva S.K. Free radical mechanisms of injury in respiratory disease. *Russian Pulmonology*. 2012; 1: 5–10 (in Russ.)]. DOI: 10.18093/0869-0189-2012-0-1-5-10.
 20. Jin Y.S., Park K.K., Park J.Y., Kim M.J., Lee W.L., im H.Y., Lee H. J., Park E.K. Effects of exercise induced oxidative stress and antioxidant supplementation on NF-kB activation in peripheral mononuclear cells. *Korean J. Sports Med*. 2000; 18 (2): 261–270.
 21. Васильева Г.И., Иванова И.А., Тюкавкина С.Ю. Кооперативное взаимодействие моно- и полинуклеарных фагоцитов, опосредованное моно- и нейтрофилокинами. *Иммунология*. 2000; 5: 11–17. [Vasil'eva G.I., Ivanova I.A., Tyukavkina S.Yu. Cooperative interaction of mono- and polynucleated phagocytes, mediated by mono- and neutrophilokines. *Immunology*. 2000; (5): 11–17 (in Russ.)].
 22. Kuwano K. Epithelial cell apoptosis and lung remodeling. *Cell. Mol. Immunol*. 2007; 4 (6): 419–429.
 23. Конищева А.Ю., Гervазиева В.Б., Лаврентьева Е.Е. Особенности структуры и функции респираторного эпителия при бронхиальной астме. Пульмонология. 2012; 5: 85–91. [Konishcheva A.Y., Gervazieva V.B., Lavrentyeva E.E. Changes in the structure and function of respiratory epithelium in bronchial asthma. *Russian Pulmonology*. 2012; 5: 85–91 (in Russ.)]. DOI: 10.18093/0869-0189-2012-0-5-85-91.
 24. Панасенко О.М., Сергиенко В.И. Галогенирующий стресс и его биомаркеры. Вестник Российской АМН. 2010; 1: 27–39. [Panasenko O.M., Sergienko V.I. Halogenated stress and its biomarkers. *Herald of RAMS*. 2010; 1: 27–39 (in Russ.)].
 25. Wood L.G., Baines K.I., Fu J. Scott H.A., Gibson P.G. The neutrophilic inflammatory phenotype is associated with systemic inflammation in asthma. *Chest*. 2012; 142 (1): 86–93. DOI: 10.1378/chest.11-1838.
 26. Pirogov A.B., Zinov'ev S.V., Perelman J.M., Prikhodko A.G., Kolosov V.P. Destructive-cytolytic activity of bronchial epithelium and its influence on the development of cold airway hyperresponsiveness in patients with asthma. *Respirology*. 2017; 22 (3): 172.
 27. Holgate S.T. Epithelium dysfunction in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2007; 120 (6): 1233–1244. DOI: 10.1016/j.jaci.2007.10.025.

Вклад авторов

Пирогов А.Б. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, написание статьи. Приходько А.Г. – обоснование рукописи, проверка критически важного интеллектуального материала. Колосов В.П. – проверка критически важного интеллектуального материала, окончательное утверждение для публикации рукописи. Перельман Ю.М. – разработка концепции и дизайна, проверка критически важного интеллектуального материала.

Authors contribution

Pirogov A.B. – conception and design, analysis and interpretation of the data, drafting of the manuscript. Prikhodko A.G. – justification of the manuscript, critical revision of the article for important intellectual content. Kolosov V. – critical revision of the article for important intellectual content, final approval of the manuscript for publication. Perelman Yu.M. – conception and design, critical revision of the article for important intellectual content.

Сведения об авторах

Пирогов Алексей Борисович, канд. мед. наук, доцент, ст. науч. сотрудник, лаборатория профилактики неспецифических заболеваний легких, Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, г. Благовещенск. ORCID ID 0000-0001-5846-3276.

Authors information

Pirogov Aleksey B., PhD, Associate Professor, Senior Scientist, Laboratory of Prophylaxis of Nonspecific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology, Blagoveschensk, Russian Federation. ORCID ID 0000-0001-5846-3276.

Приходько Анна Григорьевна, д-р мед. наук, гл. науч. сотрудник, лаборатория функциональных методов исследования дыхательной системы, Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, г. Благовещенск. ORCID ID 0000-0003-2847-7380.

Колосов Виктор Павлович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, директор Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания, г. Благовещенск. ORCID ID 0000-0002-8854-4752.

Перельман Юлий Михайлович, д-р мед. наук, профессор, руководитель лаборатории функциональных методов исследования дыхательной системы, Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, г. Благовещенск. ORCID ID 0000-0002-9411-7474.

(✉) **Перельман Юлий Михайлович**, e-mail: jperelman@mail.ru.

Prikhodko Anna G., DM, Chief Scientist, Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology, Blagoveshchensk, Russian Federation. ORCID ID 0000-0003-2847-7380.

Kolosov Victor P., DM, Professor, Director of the Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology, Blagoveshchensk, Russian Federation. ORCID ID 0000-0002-9411-7474.

Perelman Juliy M., DM, Professor, Head of the Laboratory of Functional Research of Respiratory System, Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology, Blagoveshchensk, Russian Federation. ORCID ID 0000-0002-9411-7474.

(✉) **Perelman Juliy M.**, e-mail: jperelman@mail.ru.

Поступила в редакцию 28.04.2018

Подписана в печать 11.06.2019

Received 28.04.2018

Accepted 11.06.2019

Молекулярное моделирование взаимодействия дигидрокверцетина и его метаболитов с циклооксигеназой-2

Терехов Р.П.^{1,2}, Селиванова И.А.¹

¹ Первый Московский государственный медицинский университет (МГМУ) им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет)
Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2

² Институт клеточной терапии и иммунологии им. Фраунгофера
Германия, 04103, г. Лейпциг, ул. Перлихтштрассе, 1

РЕЗЮМЕ

Введение. Дигидрокверцетин (ДКВ) – природный флавоноид с широким спектром фармакологических свойств, в том числе противовоспалительных. Отсутствие достоверной информации о биохимических путях реализации терапевтической активности замедляет разработку лекарственных препаратов на его основе. Молекулярное моделирование призвано способствовать трансляции исследований из области фундаментальной науки в область реальной клинической практики.

Цель работы – оценить возможность применения ДКВ как ингибитора циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) методом *in silico*.

Материалы и методы. Информация о структуре ЦОГ-2 получена из базы данных Protein Data Bank (код структуры: 5KIR). 3D-модели лигандов сгенерированы в программе ChemBioDraw Ultra. Докинг осуществляли в программе GOLD после соответствующей валидации алгоритмов молекулярного моделирования на основе экспериментальных данных рентгеноструктурного анализа.

Результаты. Дизайн исследования базировался на рациональном подходе к выбору виртуальных структур лигандов, что позволило существенно сократить количество моделей, направленных на квантово-механический расчет. Посредством анализа *in silico* продемонстрирована способность ДКВ и некоторых его метаболитов селективно связываться с ЦОГ-2 в циклооксигеназном сайте, образуя водородные связи с SER353, SER530 и ARG513.

Заключение. В ходе данного исследования выявлены возможные α -аминокислоты, которые играют существенную роль при взаимодействии ДКВ и его метаболитов с ЦОГ-2. Полученные данные могут быть использованы для разработки противовоспалительных лекарственных препаратов на основе ДКВ.

Ключевые слова: молекулярное моделирование, докинг, дигидрокверцетин, активные метаболиты, циклооксигеназа-2, противовоспалительная активность.

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.

Для цитирования: Терехов Р.П., Селиванова И.А. Молекулярное моделирование взаимодействия дигидрокверцетина и его метаболитов с циклооксигеназой-2. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 101–106. [https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2019-3-101–106](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-101-106).

УДК 57.052:577.352.334: 547.972.35

[https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2019-3-101-106](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-101-106)

Molecular modeling of the interaction of the dihydroquercetin and its metabolites with cyclooxygenase-2

Terekhov R.P.^{1,2}, Selivanova I.A.¹¹ *Sechenov University**8/2 Bolshaya Pirogovskaya Str., Moscow, 119991, Russian Federation*² *Fraunhofer Institute for Cell Therapy and Immunology**1 Perlickstraße, Leipzig, 04103, Germany*

ABSTRACT

Background. Dihydroquercetin (DHQ) is a natural flavonoid. It has a wide range of pharmacological effects, which includes anti-inflammatory activity. There is a gap in our knowledge about the biochemical mechanisms of the therapeutic potency implementation of this compound. This fact slows down the process of the drug development using DHQ. Molecular modeling is designed to further translate the research from the fundamental experimentation to the real clinical practice.

Purpose. The study objective was to estimate DHQ as a cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor by using *in silico* analysis.

Materials and methods. The information about the COX-2 structure was obtained from the Protein Data Bank (code 5KIR). The 3D-models of DHQ were generated by using the ChemBioDraw Ultra software. Docking was carried out in the GOLD program after the corresponding validation of molecular modeling algorithms based on experimental data of X-ray diffraction analysis.

Results. The design of this study is based on the rational selecting of the virtual ligand structures. It gives an opportunity to optimize the quantum-mechanical calculation. By using *in silico* analysis, it was shown that DHQ and some of its metabolites demonstrate ability of binding to SER353, SER530, and ARG513 of COX-2 at the catalytic site.

Conclusion. Important α -amino acids for intermolecular interaction of DHQ and its metabolites with COX-2 were determined during this study. Our data can be used for the development of new anti-inflammatory drugs on the base of DHQ.

Key words: molecular modeling, docking, dihydroquercetin, active metabolites, cyclooxygenase-2, anti-inflammatory activity.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local ethics committee under SSMU (Protocol No. 4346 of 16.11.2015).

For citation: Terekhov R.P., Selivanova I.A. Molecular modeling of the interaction of the dihydroquercetin and its metabolites with cyclooxygenase-2. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 101–106. [https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2019-3-101-106](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-101-106).

ВВЕДЕНИЕ

Фармакологические эффекты нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) ассоциированы с ингибированием циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) [1]. В результате снижения активности

этого фермента уменьшается синтез простагландинов из арахидоновой кислоты в циклооксигеназном сайте, благодаря чему достигается противовоспалительное, анальгезирующее и жаропонижающее действие. На данный момент на фармацевтическом рынке России имеется

широкий ассортимент НПВС, однако селективные ингибиторы ЦОГ-2 характеризуются более приемлемым профилем безопасности [1]. При этом важно отметить, что среди НПВС практически отсутствуют монопрепараты соединений растительного происхождения, хотя отмечено, что значительная доля пациентов предпочитает лекарственные препараты с действующим веществом, полученным из растительного сырья [2].

Дигидрокверцетин (ДКВ), известный в зарубежной литературе как таксифолин, является природным биологически активным флавоноидом, который получается в промышленных масштабах из комлевой части древесины лиственницы. Мажорным компонентом коммерчески доступной субстанции (ФС № 000388-270812) является (2*R*,3*R*)-изомер [3]. ДКВ проявляет широкий спектр фармакологических эффектов, в том числе противовоспалительный [4]. В последнее время накапливается все больше данных о селективном взаимодействии ДКВ с биологическими мишенями [5, 6]. Насыщенные связи в кольце С (рис. 1) обуславливают гибкость пространственной структуры ДКВ, позволяя закрепляться в сайтах связывания, недоступных для других флавоноидов.

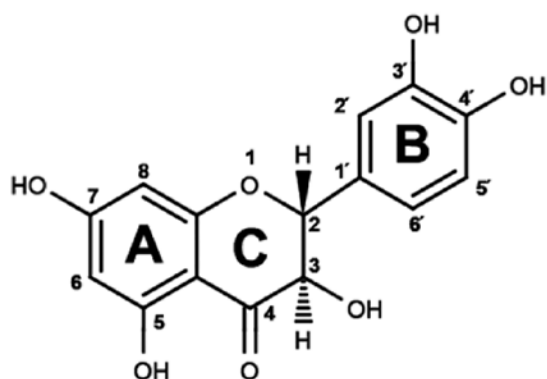


Рис. 1. Структура дигидрокверцетина

Fig. 1. The structure of dihydroquercetin

Вместе с тем при попадании в организм ДКВ подвергается химическому превращению с образованием более чем 190 различных метаболитов [7]. Это обстоятельство затрудняет вопрос выявления биологических мишеней и установления фармакофорных структурных элементов для данного соединения, что, в свою очередь, замедляет разработку новых лекарственных препаратов.

Применение компьютерных методов для молекулярного моделирования призвано способствовать трансляции фундаментальных исследований в область практических опытно-конструкторских разработок [8]. Одним из наиболее быстрых и экономичных подходов в компьютерном анализе

(*in silico*), особенно актуальных для виртуального скрининга фармакологической активности, является докинг-метод, основанный на расчетах квантово-механических супрамолекулярных взаимодействий между лигандом и биологической мишенью [9].

Цель исследования – оценить возможность применения дигидрокверцетина как ингибитора циклооксигеназы-2, используя методы молекулярного моделирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Из 51 трехмерной модели ЦОГ-2, представленной в базе данных виртуальных структур биополимеров Protein Data Bank (дата обращения 7.02.2017, Research Collaboratory for Structural Bioinformatics, Сан-Диего, США), был выбран объект с кодом 5KIR, полученный методом рентгеноструктурного анализа (РСА) и опубликованная B.J. Orlando, M.G. Malkowski [10]. Отбор проводился по таким признакам, как видоспецифичность и разрешение виртуальной модели.

В качестве генератора трехмерных структур лигандов использовали конструктор виртуальных моделей ChemBioDraw Ultra (v. 13.0, PerkinElmer, г. Уолтем, США). Информация о структуре метаболитов была получена на основе контент-анализа научной литературы [7].

Докинг проводили в виртуальном пространстве программы для молекулярного моделирования GOLD (v. 5.4, CCDC, г. Кембридж, Великобритания). Данная программа позволяет проводить расчет несколькими генетическими алгоритмами, которые применяются с целью найти оптимальные супрамолекулярные комплексы посредством последовательных преобразований структуры лиганда с сохранением наиболее выгодных решений. Докинг запускали по 10 раз для каждого лиганда.

Для выбора наиболее приемлемого генетического алгоритма выполнили валидацию методов расчета с использованием виртуальных моделей рофекоксиба и данных РСА (код в базе данных Protein Data Bank: 5KIR). Анализ подвергли два алгоритма. Один из них, называемый ChemScore, включает расчет энергии образования супрамолекулярной структуры с учетом базовой энергии молекул, энергии ротации связи, липофильности соединений и водородных межмолекулярных связей. Другой метод, GoldScore, предполагает квантово-механический расчет на основе энергий водородных связей, ван-дер-ваальсовых взаимодействий и энергии напряжения торсионных углов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Модель 5KIR содержит информацию о структуре белка, полученного от представителя *Homo sapiens*. Разрешение 5KIR – 2,7 Е, что меньше 3,0 Е и, таким образом, данная модель приемлема для проведения молекулярного моделирования и получения достоверных результатов.

Для оптимизации дизайна исследования необходимо было выявить и локализовать сайт связывания лигандов с биологической мишенью (рис. 2), в пределах которого проводилось дальнейшее моделирование. В результате анализа данных было установлено, что к циклооксигеназному сайту ведет сравнительно небольшой канал диаметром около 5,5 Е. Данная особенность биологической мишени позволяет исключить из анализа крупные димеры ДКВ, образующиеся в результате его метаболизма.

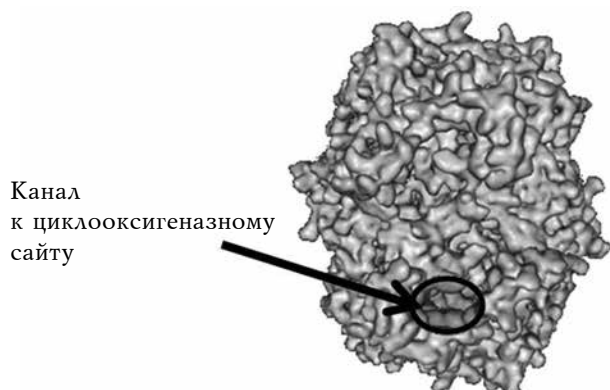


Рис. 2. Виртуальная модель поверхности Ван-дер-Ваальса циклооксигеназы-2

Fig. 2. Virtual surface model of van der Waals cyclooxygenase-2

В ходе валидации методов молекулярного моделирования установлено, что расчеты с использованием GoldScore лучше согласуются с экспериментальными данными (рис. 3). Также отмечено, что наиболее важные фармакофорные группы, к которым следует отнести фенольную гидроксильную группу в положении 5 и вторичную спиртовую гидроксильную группу в положении 3, содержат электроотрицательные атомы. С ними образуют водородные связи аминокислотные остатки серина, находящиеся на 353 (SER353) и 530 (SER530) позициях первичной структуры белка. Селективность по отношению к ЦОГ-2 достигается за счет образования водородной связи между фармакофором (фенольной гидроксильной группой в положении 4') и аргинином в позиции 513 (ARG513) в обход валину в положении 523 (важно отметить, что аминокислоты в 523-м положении неодинаковы для различных циклооксигеназ).

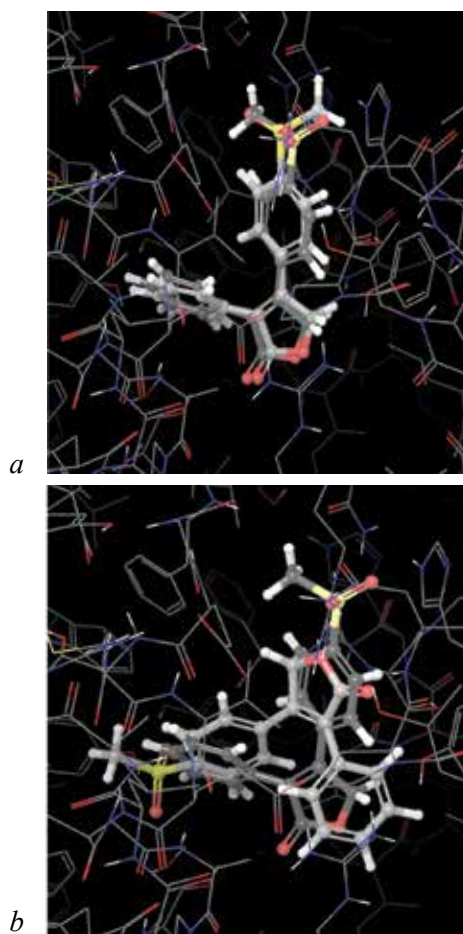


Рис. 3. Суперпозиция виртуальных моделей по данным рентгеноструктурного анализа (темно-серый цвет) и результатов валидации (светло-серый цвет): *a* – валидация алгоритма GoldScore; *b* – валидация алгоритма ChemScore

Fig. 3. Superposition of virtual models by X-ray diffraction data (dark gray color) and validation results (light gray color): *a* – alidation of the GoldScore algorithm; *b* – ChemScore algorithm validation

Была сформирована база виртуальных структур ДКВ и его оставшихся, отобранных по размеру, метаболитов с учетом различных возможных конформаций, которая включала 214 различных 3D-моделей. В общей сложности проведено более 2 000 квантово-механических расчетов.

ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам анализа *in silico*, все исследуемые виртуальные структуры можно условно разделить на три группы. Стереоизомеры ДКВ и те метаболиты, структура которых содержит три кольца (А, В и С), способны связываться с биологической мишенью по трем наиболее важным аминокислотным остаткам: SER353, SER530 и ARG513 (рис. 4, *a*). Метаболиты, сохраняющие

элементы двух колец (А и С или В и С), способны закрепляться в циклооксигеназном сайте, однако при этом не образуется связь с ARG513 (рис. 4, *b*).

Таким образом, у данной группы лигандов можно предполагать отсутствие селективности к

ЦОГ-2. К третьей группе можно отнести метаболиты, сохранившие лишь одно кольцо, модели таких соединений обладали слабой способностью к закреплению в сайте связывания исследуемой биологической мишени (рис. 4, *c*).

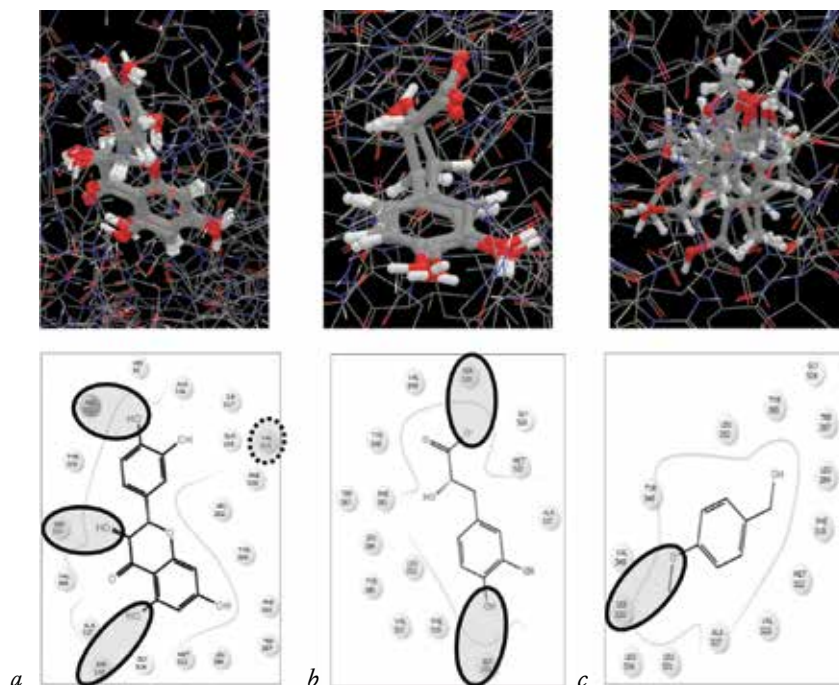


Рис. 4. Влияние структуры на способность лигандов связываться с ЦОГ-2: *a* – лиганды, содержащие в структуре кольца А, В и С; *b* – лиганды, содержащие группы АС или ВС; *c* – лиганды, сохранившие только одно из колец
 — аминокислотные остатки активного центра циклооксигеназы-2, взаимодействующие с лигандом

— — — аминокислотный остаток активного центра, отличающий циклооксигеназу-2 от циклооксигеназы-1

Fig. 4. The effect of the structure on the ability of ligands to bind to COX-2: *a* – ligands containing rings A, B and C in the structure; *b* – ligands containing AC or BC groups; *c* – ligands that retained only one of the rings

— amino acid residues of the active center of cyclooxygenase-2 interacting with ligand

— — — amino acid residue of the active center that distinguishes cyclooxygenase-2 from cyclooxygenase-1

Посредством проведенных расчетов было показано, что различные стереоизомеры ДКВ и многие его метаболиты способны селективно связываться с ЦОГ-2 в циклооксигеназном сайте. Полученный результат позволяет предположить, что противовоспалительный фармакологический эффект ДКВ реализуется, в том числе и за счет ингибирования ЦОГ-2. Вместе с тем многие метаболиты этого соединения не проявляли активности по отношению к структурным элементам биологической мишени, которое характерно для селективных ингибиторов ЦОГ-2, поэтому нельзя исключать вероятности связывания и других циклооксигеназ. Кроме того, в литературе нередко отмечают способность флавоноидов снижать активность киназ, которые также участвуют в регуляции воспалительного процесса [6]. Таким образом, можно предположить, что ДКВ имеет «зонтичный» эффект, оказывая комплексное

воздействие на его патогенез. Полученные данные позволяют рассматривать ДКВ как возможную молекулу для разработки новых противовоспалительных препаратов.

Представляется перспективным проведение более сложных вариантов компьютерного моделирования с применением молекулярной динамики для выявления наиболее фармакологически активных стереоизомеров и метаболитов ДКВ. Также интересно сопоставление его активности с уже имеющимися на данный момент лекарственными препаратами на фармацевтическом рынке. Наконец, необходимо продолжать скрининг фармакологической активности ДКВ и, возможно, открытие новых биологических мишеней.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследован один из вероятных путей реализации противовоспалительного фармакологического

го эффекта ДКВ методом *in silico*. Продемонстрирована возможность взаимодействия ДКВ и его метаболитов с SER353, SER530 и ARG513 в активном центре ЦОГ-2. Полученные результаты могут быть использованы для создания противовоспалительных лекарственных препаратов на базе ДКВ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Журавлева М.В., Кукес В.Г., Прокофьев А.Б., Сереброва С.Ю., Городецкая Г.И., Бердникова Н.Г. Рациональное применение НПВП – баланс эффективности и безопасности (обзор литературы). *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2016; 6 (4): 687–696. [Zhuravleva M.V., Kukes V.G., Prokofiev A.B., Serebrova S.Yu., Gorodeckaya G.I., Berdnikova N.G. Rational Use of NSAIDs – Balance of Efficiency and Safety (Review). *International Journal of Applied and Basic Research*. 2016; 6 (4): 687–696 (in Russ.)].
2. Дремова Н.Б., Соломка С.В. Социологическое исследование отношения современных пациентов к назначенной фармакотерапии. В кн.: «Эффективная клиническая практика: проблемы и возможности современного врача»; под ред. Н.К. Горшуновой. Курск: Курский государственный медицинский университет, 2017: 189–202. [Dremova N.B., Solomka S.V. Sociological research of the relation of modern patients to the appointed pharmacotherapy. In book: "Effective clinical practice: challenges and opportunities for a modern doctor"; N.K. Gorshunova, editor. Kursk: Kursk State Medical University Publ., 2017: 189–202 (in Russ.)].
3. Терехов Р.П., Селиванова И.А., Тюкавкина Н.А., Фенин А.А. Исследование аморфной модификации дигидрокверцетина методом хромато-масс-спектрометрии: труды конференции «Лекарственные растения ботанического сада», 21–22 сентября 2016, г. Москва, Россия. М.: Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 2016: 131. [Terekhov R.P., Selivanova I.A., Tyukavkina N.A., Fenin A.A. Analysis of dihydroquercetin amorphous form by chromato-mass-spectrometry: works of the conference "Medical plants of the botanic garden", 2016 Sept. 21–22, Moscow, Russia. Moscow: Sechenov First Moscow State Medical University Publ., 2016: 131 (in Russ.)].
4. Плотников М.Б., Тюкавкина Н.А., Плотникова Т.М. Лекарственные препараты на основе диквертина. Томск: Издательство Томского университета, 2005: 228. [Plotnikov M.B., Tyukavkina N.A., Plotnikova T.M. Medicaments on the base of Dikvetin. Tomsk: Tomsk University Publ., 2005: 228 (in Russ.)].
5. Raj U., Varadwaj P.K. Flavonoids as multi-target inhibitors for proteins associated with Ebola virus: *in silico* discovery using virtual screening and molecular docking studies. *Interdisciplinary Sciences Computational Life Sciences*. 2016; 8 (2): 132–141. DOI: 10.1007/s12539-015-0109-8.
6. Verma Sh., Singh A., Mishra A. Taxifolin acts as type I inhibitor for VEGFR-2 kinase: Stability evaluation by molecular dynamic simulation. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2012; 2 (1): 41–46.
7. Yang P., Xu F., Li H.F., Wang Y., Li F.C., Schang M.Y., Liu G.X., Wang X., Cail S.Q. Detection of 191 taxifolin metabolites and their distribution in rats using HPLC-ESI-IT-TOF-MS(n). *Molecules*. 2016; 21 (9): 1209–1234. DOI: 10.3390/molecules21091209.
8. Острикова О.И. Компьютерное моделирование взаимодействия гликофорина А и 4-метил-2,6-диизоборнилфенола в программах Autodock и Hexserver. *Бюллетень сибирской медицины*. 2014; 13 (5): 62–66. [Ostrikova O.I. Computer simulation of glicophorin A and 4-methyl-2,6-diisobornilfenol interaction by autodock and hexserver programs. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2014; 13 (5): 62–66 (in Russ.)].
9. Хельте Х.-Д., Зиппль В., Роньян Д., Фолькерс Г. Молекулярное моделирование: теория и практика. М.: БИНОМ, 2015: 319. [Holtje H.-D., Zippl V., Ronyan D., Volkerts G. Molecular modeling: theory and practice. Moscow: BINOM Publ., 2015: 319 (in Russ.)].
10. Orlando B.J., Malkowski M.G. Crystal structure of rofecoxib bound to human cyclooxygenase-2. *Acta Crystallographica F. Struct Biol Commun*. 2016; 72 (10): 772–776. DOI: 10.1107/S2053230X16014230.

Сведения об авторах

Селиванова Ирина Анатольевна, д-р фарм. наук, профессор, кафедра химии, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), г. Москва.

Терехов Роман Петрович, студент, Институт фармации, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет), г. Москва, Россия; стажер-исследователь, лаборатория разработки лекарственных препаратов и аналитической химии, Институт клеточной терапии и иммунологии им. Фраунгофера, г. Лейпциг, Германия.

✉ Терехов Роман Петрович, e-mail: r.p.terekhov@yandex.ru.

Поступила в редакцию 27.02.2019
Подписана в печать 11.06.2019

Authors information

Selivanova Irina A., DPhSc, Professor, Department of Chemistry, Institute of Pharmacy, Sechenov University, Moscow, Russian Federation.

Terekhov Roman P., Student, Institute of Pharmacy, Sechenov University, Moscow, Russian Federation; Fraunhofer Institute for Cell Therapy and Immunology, Leipzig, Germany.

✉ Terekhov Roman P., e-mail: r.p.terekhov@yandex.ru.

Received 27.02.2019
Accepted 11.06.2019

Использование гребневой регрессии для оценки степени тяжести острого панкреатита

Черданцев Д.В.¹, Строев А.В.¹, Мангалова Е.С.², Кононова Н.В.³, Чубарова О.В.⁴

¹ Красноярский государственный медицинский университет (КрасГМУ) имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

² ООО «АрДиСайнс»

Россия, 660017, г. Красноярск, ул. Кирова, 19

³ Сибирский федеральный университет (СФУ)

Россия, 660041 г. Красноярск, пр. Свободный, 79

⁴ Сибирский государственный университет (СибГУ) имени М.Ф. Решетнева

Россия, 660037, г. Красноярск, пр. имени газеты «Красноярский рабочий», 31

РЕЗЮМЕ

Цель. Повышение эффективности лечения пациентов с острым панкреатитом путем совершенствования объективизации степени тяжести острого панкреатита.

Материалы и методы. Исследование выполнено на основе ретроспективного анализа 130 историй болезни: 47 из КГБУЗ «Краевая клиническая больница» (г. Красноярск), 83 из КГБУЗ «Краевая межрайонная клиническая больница № 20 им. И.С. Берзона» с диагнозом «острый панкреатит» в период 2015–2017 гг. Проводилась предварительная обработка «сырых» данных. В частности, были использованы разные подходы к заполнению пропущенных значений в матрице наблюдений: восстановление медианой, линейной регрессией. В исходной выборке содержались переменные, измеренные в различных количественных и категориальных шкалах. Для некоторых определяемых параметров с ярко выраженным асимметричным распределением применялся метод квантильного преобразования исходных значений, позволяющий привести признаки к единообразию и снизить риск исключения значимых признаков на этапе отбора. При решении поставленной задачи использовалась гребневая регрессия (ridge regression) в комбинации с алгоритмом последовательного сокращения признакового пространства.

Результаты. Построен классификатор, позволяющий прогнозировать три степени тяжести острого панкреатита, для определения выбора рациональной клинической тактики. Метод классификации степени тяжести острого панкреатита показал свою эффективность при валидации. Точность классификации – свыше 92% относительно экспертной оценки. Процедура построения классификатора с использованием гребневой регрессии может быть использована в качестве одного из элементов математического ядра системы поддержки принятия врачебных решений.

Заключение. Полученные результаты в дальнейшем позволят сделать выбор рациональной стартовой терапии, оценить необходимость оперативного вмешательства и при тяжелой степени назначить усиленную антибактериальную и дезинтоксикационную терапию, что, вероятно, снизит количество случаев гнойно-септических осложнений острого панкреатита и уменьшит частоту летальных исходов.

Ключевые слова: острый панкреатит, степень тяжести, классификатор, категориальные признаки, значимые показатели, восстановление пропусков, гребневая регрессия, AUC (Area Under Curve).

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

✉ Чубарова Олеся Викторовна, e-mail: Kuznetcova_o@mail.ru.

Источник финансирования. Исследование выполнено при поддержке Красноярского краевого фонда науки в рамках реализации проекта «Разработка и внедрение системы поддержки в принятии решений при диагностике и лечении острого панкреатита на территории Красноярского края».

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (протокол № 72/2016 от 9.11.2016).

Для цитирования: Черданцев Д.В., Строев А.В., Мангалова Е.С., Кононова Н.В., Чубарова О.В. Использование гребневой регрессии для оценки степени тяжести острого панкреатита. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 107–115. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-107-115>.

УДК 616.37-002.1-039.3-07-035.7

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-107-115>

The use of ridge regression for estimating the severity of acute pancreatitis

Cherdantsev D.V.¹, Stroev A.V.¹, Mangalova E.S.², Kononova N.V.³, Chubarova O.V.⁴

¹ Krasnoyarsk State Medical University (KrasSMU) named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky
1, Partizana Zheleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

² RD Science Ltd.
19, Kirov Str., Krasnoyarsk, 660017, Russian Federation

³ Siberian Federal University
79, Svobodny Av., 660041, Krasnoyarsk, Russian Federation

⁴ Reshetnev Siberian State University of Science and Technology
31, Krasnoyarsky Rabochy Av., Krasnoyarsk, 660037, Russian Federation

ABSTRACT

Purpose. Increasing of treatment efficiency for patients with acute pancreatitis by improving objective means of determining the severity of acute pancreatitis.

Materials and method. The study was based on a retrospective analysis of 130 cases of acute pancreatitis: 47 cases from «Krasnoyarsk Regional Clinical Hospital» and 83 cases from «Regional Interdistrict Clinical Hospital No 20 named after I.S. Berzon» in the period from 2015 to 2017. The raw data was pre-processed. In particular, different methods (median, linear regression) were used to fill the missing values in the observation matrix. The initial dataset contained features measured in various quantitative and categorical scales. For some features with a pronounced asymmetric distribution, a quantile transformation was applied to initial values. The quantile transformation allows features to be brought to a uniform distribution in order to reduce the risk of excluding significant features. Ridge regression was used in combination with an algorithm for sequential reduction of attribute space.

Results. The classifier of three degrees of acute pancreatitis severity was developed. This classifier can help to determine better treatment tactics. During validation, the method of determining the severity of acute pancreatitis classification has proven to be effective. The average accuracy was 92% compared to the experts' decisions. This procedure for constructing a classifier can be used as part of the basis to the medical decision support system.

Conclusion. The results of this study will help to make the choice of a necessary starting therapy, assess the need for surgical intervention and in severe cases, prescribe enhanced antibacterial and detoxification therapy. This will predictably reduce the percentage of septic complications of acute pancreatitis, and consequently will reduce the frequency of fatal outcomes.

Key words: acute pancreatitis, severity, classifier, categorical signs, significant indicators, recovery of gaps, ridge regression, AUC (Area Under Curve).

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was supported by the Krasnoyarsk Regional Science Foundation as part of the project: “Development and implementation of a support system for decision-making in the diagnosis and treatment of acute pancreatitis in the territory of the Krasnoyarsk Territory.”

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local ethics committee under KrasSMU named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky (Protocol No. 72/2016 of 9.11.2016).

For citation: Cherdantsev D.V., Stroev A.V., Mangalova E.S., Kononova N.V., Chubarova O.V. The use of ridge regression for estimating the severity of acute pancreatitis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 107–115. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-107-115>.

ВВЕДЕНИЕ

Острый панкреатит остается одной из нерешенных проблем ургентной абдоминальной хирургии. На протяжении последнего десятилетия, по данным разных авторов, больные острым панкреатитом составляют 3–10% от общего числа пациентов хирургического профиля [1]. Заболеваемость острым панкреатитом во всем мире варьирует – 4,9–73,4 случаев на 100 тыс. населения, и по темпам роста заболеваемости острый панкреатит опережает все другие неотложные заболевания органов брюшной полости [2–4]. В течение нескольких лет в ряде регионов РФ, в том числе и в Красноярском крае, эта патология занимает первое место в структуре острой хирургической заболеваемости органов брюшной полости. Летальность при остром панкреатите как в России, так и за рубежом остается неизменно высокой. При стерильном панкреонекрозе показатель составляет около 12%, при инфицировании некроза уровень летальности увеличивается до 75% [4–6].

В соответствии с национальными клиническими рекомендациями по диагностике и лечению острого панкреатита, которые были приняты в 2015 г., важным моментом является стратификация степени тяжести заболевания. Однако далеко не всегда с помощью рутинных клинических методов удается решить эту задачу. Неправильная, субъективная трактовка симптомов, результатов лабораторных и инструментальных методов обследования может привести к недооценке тяжести панкреатита у определенной категории пациентов, а это чревато назначением недостаточно эффективного лечения, что может привести к прогрессированию заболевания.

Широкое применение на госпитальном этапе получила оценка тяжести состояния больного, проводимая с использованием интегральных шкал, которых, по различным источникам, насчитывается более 20 [7]. При этом выбор хирурга дежурного стационара той или иной шкалы зависит от оснащенности лечебного учреждения,

а также от трудоемкости проводимых вычислений. Наиболее объективными принято считать многопараметрические шкалы прогноза Ranson (1972), APACHE II (1990), Glasgow – Imrie (1984), SAPS (1984), MODS (1995), SOFA (1996), обладающих высокими показателями чувствительности и специфичности в определении тяжести состояния пациента [8, 9]. Однако большинство из них включают сложные критерии, такие как параметры электролитного и газового состава крови, которые не всегда доступны в условиях приемного отделения городских и районных стационаров [8–11]. Применение в клинической практике современных цифровых технологий позволяет расширить возможности прогнозирования течения и исхода острого панкреатита с применением математических алгоритмов, построенных на основе анализа цифровых баз данных, которые появляются в нашем распоряжении благодаря внедрению в клиническую практику медицинских информационных платформ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования: 130 электронных карт стационарного больного, извлеченных из баз данных электронной медицинской системы qMS, историй болезни с диагнозом «острый панкреатит» в период 2015–2017 гг.

В ходе исследования была сформирована выборка, содержащая 27 показателей состояния пациента: 12 показателей развернутого, биохимического анализа крови, четыре показателя анализа мочи, восемь показателей ультразвукового исследования (УЗИ) органов брюшной полости, температура тела пациента, характер кишечной перистальтики, наличие вздутия живота. В табл. 1 представлены характеристики выборки для количественных величин, данные представлены в виде среднего и среднего квадратичного отклонения $M \pm \sigma$, медианы, минимального и максимального значений Me (Min ; Max), интерквартильного размаха Q_1 ; Q_3 . В табл. 2 приведены доли позитивных значений

булевых величин: дополнительные образования – нет (есть), вздутие живота – не вздут (вздут), жидкость в органах брюшной полости – нет (есть), перестальтика не выслушивается (выслушивается), эхогенность – пониженная (повышенная), контуры – четкие (нечеткие), структура – однородная (неоднородная). Для каждого пациента выборки экспертом была поставлена оценка тяжести по шкале от 1 (легкая форма) до 3 (тяжелая форма), осно-

ванная на полном содержании историй болезни по шкале критериев первичной экспресс-оценки тяжести острого панкреатита (Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи имени И.И. Джанелидзе, 2006) [12].

Задача классификации формулировалась как определение степени тяжести панкреатита у поступившего пациента по первичному набору признаков.

Таблица 1
Table 1

Статистические характеристики количественных величин Statistical characteristics of quantities				
Показатель Parameters	$M \pm \sigma$	$Me (Min; Max)$	$Q_1; Q_3$	ДИ для среднего CI for the Mean
Температура, °C Temperature, °C	$3,2 \pm 0,7$	36,7 (36,4; 38,3)	36,6; 37,0	36,8; 36,9
Головка ПЖ, см Head pancreas size, cm	$3,2 \pm 0,7$	3,2 (1,6; 6,1)	2,8; 3,6	3,1; 3,4
Тело ПЖ, см Body pancreas size, cm	$2,2 \pm 0,6$	2,2 (0,8; 4,0)	1,8; 2,5	2,1; 2,3
Хвост ПЖ, см Tail pancreas size, cm	$3,0 \pm 0,5$	3,0 (1,5; 4,4)	2,7; 3,3	2,9; 3,1
Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/l	$126,1 \pm 22,1$	127,0 (61,0; 180,0)	111,0; 140,8	122,3; 129,9
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$ Patelets, $10^9/\text{l}$	$252,2 \pm 112,5$	227,5 (39,0; 711,0)	191,0; 279,3	232,9; 271,5
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$ Red blood cells, $10^{12}/\text{l}$	$4,3 \pm 0,8$	4,3 (1,9; 6,2)	3,8; 4,7	4,2; 4,4
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$ White blood cells, $10^9/\text{l}$	$11,4 \pm 6,4$	10,2 (2,7; 41,6)	7,3; 13,7	10,3; 12,5
Амилаза, Ед/л Amylase, u/l	$254,4 \pm 445,9$	71,4 (18,0; 2960,0)	44,25; 288,5	177,7; 331,1
Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/l	$7,0 \pm 3,0$	6,1 (3,3; 23,0)	5,2; 7,6	6,5; 7,6
Калий, ммоль/л K, mmol/l	$4,1 \pm 0,7$	4,3 (2,0; 5,4)	3,7; 4,6	4,0; 4,2
Лимфоциты, %/Lymphocytes, %	$22,1 \pm 12,0$	22,0 (2,1; 55,0)	11,8; 31,0	20,0; 24,1
Моноциты, % Monocytes, %	$6,9 \pm 3,2$	6,9 (1,0; 20,5)	5,0; 8,3	6,3; 7,4
Мочевина, ммоль/л Urea, mmol/l	$6,5 \pm 4,7$	5,1 (1,5; 31,4)	4,0; 7,1	5,7; 7,4
Натрий, ммоль/л Na, mmol/l	$138,4 \pm 4,4$	139,0 (126,0; 151,0)	136,0; 140,8	137,6; 139,1
СОЭ, мм/ч ESR, mm/h	$27,6 \pm 18,8$	21,0 (2,0; 78,0)	13,0; 43,0	24,4; 30,8
АСТ, Ед/л AST, u/l	$55,2 \pm 102,2$	28,8 (10,0; 694,0)	20,475; 40,85	37,6; 72,8
Билирубин, мкмоль/л Bilirubin, $\mu\text{mol/l}$	$16,1 \pm 15,4$	11,6 (1,3; 99,0)	8,2; 18,1	13,4; 18,8
Креатинин, мкмоль/л Creatinine, $\mu\text{mol/l}$	$101,1 \pm 77,7$	82,6 (39,0; 582,0)	71,0; 95,8	87,7; 114,4
Эозинофилы, % Eosinophiles, %	$2,0 \pm 2,5$	1,0 (0,0; 15,7)	0,6; 3,0	1,6; 2,4

Примечание. ПЖ – поджелудочная железа, СОЭ – скорость оседания эритроцитов, АСТ – аспартатаминотрансфераза, ДИ – доверительный интервал.

Note. ESR – erythrocyte sedimentation rate, AST – aspartate aminotransferase, CI – confidence interval.

Таблица 2
Table 2

Доли положительных значений булевых величин Shares of positive values for booleans	
Показатель Indicator	Значение булевых переменных The value of boolean variables
Дополнительные образования Additional masses	0,2
Вздутие живота Abdominal distention	0,2
Жидкость Liquid	0,4
Перистальтика Peristalsis	0,8
Эхогенность Echogenicity	0,8
Структура Structure	0,9
Контур Outlines	0,9

Проблема пропусков и способы их заполнения. Заполнение пропусков в показателях, имеющих числовые значения, в случае подтверждения гипотезы линейности проводилось на основе линейной регрессии. Линейная регрессия использовалась при восстановлении данных, характеризующих размеры поджелудочной железы (голова, тело и хвост). В большинстве случаев восстанавливалось значение величины хвоста по известным значениям головы и тела (всего 34 дозаполненных значения). Остальные пропуски в числовых данных заполнялись расчетным значением медианы показателя. Рассматривались гистограммы распределений значений признака, если наблюдались классовые смещения, то заполнение медианой проводилось внутри класса. На рис. 1 показана гистограмма показателя «Лимфоциты».

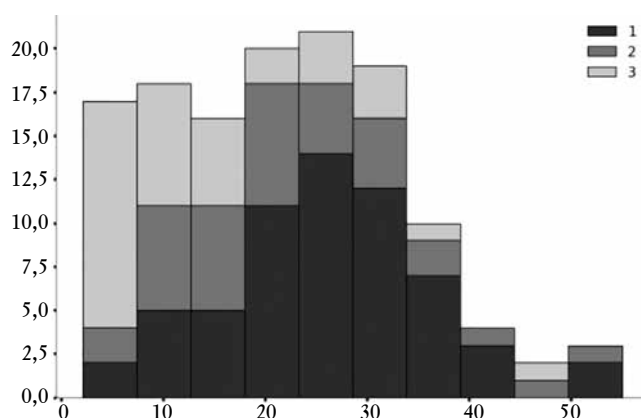


Рис. 1. Распределение признака «Лимфоциты»

Fig. 1. Lymphocytes for three severity classes

Заполнение пропусков в категориальных данных осуществлялось в соответствии со следующим правилом: отсутствие информации в истории болезни в разделе УЗИ или компьютерная томография (КТ) означает отсутствиеотягощающего признака. Поэтому пустое значение заполняется как 0, и оно интерпретируется как «отсутствует».

Пример. В истории болезни присутствуют результаты многосрезовой КТ органов брюшной полости и забрюшинного пространства, цитата из истории: «Поджелудочная железа обычных размеров и формы, структура однородная, нормальной плотности, в хвосте железы определяется очаг жировой плотности (до –33 ед. НУ), размерами до 0,7 см. Вирсунгов проток не расширен. Парапанкреатическая клетчатка не изменена». Никаких сведений о присутствии дополнительных образований нет, следовательно, в соответствующем показателе данному пациенту ставится значение, равное 0.

Стандартизация показателей. В исходную выборку входят переменные, измеренные в разных шкалах, некоторые из них являются категориальными, как следствие, размах значений некоторых также существенно различается. Для приведения всех переменных к одинаковым единицам измерения служит процедура нормализации:

$$x' = \frac{x - \min(x)}{\max(x) - \min(x)}. \quad (1)$$

Помимо того, что многие переменные выражаются в разных единицах, некоторые из них имеют также явно выраженные асимметричные распределения (например, амилаза). Выполняя процедуру нормализации в случае распределения, представленного на рис. 2, получим существенное сгущение точек в одной (левой) части области значений признака и значительно меньшее количество в оставшейся части. Такая особенность частоты признака приводит к тому, что при исследовании на значимость он может покинуть набор значимых признаков, являясь на самом деле значимым. Произойти это может потому, что на реальных выборках может чаще встречаться более легкая форма заболевания, где значения признаков меняются в небольших интервалах отклонения от нормы. Гораздо реже встречаются пациенты, у которых результат анализа настолько сильно отличается от нормы или от умеренного отклонения от нее, что это выглядит на гистограмме как некий выброс или ошибочное значение. Снизить риск исключения значимого признака с такой особенностью распределения позволяет квантильное преобразование исходных значений.

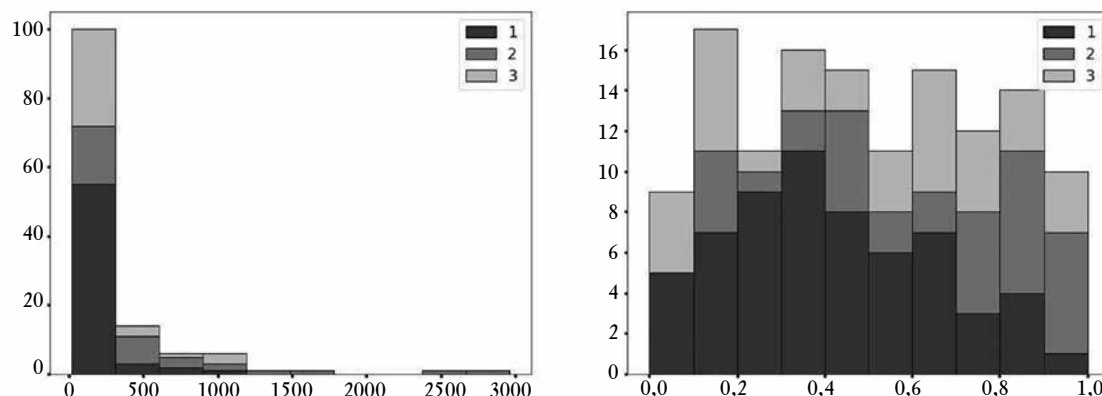


Рис. 2. Распределение признака «Амилаза» до преобразования (слева) и после (справа)

Fig. 2. Histogram of amylase before transformation (left) and after (right)

Отбор значимых признаков и проведение классификации. В случае большого числа признаков решение задачи классификации начинается с отбора значимых признаков. Признаки связаны в единую биологическую систему (организм), где изменение одного элемента (органа) влечет за собой нарушение в работе остальных для компенсации пагубных влияний. Поэтому предположение о мультиколлинеарности признаков имеет место при обработке данных медицинских анализов и характерных признаков состояния больного.

Одним из методов понижения размерности и борьбы с мультиколлинеарностью признаков яв-

ляется гребневая регрессия [13], которую используют, если имеет место:

- переизбыточность данных;
- коррелированность независимых переменных (мультиколлинеарность).

Критерием качества был выбран показатель AUC (Area Under Curve) – площадь под кривой ROC [14]. Для оценки точности классификатора при отборе признаков использовалась кросс-валидация по методу Монте-Карло [15]. Оптимизация регуляризующего параметра гребневой регрессии осуществлялась по сетке с неравномерным шагом в диапазоне значений [0 : 1000]. Результаты приведены в табл. 3.

Таблица 3
Table 3

Оптимизация параметра регуляризации λ Optimization of the regularization parameter λ							
Показатель Indicator	0	1	5	10	100	200	1 000
Area Under Curve	0,86476	0,88878	0,90580	0,91203	0,92251	0,92318	0,92370

Из табл. 3 видно, что для работы с гребневой регрессией целесообразно остановиться на значении параметра регуляризации, равном 200, дальнейшее увеличение значительного роста точности не дает.

С целью понижения размерности признакового пространства применялся метод последовательного сокращения (алгоритм Del) [16]. Алгоритм Del представляет собой метод упрощения структуры регрессионной модели. Основная идея последовательного сокращения: признаки, которые оказывают малое влияние на точность, можно исключить из модели без значительного ухудшения качества. На рис. 3 представлены очередность удаления признаков и значения AUC для классификатора третьей степени тяжести против первой и второй.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На основании полученных линейных зависимостей формировалась обучающая выборка для построения разделяющей поверхности между первым и третьим классом. Обучение линейного классификатора проводилось методом скользящего экзамена. Результаты представлены на рис. 4.

На рис. 4 цифрой «1» обозначены точки, относящиеся к первой степени, которую поставил врач, «2» – ко второй степени тяжести, «3» – к третьей. Пунктиром изображена разделяющая линия – классификатор. Все точки, расположенные левее нее, алгоритм отнес к третьей степени тяжести, правее – к первой степени. Средняя доля ошибки классификации первого и третьего классов составила 7,3% (7/96).

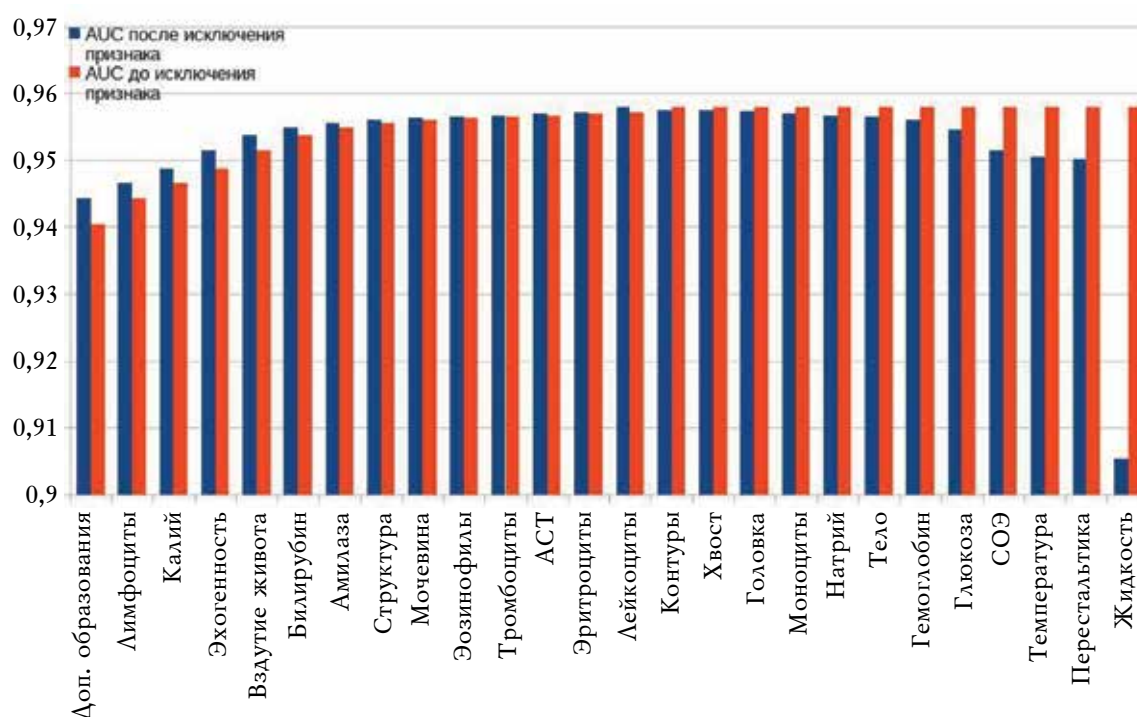


Рис. 4. Результаты классификации

Fig. 4. Classification results

ОБСУЖДЕНИЕ

В сравнении с наиболее популярными интегральными шкалами определения тяжести патологического процесса (Ranson, APACHE II, Glasgow-Imrie, MODS, SOFA) предложенная модель классификатора обладает рядом преимуществ:

- простота математических расчетов;
- применяемые характеристики для расчета являются общеклиническими и доступны для любого хирургического стационара;
- в отличие от шкалы Balthazar, особенностью классификатора является совместный учет визуальной оценки состояния поджелудочной железы и окружающих тканей, полученных методами УЗИ, КТ с лабораторными и общеклиническими данными.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Метод классификации степени тяжести острого панкреатита с использованием гребневой регрессии показал высокую точность (92,7%) относительно экспертной оценки. Опробованная процедура построения классификатора может быть использована в качестве одного из элементов математического ядра системы поддержки принятия врачебных решений.

Предложенная модель классификатора позволяет быстро и эффективно определить тяжесть патологического процесса, что в дальнейшем по-

может сделать выбор рациональной стартовой терапии, оценить необходимость оперативного вмешательства и при тяжелой степени назначить усиленную антибактериальную и дезинтоксикационную терапию, что, вероятно, снизит количество случаев гнойно-септических осложнений острого панкреатита и летальных исходов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Савельев В.С., Филимонов М.И., Бурневиг С.З. Острый панкреатит. Эпидемиология, профилактика, классификация. [Savel'ev V.S., Filimonov M.I., Burnevig S.Z. Acute pancreatitis. Epidemiology, prevention, classification. (in Russ.)]. URL: <https://medbe.ru/materials/khirurgiya-podzheludchnoy-zhelezy/ostryy-pankreatit-epidemiologiya-profilaktika-klassifikatsiya/>.
2. Kurti F., Shpata V., Kuqo A., Duni A., Roshi E., Basho J. Incidence of acute pancreatitis in Albanian population. *Mater Sociomed.* 2015; 27 (6): 376–369. DOI: 10.5455/msm.2015.27.376-379.
3. Munigala S., Yadav D. Case-fatality from acute pancreatitis is decreasing but its population mortality shows little change. *Pancreatology.* 2016; 16 (4): 542–550. DOI: 10.1016/j.pan.2016.04.008.
4. Karakayali F.Y. Surgical and interventional management of complications caused by acute pancreatitis. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20 (37): 13412–13423. DOI: 10.3748/wjg.v20.i37.13412.
5. Бородин Н.А., Мальцева О.В., Гиберт Б.К., Зайцев Е.Ю. Современные подходы в лечении деструктивных

- форм панкреатита, пути снижения летальности. *Медицинская наука и образование Урала*. 2015; 16 (82): 70–73. [Borodin N.A., Mal'tseva O.V., Gibert B.K., Zaitsev E.Yu. Modern approaches in the treatment of destructive forms of pancreatitis, ways to reduce mortality. *Medical Science and Education of the Urals*. 2015; 16 (82): 70–73 (in Russ.)].
6. Имаева А.К., Мустафин Т.И., Шарифгалиев И.А. Острый деструктивный панкреатит. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2014; 131 (8): 14–20. [Imaeva A.K., Mustafin T.I., Sharifgaliev I.A. Acute destructive pancreatitis. *Siberian Medical Journal (Irkutsk)*. 2014; 131 (8): 14–20 (in Russ.)].
 7. Валеев А.А. Оценка тяжести состояния больных с острых деструктивным панкреатитом при выборе тактики лечения. *Казанский медицинский журнал*. 2013; 94 (5): 633–636. [Valeev A.A. Assessment of the severity of the patients with acute destructive pancreatitis in the selection of treatment. *Kazan Medical Journal*. 2013; 94 (5): 633–636 (in Russ.)].
 8. Ризаев К.С., Хаджибаев Ф.А., Баймурадов Ш.Э. Определение степени тяжести течения и лечения острого панкреатита: материалы пленума правления ассоциации гепатопанкреатобилиарных хирургов стран СНГ. 2015: 123–125. [Rizaev K.S., Khadzhibaev F.A., Baimuradov Sh.E. Determination of acute pancreatitis severity and treatment: materials of the plenum of the board of the Association of hepatopancreatobiliary surgeons of the CIS countries. 2015: 123–125 (in Russ.)].
 9. Kuo D.C., Rider A.C., Estrada P., Kim D., Pillow M.T. Acute Pancreatitis: What's the Score? *J. Emerg. Med.* 2015; 48 (6): 762–770. DOI: 10.1016/j.jemermed.2015.02.018.
 10. Литвин А.А., Жариков О.Г., Ковалев В.А. Система поддержки принятия решений в прогнозировании и диагностике инфицированного панкреонекроза. *Врач и информационные технологии*. 2012; 2: 54–63. [Litvin A.A., Zharikov O.G., Kovalev V.A. Decision support system in predicting and diagnosing infected pancreatic necrosis. *Information technologies for the Physician*. 2012; 2: 54–63 (in Russ.)].
 11. Винник Ю.С., Дунаевская С.С., Антюфриева Д.А. Диагностическая ценность интегральных шкал в оценке степени тяжести острого панкреатита и состояния больного. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2015; 70 (1): 90–94. [Vinnik Yu.S., Dunaevskaya S.S., Antyufrieva D.A. Diagnostic value of integral scoring systems in assessing the severity of acute pancreatitis and patient's condition. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (1): 90–94 (in Russ.)].
 12. Диагностика и лечение острого панкреатита (Российские клинические рекомендации). Российское общество хирургов, Ассоциация гепатопанкреатобилиарных хирургов стран СНГ, Российское общество скорой медицинской помощи, 30.10.2014. [Diagnosis and treatment of acute pancreatitis (Russian clinical guidelines). Russian Society of Surgeons, Hepato-Pancreato-Biliary Association of Commonwealth of Independent States, Russian Society of Emergency Medicine. 30.10.2014 (in Russ.)].
 13. Hoerl A.E., Kennard R.W. Ridge regression: Biased estimation for nonorthogonal problems *Technometrics*. 1970; 12 (1): 55–67.
 14. Huang J., Ling C. X. Using AUC and accuracy in evaluating learning algorithms. *IEEE Transactions on Knowledge and Data Engineering*. 2005; 17 (3): 299–310.
 15. Xu Q. S., Liang Y. Z. Monte Carlo cross validation. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 2001; 56 (1): 1–11.
 16. Merrill T., Green O. M. On the effectiveness of receptors in recognition systems. *IEEE Trans. Inform. Theory*. 1963; 9 (1): 11–17. DOI: 10.1109/TIT.1963.1057810.

Вклад авторов

Черданцев Д.В. – введение в проблемную область; формализация задачи оценки степени тяжести острого панкреатита; получение данных об эпидемиологической обстановке в Красноярском крае. Строев А.В. – построение модели пациента с целью формирования математической модели; консультант-эксперт при решении задачи отбора значимых признаков; сравнительный анализ полученных результатов с известными шкалами (Ranson, APACHE II, Glasgow – Imrie, MODS, SOFA). Кононова Н.В. – подготовка исходных «сырых» данных для решения задачи классификации: заполнения пропусков в данных, очистка от аномальных значений, преобразование категориальных данных в дискретные. Мангалова Е.С. – решение задачи понижение размерности признакового пространства; использование метода квантильного преобразования с целью приведения признаков к едино-

Author contributions

Cherdantsev D.V. – introduction to the problem area; formalization of the task of assessing the severity of acute pancreatitis; obtaining data on the epidemiological situation in the Krasnoyarsk Region. Stroeve A.V. – building a patient model in order to form a mathematical model; expert consultant in solving the problem of selecting significant features; comparative analysis of the results with known scales (Ranson, APACHE II, Glasgow – Imrie, MODS, SOFA). Mangalova E.S. – solving the problem of reducing the dimension of feature space; the use of the quantile transformation method in order to bring the signs to uniformity; software implementation of the algorithms used. Kononova N.V. – preparation of the initial “raw” data to solve the classification problem: filling in the gaps in the data, cleaning from anomalous values, converting categorical data into discrete. Chubarova O.V. – formulation of hypotheses

образию; программная реализация, используемых алгоритмов. Чубарова О.В. – формулировка гипотез путей решения поставленной задачи; проработка математической модели; коррекция, систематизация и обобщение полученных результатов; оформление результатов исследования.

of ways to solve the problem; elaboration of a mathematical model; correction, systematization and generalization of the results; presentation of research results.

Сведения об авторах

Черданцев Дмитрий Владимирович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой и клиникой хирургических болезней им. проф. А.М. Дыхно, проректор по аккредитации и лицензированию, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID iD 0000-0002-4743-4565.

Строев Антон Владимирович, аспирант, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID iD 0000-0003-4606-4598.

Мангалова Екатерина Сергеевна, программист-разработчик, ООО «АрДиСайнс», г. Красноярск. ORCID iD 0000-0002-6073-4781.

Кононова Надежда Владимировна, канд. техн. наук, доцент, кафедра информационных систем, СФУ, г. Красноярск. ORCID iD 0000-0003-4883-7216.

Чубарова Олеся Викторовна, канд. техн. наук, доцент, кафедра системного анализа и исследования операций, СибГУ им. М.Ф. Решетнева, г. Красноярск. ORCID iD 0000-0002-9331-6682.

(✉) **Чубарова Олеся Викторовна**, e-mail: Kuznetcova_o@mail.ru.

Поступила в редакцию 21.01.2019
Подписана в печать 11.06.2019

Authors information

Cherdantsev Dmitriy V., DM, Professor, KrasSMU named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Head Department and Clinic of Surgical Diseases named after prof. A.M. Dykhno, Vice-Rector for Accreditation and Licensing, Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-4743-4565.

Stroev Anton V., PhD Student, KrasSMU named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-4606-4598.

Mangalova Ekaterina S., Software Developer, RD Science Ltd., Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-6073-4781.

Kononova Nadeshda V., PhD, Associate Professor, Department of Information Systems, Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-4883-7216.

Chubarova Olesya V., PhD, Associate Professor, Department of System Analysis and Operations Research, Reshetnev Siberian State University of Science and Technology, Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-9331-6682.

(✉) **Chubarova Olesya V.**, e-mail: Kuznetcova_o@mail.ru.

Received 21.01.2019
Accepted 11.06.2019

Влияние модуляторов метилирования ДНК на продукцию остеопротегерина ревматоидными фибробластоподобными синовиоцитами *in vitro*, их миграцию и инвазию

Шнайдер М.А., Ширинский В.С., Калиновская Н.Ю., Ширинский И.В.

Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии (НИИФКИ)
Россия, 630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить влияние модуляторов метилирования ДНК на продукцию провоспалительных цитокинов фибробластоподобными синовиальными клетками (ФСК).

Материалы и методы. Использовались клетки, полученные из синовиальной ткани шести больных активным ревматоидным артритом (РА) после 3–7 пассажей культивирования *in vitro*.

Результаты. Установлено, что культуры ФСК больных РА при стимуляции IL-1 β увеличивают продукцию остеопротегерина (ОПГ). Внесение в культуры метилирующих соединений – S-аденозилметионина (SAMe) и генистеина – приводило к статистически значимому снижению продукции ОПГ, а добавление деметилирующего агента гидралазина не меняло синтез цитокина. Все три используемых модулятора метилирования ДНК в разных концентрациях статистически значимо снижали количество спонтанно мигрировавших и инвазивных ФСК в камере Бойдена.

Заключение. Ферменты и молекулярные комплексы, участвующие в процессах метилирования ДНК, являются потенциальными терапевтическими мишенями, а культура ФСК больных РА *in vitro* может быть моделью для доклинического скрининга новых лекарственных соединений.

Ключевые слова: фибробластоподобные синовиальные клетки, S-аденозилметионин, генистеин, гидралазин, остеопротегерин, инвазия, миграция.

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. Поскольку для исследования использовались анонимные ткани, предназначенные для утилизации, одобрения этического комитета и предоставление информированного согласия не требовалось.

Для цитирования: Шнайдер М.А., Ширинский В.С., Калиновская Н.Ю., Ширинский И.В. Влияние модуляторов метилирования ДНК на продукцию остеопротегерина ревматоидными фибробластоподобными синовиоцитами *in vitro*, их миграцию и инвазию. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 116–124. [https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2019-3-116–124](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-116-124).

УДК 616.71-007.234:577.213

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-116-124>

Effect of DNA methylation modulators on the production of osteoprotegerin by rheumatoid fibroblast-like synoviocytes *in vitro*: their migration and invasion

Shnayder M.A., Shirinsky V.S., Kalinovskaya N.Y., Shirinsky I.V.

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology
14, Yadrintsevskaya Str., Novosibirsk, 630099, Russian Federation

ABSTRACT

Objective. The purpose of the research was to study the effect of DNA methylation modulators on the production of proinflammatory cytokines by fibroblast-like synovial cells (FLC).

Materials and methods. We used the cells derived from the synovial tissue of 6 patients with active rheumatoid arthritis (RA) after 3–7 *in vitro* culturing passages.

Results. There was an IL-1 β -induced up-regulation of osteoprotegerin (OPG) synthesis in the RA FLC cultures. The addition of methylating compounds S-Adenosyl methionine (SAMe) and genistein into the cultures resulted in a statistically significant decrease in the production of OPG, while the addition of the demethylating agent hydralazine did not change the synthesis of the cytokine. All three DNA methylation modulators used at different concentrations significantly reduced the percentage of spontaneous migration and invasion of FLC in the Boyden chamber.

Conclusion. Enzymes and molecular complexes involved in DNA methylation could be potential therapeutic targets, and *in vitro* FLC cultures of RA patients can be used as a model for preclinical screening of new drug compounds.

Key words: fibroblast-like synovial cells, S-Adenosyl methionine, genistein, hydralazine, osteoprotegerin, invasion, migration

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. Since anonymous tissues intended for disposal were used for the study, the approval of the ethics committee and the provision of informed consent were not required.

For citation: Shnayder M.A., Shirinsky V.S., Kalinovskaya N.Y., Shirinsky I.V. Effect of DNA methylation modulators on the production of osteoprotegerin by rheumatoid fibroblast-like synoviocytes *in vitro*: their migration and invasion. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 116–124. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-116-124>.

ВВЕДЕНИЕ

Фибробластоподобные синовиальные клетки (ФСК) являются доминирующей популяцией клеток в гиперплазированном синовии больных ревматоидным артритом (РА) и в месте инвазии синовиальной оболочки (СО) в хрящевую и костную ткань. ФСК представляют собой уникальный тип клеток, который отличает РА от других воспалительных заболеваний суставов и СО здоровых людей [1], и характеризуются относительной автономностью функционирования и способностью

к инвазивному росту, сохраняющемуся после ряда пассажей в культуре *in vitro* [2], и миграции в различные, в том числе интактные суставы, лежащей в основе полиартикулярного поражения при РА [3].

Активированные цитокинами ФСК являются главным источником провоспалительных медиаторов, металлопротеиназ, других биологически активных веществ, принимая участие в деструкции хрящевой и костной ткани, миграции и пролиферации в СО антигенпрезентирующих клеток, субпопуляций Т- и В-лимфоцитов, нейтрофилов,

НК-клеток, ангиогенезе [4]. Резорбция кости осуществляется в субсистеме клеточных лиганд – активатор NF κ B (RANK), экспрессирующийся остеокластами [5], а роль лиганда – RANKL [6]. Антагонистом субсистемы RANK – RANKL является растворимый рецептор остеопротегерин (ОПГ) [7]. ОПГ представляет собой гликопротеин, относящийся к семейству факторов некроза опухоли, и выполняет роль «ловушки» рецепторов, ингибируя связывание RANK и RANKL, тем самым угнетая мобилизацию, пролиферацию и активацию остеокластов. Полагают, что характер ремоделирования костной ткани (анаболизм и катаболизм) во многом определяется балансом между продукцией RANKL и ОПГ [8–11].

Использование ФСК вне организма, в условиях культивирования *in vitro*, – продолжение метода биопсии, который существенно расширяет возможности изучения патогенеза РА [4] и является моделью для доклинического скрининга новых лекарственных средств [12].

Показано, что ФСК больных РА характеризуются стабильным, возникающим *in vivo* и сохраняющимся после неоднократных пассажей *in vitro* фенотипом, обусловленным глобальным гипометилированием ДНК, сопоставимым по выраженности с гипометилированием ДНК в опухолевых клетках [13]. Известны ряд соединений растительного и синтетического происхождения, которые *in vitro* способны изменять глобальное метилирование ДНК. К их числу относятся донаторы метильной группы S-аденозилметионин (SAME) [14] и изофлавоноид сои генистеин [15, 16], деметилирующий агент гидралазин [17].

Цель исследования – оценить влияние метилирующих (S-аденозилметионина, генистеина) и гипометилирующих (гидралазина) агентов на продукцию остеопротегерина фибробластоподобными синовиальными клетками больных РА *in vitro*, их миграцию и инвазию.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ревматоидные ФСК выделялись из синовиальной ткани, полученной во время операции эндопротезирования коленного сустава от девяти больных активным РА, материалы были предоставлены сотрудниками ФГБУ «ННИИТО им. Я.А. Цивьяна» Минздрава России.

Поскольку для исследования использовались анонимные ткани, предназначенные для утилизации, одобрения этического комитета и предоставление информированного согласия не требовалось.

Последовательные этапы культивирования описаны нами ранее [4], здесь мы ограничимся

лишь основными сведениями. Ткань, полученную из синовиальной оболочки коленного сустава больных РА во время операции, помещали в контейнер при температуре 4 °С. Затем ткань промывали холодным фосфатным буфером и помещали в 150-миллиметровую чашку Петри для удаления нежелательных тканей (жир и др.). Перемещали ткань в чистую 150-миллиметровую чашку Петри и нарезали кусочками, образцы ткани переносили в колбу, содержащей 1%-й раствор трипсина и фосфатного буфера. Инкубировали при 37 °С в течение 30 мин, после инкубации удаляли супернатант. К оставшейся в колбе ткани добавляли раствор коллагеназы Р (Sigma-Aldrich, США) со средой DMEM (Биолот), содержащей фетальную бычью сыворотку FBS (Hyclone), и продолжали инкубацию в течении 2 ч при 37 °С и 5% CO₂. Пипетировали смесь через клеточный фильтр в пробирку объемом 50 мл, клеточную взвесь центрифугировали при 250 g 10 мин. Затем удаляли супернатант, взвесь клеток размешивали, промывали добавлением 15 мл DMEM и вновь центрифугировали. Количество жизнеспособных клеток подсчитывали с помощью трипанового синего. Взвесь ресуспендировали в среднем 1×10^6 клеток в 15 мл DMEM, клетки вносили в T-75 флакон, содержащий 5 мл DMEM, 10% FBS (Hyclone), 100 ед/мл пенициллина, 100 мг/мл стрептомицина, 50 мг/мл гентамицина, 2 ммоль L-глутамин и 2,5 мкг/мл амфотерицина В, инкубировали флакон при температуре 37 °С и 5% CO₂.

Для исследования применялись ФСК, культивированные между 3–7 пассажами. Клетки в концентрации 5×10^5 кл/мл культивировали 48 ч в 24-луночных планшетах. ФСК стимулировали IL-1 β 10 нг/мл (R&D Systems) в течение 1 ч при температуре 37 °С и 5% CO₂, затем к культурам добавляли один из модуляторов метилирования ДНК: SAME (Abbot, США) в концентрации 25, 50, 100 мкг/мл, генистеин (LC Laboratories, США) в концентрации 5, 10, 20 мкг/мл или гидралазин (Sigma-Aldrich, США) в концентрации 5, 10, 20 мкмоль/мл. После 48 ч инкубации определяли уровень остеопротегерина в супернатантах клеточных культур с помощью набора Osteoprotegerin Human ELISA Kit (Abcam), согласно инструкции фирмы производителя.

Для исследования клеточной миграции и инвазии ФСК использовали модифицированные камеры Бойдена, состоящие из двух отсеков, разделенных 8-микрометровой пористой мембраной (Transwell 96, фирма Trevigen, Gaithersburg, США). Основные этапы оценки миграции ФСК

следующие. За 24 ч до начала эксперимента ФСК 3–7 пассажей находились в бессывороточной питательной среде DMEM. После «сывороточного голодания» клетки трипсинизировали, считали и вновь ресуспендировали до 1×10^6 кл/мл. В каждую лунку верхней камеры добавляли 5×10^4 клеток (50 мкл клеточной взвеси), в нижние камеры, в качестве хемоаттрактанта, вносили 150 мкл питательной среды с 10% FBS и модуляторы метилирования ДНК: SAMe (Abbot) 25, 100 мкг/мл; генистеин (LC Laboratories) 5, 20 мкг/мл или гидралазин (Sigma-Aldrich) 5, 20 мкмоль/мл. Планшет инкубировали при 37 °C и 5% CO₂ в течение 48 ч, затем ФСК верхней и нижней камеры аспирировали и промывали промыточным фосфатным буфером. К нижней камере добавляли Cell Dissociation/ Calcein-AM (способствует флуоресценции клеток за счет образования свободного кальцеина) и инкубировали при 37 °C и 5% CO₂ в течение 1 ч. Оценку уровня миграции проводили на флуоресцентном ридере (Multiskan Ascent, Thermo Electron). Количество мигрировавших клеток выражалось в процентах от общего числа клеток, вносимых в верхний отсек камеры Бойдена.

Для оценки уровня инвазии разделительную пористую мембрану предварительно покрывали раствором коллагена I, который вносили в верхний отсек камеры и инкубировали планшет в течение 8 ч при 37 °C и 5% CO₂. Дальнейшие манипуляции проводили аналогично этапам при оценке миграции ФСК. Количество инвазивных клеток также выражалось в процентах от общего числа клеток, вносимых в верхний отсек камеры Бойдена.

Статистический анализ. Большинство изучаемых параметров имело ненормальное распределение. Тем не менее мы использовали среднее и ошибку среднего для описательной статистики и парный t-тест для оценки различий между группами, так как эти методы являются робастными к отклонениям от нормальности, и их применение предпочтительно даже в случае ненормального распределения [18].

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рисунке представлены данные о влиянии модуляторов метилирования ДНК в разных концентрациях на IL-1 β стимулированную продукцию остеопротегерина фибробластоподобными синовиальными клетками. Видно, что внесение в культуры ФСК IL-1 β увеличивает продукцию ОПГ более чем в 1,5 раза. Добавление в культуры донатора метильных групп SAMe в дозах

25 и 100 мкг/мл статистически значимо снижало стимулированный синтез ОПГ. Сходным эффектом обладал другой донатор метильных групп генистеин в дозах 5 и 20 мкг/мл. Добавление к клеткам различных доз деметилирующего агента гидралазина не изменяло уровень ОПГ в супернатантах культур ФСК.

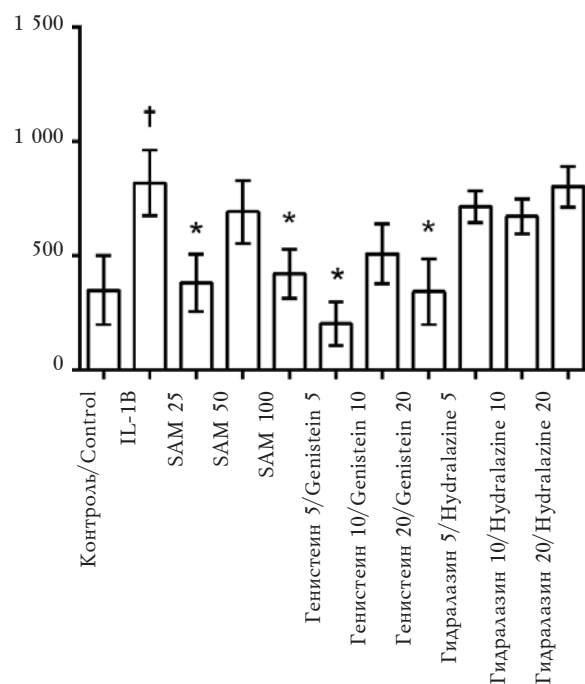


Рисунок. Влияние модуляторов метилирования ДНК в разных концентрациях на IL-1 β стимулированную продукцию остеопротегерина фибробластоподобными синовиальными клетками больных ревматоидным артритом, пг/мл

* $p < 0,05$ между спонтанной и IL-1 β стимулированной продукцией ОПГ; * $p < 0,05$ между IL-1 β стимулированной продукцией и продукцией после добавления модуляторов

Figure. The effect of DNA methylation modulators in different concentrations on IL-1 β stimulated production of osteoprotegerin by fibroblast-like synovial cells of patients with rheumatoid arthritis, pg/ml

*† $p < 0.05$ between spontaneous and IL-1 β stimulated production of OPG; * $p < 0.05$ between IL-1 β stimulated production and production after the addition of modulators

В таблице представлены данные о влиянии модуляторов метилирования ДНК на способность ФСК к миграции и инвазии в камеру Бойдена.

Установлено, что миграционной способностью обладали в среднем 45% ФСК, внесенных в камеры Бойдена для культур клеток, способностью к инвазии через матрицу коллагена 1-го типа – 38% клеток.

Таблица
Table

Влияние модуляторов метилирования ДНК на миграцию и инвазию фибробластоподобных синовиальных клеток больных РА <i>in vitro</i> , $M \pm m$					
Effect of DNA methylation modulators on the migration and invasion of fibroblast-like synovial cells of RA patients <i>in vitro</i> , $M \pm m$					
Модуляторы Modulators		Миграция, $n = 9$ Migration, $n = 9$	p	Инвазия, $n = 9$ Invasion, $n = 9$	p
Контроль Control		45,21 $\pm$ 4,63	–	38,34 $\pm$ 7,37	–
SАМе, мкг/мл $\mu\text{g/ml}$	25	39,15 $\pm$ 1,84	<0,001	21,03 $\pm$ 4,2	<0,001
	100	38,79 $\pm$ 3,02	<0,001	23,72 $\pm$ 4,51	<0,001
Гидралазин, мкмоль/мл Hydralazine, $\mu\text{mol/ml}$	5	38,88 $\pm$ 1,78	<0,001	21,7 $\pm$ 3,67	<0,001
	20	38,8 $\pm$ 1,72	<0,001	22,34 $\pm$ 4,39	<0,001
Генистеин, мкг/мл Genistein $\mu\text{g/ml}$	5	37,58 $\pm$ 1,6	<0,001	16,88 $\pm$ 8,01	<0,001
	20	38,36 $\pm$ 1,7	<0,001	21,94 $\pm$ 6,42	<0,001

Примечание. Представлен средний процент (ошибка средней) клеток, осуществивших миграцию/инвазию. Абсолютное значение величины, принятой за 100% – 5×10^4 (количество клеток, внесенных в лунку).

Note. The average percentage (average error) of the cells that carried out the migration/invasion are presented. The absolute value of the value taken as 100% is 5×10^4 (the number of cells introduced into the well).

Видно, что SАМе, гидралазин, генистеин статистически значимо уменьшали показатель инвазии, в среднем на 55%, а показатель миграции – на 15%. Дозозависимого эффекта не отмечено.

Таким образом, культуры ФСК больных РА 3–7 пассажей при стимуляции IL-1 β увеличивают продукцию ОПГ. Внесение в культуры метилирующих соединений – SАМе и генистеина – приводило к статистически значимому снижению продукции ОПГ, а добавление деметилирующего агента гидралазина не меняло синтез цитокина. Все три используемых модулятора метилирования ДНК в разных концентрациях статистически значимо снижали процент спонтанно мигрировавших и инвазивных ФСК в камере Бойдена.

ОБСУЖДЕНИЕ

При РА фибробластоподобные синовиальные клетки активно пролиферируют, образуя агрессивную грануляционную ткань – паннус, которая в процессе роста разрушает кость, хрящ, связки, что приводит к деструкции и деформации сустава. Важно отметить, что паннус, сохраняющийся у больных в течение всего времени болезни, формируется после «иммунной» фазы развития РА, продолжающейся около года [4]. В разрушении внеклеточного матрикса хряща участвуют различные ферменты, секретируемые в первую очередь ФСК паннуса: коллагеназы, желатиназы,

агреканызы, стромелизин; сериновые протеазы (трипсин, химотрипсин), катепсины, металлопротеиназы (ММР) [19].

Помимо деструкции хряща происходит разрушение костной ткани с участием остеокластов, которые накапливаются в субхондральном костном мозге и в зоне контакта паннуса и кости [20–22]. Резорбция кости осуществляется путем взаимодействия рецептора активатора NF κ B (RANK) на мембране остеокластов [5], с лигандом RANKL [6], который относится к семейству факторов некроза опухоли и представлен на поверхности остеобластов, стромальных клеток костного мозга, ФСК. Он также секретируется активированными Т-клетками при стимуляции провоспалительными цитокинами (TNF, IL-1, IL-17) [1, 3]. Антагонистом субсистемы RANK – RANKL является растворимый рецептор – остеопротегерин [23] – гликопротеин, относящийся к семейству фактора некроза опухоли [7]. Он ингибирует связывание RANK и RANKL, тем самым угнетая мобилизацию, пролиферацию и активацию остеокластов. У взрослых людей остеопротегерин выделяется остеобластами после их активации [24], также обнаруживается в эндотелиальных клетках и макрофагах синовиальной ткани и субсиновиальном слое [8, 25].

Показано, что провоспалительные цитокины IL-1 β , IL-6 совместно с растворимыми рецепто-

рами sIL-6R, IL-17 и TNF α стимулируют продукцию остеопротегерина ФСК больных РА до уровня 520 нг/мл, достаточного для ингибирования остеокластогенеза *in vitro* [26]. Эти провоспалительные цитокины повышают продукцию ОПГ прямо или косвенно путем стимуляции синтеза простагландина E2 (PGE2) [26]. В противоположность действию указанных цитокинов основной фактор роста фибробластов bFGF ингибирует продукцию ОПГ ФСК за счет подавления прямого стимулирующего действия провоспалительных цитокинов [26]. Результаты наших исследований подтверждают данные литературы о том, что провоспалительный цитокин IL-1 β усиливает синтез ОПГ ФСК. Помимо этого, нами показано, что в сложной цепи регуляции продукции ОПГ ФСК важная роль принадлежит процессам метилирования и деметилирования ДНК, в частности, донаторы метильных групп способствуют снижению синтеза ОПГ ФСК *in vitro*.

Уместно заметить, что, по данным M. Skoumal и соавт., содержание ОПГ значительно снижено в синовиальной жидкости больных РА, в результате чего увеличивается содержание RANKL [11]. По мнению авторов исследования, уменьшение концентрации ОПГ в синовиальной жидкости отражает низкий защитный эффект ОПГ на кость, что способствует более раннему и более выраженному разрушению кости у больных РА. Таким образом, регуляция продукции ОПГ различными клетками, в том числе ФСК, происходит с участием большого числа стимулирующих и ингибирующих факторов, механизмы координации действия которых нам еще предстоит уточнить. Несомненно, что среди этих факторов важная роль принадлежит регуляторам процесса метилирования ДНК.

ФСК способны к миграции в различные, в том числе интактные суставы, лежащей в основе полиартикулярного поражения при РА [3]. Кроме этого, синовиальные фибробласты больных РА характеризуются инвазивным ростом, сохраняющимся после ряда пассажей в культуре [2]. Предполагается, что в основе формирования стабильно активированного деструктивного, апоптоз-устойчивого фенотипа ФСК при РА, способного к миграции и инвазии, лежат эпигенетические изменения, включая изменения в метилировании ДНК [27]. Эпигенетические нарушения ФСК больных РА влекут за собой внутриклеточные метаболические изменения, касающиеся содержания глюкозы, липидов, кислорода, ферментов, цитокинов и др. [28], обеспечивая высокий провоспалительный потенциал клеток [13].

Анализ миграции и инвазии различных типов клеток *in vitro* первоначально осуществлялся в предложенных Бойденом камерах, состоящих из двух отсеков [29]. В последующем были разработаны улучшенные и упрощенные одноразовые варианты оригинальных камер, однако основной принцип метода сохранен во всех модификациях, описанных в подробном обзоре N. Kramer и соавт. [29].

Обязательным является наличие двух отсеков камеры, содержащих питательную среду и разделенных пористой мембраной, через которую клетки перемещаются. Миграция определяется как направленное перемещение клеток на субстрате, таких как базальные мембраны, волокна внеклеточного матрикса или пластиковая поверхность планшета [29]. При этом разные типы клеток могут использовать различные варианты моторики, которые обязательно включают прочную фокальную фиксацию к внеклеточному матриксу, цитоскелетное сокращение и удлинение веретеноподобных клеточных тел.

Инвазия определяется как движение клеток с помощью 3D-матрицы, которое сопровождается реструктуризацией 3D-среды. Для того чтобы путешествовать через матрицу, клетка должна изменить свою форму и взаимодействовать с внеклеточным матриксом, который, с одной стороны, дает возможность клеткам прикрепиться к субстрату, с другой стороны, представляет собой барьер для движущихся клеток. Процесс инвазии многокомпонентен. Он включает в себя адгезию, протеолиз внеклеточных компонентов матрикса и собственно миграцию [12, 29]. Основным отличием анализа миграции от анализа инвазии в камере Бойдена является то, что пористую мембрану между верхней и нижней камерой покрывают тонким слоем внеклеточного матрикса, перед тем как клеточную взвесь добавляют в верхнюю камеру. Внеклеточный матрикс может быть разным, в наших экспериментах использовалась водорастворимая пленка коллагена I. Внеклеточный матрикс закупоривает поры мембраны, блокируя тем самым миграцию неинвазивных клеток.

Следует отметить, что современные способы стандартизации и автоматизации методов миграции и инвазии различных клеток, в том числе опухолевых, позволили использовать их для эффективного доклинического скоростного скрининга большого числа потенциальных лекарственных средств, имеющих разные мишени [12]. Ограничением метода является отсутствие соответствия между результатами доклинических и клинических исследований. Показано, например, что металлопротеиназы способствуют инвазии опухолевых

клеток через окружающие ткани *in vitro*, а применение ингибиторов металлопротеиназ у больных не снижает риска метастазирования [12].

В исследовании М.А. Shelef и соавт. установлено, что ингибиторы фокальной адгезионной киназы (ФАК) уменьшают миграцию и инвазию ФСК *in vitro*, но не снижают тяжесть экспериментального артрита у мышей [30]. Эти данные свидетельствуют о том, что в многокомпонентной цепи механизмов миграции и инвазии клеток одно эффективное селективное вмешательство в эти процессы *in vitro* не гарантирует развития клинического эффекта.

В наших исследованиях показано, что модуляция глобального метилирования и деметилирования ДНК в ФСК больных РА с помощью известных фармакологических соединений приводит к одинаковому результату: снижению миграции и инвазии в случае применения донаторов метильных групп и деметилаторов. Это можно объяснить сложностью этапов миграции и инвазии, каждый из которых контролируется различными факторами, включая гипометилирование и гиперметилирование промоторных участков генов ДНК, ответственных за экспрессию белков, участвующих в миграции и инвазии. Следует также помнить, что регуляцию экспрессии генов в промоторных участках ДНК ФСК осуществляют не только механизмы метилирования ДНК, но и ацетилирования гистонов, малые некодирующие РНК и другие факторы эпигенома [27]. Пока неясно, как координируются процессы нарушения метилирования ДНК, ацетилирования гистонов, активности малых РНК, обеспечивая стабильность фенотипа ФСК, их провоспалительный потенциал, хотя эпигенетические изменения уже могут объяснить некоторые ключевые особенности измененного фенотипа ФСК при РА. Важно то, что большинство приобретенных эпигенетических нарушений – обратимые процессы, регулируемые специфическими ферментами и кофакторами, которые позволяют клеткам изменять экспрессию генов в ответ на различные раздражители. И это значит, что ферменты и молекулярные комплексы, участвующие в этих процессах, являются потенциальными терапевтическими мишенями, а культура ФСК больных РА *in vitro* – адекватная модель для доклинического скрининга новых лекарственных соединений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования показано, что культуры ФСК больных РА при стимуляции IL-1 β увеличивают продукцию остеопротегерина. Вне-

сение в культуры метилирующих соединений – SAME и генистеина – приводило к статистически значимому снижению продукции ОПГ, а добавление деметилирующего агента гидралазина не меняло синтез цитокина. Все три используемых модулятора метилирования ДНК в разных концентрациях статистически значимо снижали количество спонтанно мигрировавших и инвазивных ФСК в камере Бойдена. Таким образом, ферменты и молекулярные комплексы, участвующие в процессах метилирования ДНК, являются потенциальными терапевтическими мишенями, а культура ФСК больных РА *in vitro* может быть моделью для доклинического скрининга новых лекарственных соединений.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Huber L.C., Distler O., Tarner I., Gay R.E., Gay S., Pap T. Synovial fibroblasts: key players in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2006; 45 (6): 669–675. DOI: 10.1093/rheumatology/kei065.
2. Müller-Ladner U., Kriegsmann J., Franklin B.N., Matsumoto S., Geiler T., Gay R.E., Gay S. Synovial fibroblasts of patients with rheumatoid arthritis attach to and invade normal human cartilage when engrafted into SCID mice. *Am. J. Pathol.* 1996; 149 (5): 1607–1615.
3. Lefèvre S., Knedla A., Tennie C., Kampmann A., Wunrau C., Dinser R., Korb A., Schnäker E.M., Tarner I.H., Robbins P.D., Evans C.H., Stürz H., Steinmeyer J., Gay S., Schölerich J., Pap T., Müller-Ladner U., Neumann E. Synovial fibroblasts spread rheumatoid arthritis to unaffected joints. *Nat. Med.* 2009; 15 (12): 1414–1420. DOI: 10.1038/nm.2050.
4. Шнайдер М.А., Ширинский В.С., Ширинский И.В. Культура фибробластоподобных синовиальных клеток больных ревматоидным артритом: свойства и возможности. *Медицинская иммунология*. 2016; 18 (2): 107–118. [Schneider M.A., Shirinsky V.S., Shirinsky I.V. Cultures of fibroblast-like synovial cells from patients with rheumatoid arthritis: properties and opportunities. *Medical Immunology*. 2016; 18 (2): 107–118 (in Russ.)]. DOI: 10.15789/1563-0625-2016-2-107-118.
5. Boyle W.J., Simonet W.S., Lacey D.L. Osteoclast differentiation and activation. *Nature*. 2003; 423: 337–342. DOI: 10.1038/nature01658.
6. Takayanagi H., Oda H., Yamamoto S., Kawaguchi H., Tanaka S., Nishikawa T., Koshihara Y. A new mechanism of bone destruction in rheumatoid arthritis: synovial fibroblasts induce osteoclastogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997; 240 (2): 279–286. DOI: 10.1006/bbrc.1997.7404.
7. Lacey D.L., Timms E., Tan H.-L., Kelley M.J., Dunstan C.R., Burgess T., Elliot R., Colombero A., Elliot G., Scully S., Hsu H., Sullivan J., Hawkins N., Davy E., Capparelli C., Eli A., Qian Y.X., Kaufman S., Sarosi I., Shalhoub V.,

- Senaldi G., Guo J., Delaney J., Boyle W.J. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell*. 1998; 93: 165–176. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81569-X.
8. Haynes D.R., Barg E., Crotti T.N., Holding C., Weedon H., Atkins G.J., Zannettino A., Ahern M.J., Coleman M., Roberts-Thomson P.J., Kraan M., Tak P.P., Smith M.D. Osteoprotegerin expression in synovial tissue from patients with rheumatoid arthritis, spondyloarthropathies and osteoarthritis and normal controls. *Rheumatology (Oxford)*, 2003. 42 (1): 123–134.
 9. Crotti T.N., Ahern M.J., Lange K., Weedon H., Coleman M., Roberts-Thomson P.J., Haynes D.R., Smith M.D. Variability of RANKL and osteoprotegerin staining in synovial tissue from patients with active rheumatoid arthritis: quantification using color video image analysis. *J. Rheumatol.* 2003; 30 (11): 2319–2324.
 10. Fonseca J.E., Cortez-Dias N., Francisco A., Sobral M., Canhão H., Resende C., Castelo W., Macieira C., Sequeira G., Saraiva F., Pereira da Silva J.A., Carmo-Fonseca M., Viana Queiroz M. Inflammatory cell infiltrate and RANKL/OPG expression in rheumatoid synovium: comparison with other inflammatory arthropathies and correlation with outcome. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2005; 23 (2): 185–192.
 11. Skoumal M., Kolarz G., Haberhauer G., Woloszczuk W., Hawa G., Klingler A. Osteoprotegerin and the receptor activator of NF-kappa B ligand in the serum and synovial fluid. A comparison of patients with longstanding rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Rheumatol. Int.* 2005; 26 (1): 63–69. DOI: 10.1007/s00296-004-0579-1.
 12. Moutasim K.A., Nystrom M.L., Thomas G.J. Cell migration and invasion assays. *Methods in Molecular Biology*. 2011; 731: 333–343. DOI: 10.1007/978-1-61779-080-5_27.
 13. Bartok B., Firestein G.S. Fibroblast-like synoviocytes: key effector cells in rheumatoid arthritis. *Immunol. Rev.* 2010; 233 (1): 233–255. DOI: 10.1111/j.0105-2896.2009.00859.x.
 14. Portela A., Esteller M. Epigenetic modifications and human diseases. *Nat. Biotechnol.* 2010; 28 (10): 1057–1068. DOI: 10.1038/nbt.1685.
 15. Dolinoy D.C., Weidman J.R., Waterland R.A., Jirtle R.L. Maternal genistein alters coat color and protects a^y mouse offspring from obesity by modifying the fetal epigenome. *Environ. Health Perspect.* 2006; 114 (4): 567–572. DOI: 10.1289/ehp.8700.
 16. Li J., Gang D., Yu X., Hu Y., Yue Y., Cheng W., Pan X., Zhang P. Genistein: the potential for efficacy in rheumatoid arthritis. *Clin. Rheumatol.* 2013; 32 (5): 535–540. DOI: 10.1007/s10067-012-2148-4.
 17. Arce C., Segura-Pacheco B., Perez-Cardenas E., Taja-Chayeb L., Candelaria M., Duennas-Gonzalez A. Hydralazine target: from blood vessels to the epigenome. *J. Transl. Med.* 2006; 4: 10–22. DOI: 10.1186/1479-5876-4-10.
 18. Lydersen S. Statistical review: frequently given comments. *Ann. Rheum. Dis.* 2015; 74 (2): 323–325. DOI: 10.1136/annrheumdis-2014-206186.
 19. Firestein G.S. Etiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis. In: Firestein G.S., Budd R.C., Harris T., McInnes I.B., Ruddy S., Sargent J.S., editors. *Kelly's Textbook of Rheumatology*. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier, 2009: 1035–1086. DOI: 10.1016/B978-0-323-31696-5.00069-3.
 20. Redlich K., Hayer S., Ricci R., David J.P., Tohidast-Akrad M., Kollias G., Steiner G., Smolen J.S., Wagner E.F., Schett G. Osteoclasts are essential for TNF- α -mediated joint destruction. *J. Clin. Invest.* 2002; 110 (10): 1419–1427. DOI: 10.1172/JCI15582.
 21. Bromley M., Woolley D.E. Chondrocytes and osteoclasts at subchondral sites of erosions in the rheumatoid joint. *Arthritis Rheum.* 1984; 27 (9): 968–975.
 22. Gravalles E.M., Manning C., Tsay A., Naito A., Pan C., Amento E., Goldring S.R. Synovial tissue in rheumatoid arthritis is a source of osteoclast differentiation factor. *Arthritis Rheum.* 2000; 43: 250–258. DOI: 10.1002/1529-0131(200002)43:2<250::aid-anr3>3.0.co;2-p
 23. Yasuda H., Shima N., Nakagawa N., Yamaguchi K., Kinoshita M., Mochizuki S.-I., Tomoyasu A., Yano K., Goto M., Murakami A., Tsuda E., Morinaga T., Higashio K., Udagawa N., Takahashi N., Suda T. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1998; 95 (7): 3597–3602.
 24. Simonet W.S., Lacey D.L., Dunstan C.R., Kelley M., Chang M.S., Lüthy R., Nguyen H.Q., Wooden S., Bennett L., Boone T., Shimamoto G., DeRose M., Elliott R., Colombero A., Tan H.L., Trail G., Sullivan J., Davy E., Bucay N., Renshaw-Gegg L., Hughes T.M., Hill D., Pattison W., Campbell P., Sander S., Van G., Tarpley J., Derby P., Lee R., Boyle W.J. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*. 1997; 89: 309–319. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80209-3.
 25. Hofbauer L.C., Khosla S., Dunstan C.R., Lacey D.L., Boyle W.J., Riggs B.L. The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption. *J. Bone Miner. Res.* 2000; 15: 2–12. DOI: 10.1359/jbmr.2000.15.1.2.
 26. Yano K., Nakagawa N., Yasuda H., Tsuda E., Higashio K. Synovial cells from a patient with rheumatoid arthritis produce osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin: reciprocal regulation of the production by inflammatory cytokines and basic fibroblast growth factor. *J. Bone Miner. Metab.* 2001; 19 (6): 365–372. DOI: 10.1007/s007740170006.
 27. Klein K., Ospelt C., Gay S. Epigenetic contributions in the development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 2012; 14 (6): 227. DOI: 10.1186/ar4074.
 28. Bustamante M.F., Garcia-Carbonell R., Whisenant K.D., Guma M. Fibroblast-like synoviocyte metabolism in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis. Res. Ther.* 2017; 19 (1): 110. DOI: 10.1186/s13075-017-1303-3.
 29. Kramer N., Walzl A., Unger C., Rosner M., Krupitza G., Hengstschläger M., Dolznig H. In vitro cell migration and

- invasion assays. *Mutat. Res.* 2013; 752 (1): 10–24. DOI: 10.1016/j.mrrev.2012.08.001.
30. Shelef M.A., Bennin D.A., Yasmin N., Warner T.F., Ludwig T., Beggs H.E., Huttenlocher A. Focal adhesion

kinase is required for synovial fibroblast invasion, but not murine inflammatory arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 2014; 16 (5): 464. DOI: 10.1186/s13075-014-0464-6.

Сведения об авторах

Шнайдер Мария Александровна, аспирант, лаборатория клинической иммунофармакологии, НИИФКИ, г. Новосибирск.

Ширинский Валерий Степанович, д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник, лаборатория клинической иммунофармакологии, НИИФКИ, г. Новосибирск. ORCID iD 0000-0002-4922-9303.

Калиновская Наталья Юрьевна, канд. мед. наук, лаборант, лаборатория клинической иммунофармакологии, НИИФКИ, г. Новосибирск.

Ширинский Иван Валерьевич, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория клинической иммунофармакологии, НИИФКИ, г. Новосибирск. ORCID iD 0000-0002-8603-3406.

(✉) Шнайдер Мария Александровна, e-mail: minerva1986@mail.ru.

Поступила в редакцию 11.12.2018
Подписана в печать 11.06.2019

Authors information

Shnayder Maria A., PhD Student, Laboratory of Clinical Immunopharmacology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation.

Shirinsky Valery S., DM, Professor, Main Researcher, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-4922-9303.

Kalinovskaya Natalia Y., PhD, Researcher, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation.

Shirinsky Ivan V., DM, Leading Researcher, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-8603-3406.

(✉) Shnayder Maria A., e-mail: minerva1986@mail.ru.

Received 11.06.2019
Accepted 11.06.2019

УДК 616-006.6-073.916

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-125-133>

Альтернативные каркасные белки в радионуклидной диагностике злокачественных образований

Брагина О.Д.¹, Чернов В.И.^{1,2}, Зельчан Р.В.¹,
Синилкин И.Г.¹, Медведева А.А.¹, Ларькина М.С.³

¹ Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
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

РЕЗЮМЕ

В настоящем обзоре обсуждается относительно новый класс направленных адресных молекул, активно исследующийся в отношении радионуклидной диагностики и лечения злокачественных образований. Используемые до настоящего времени полноразмерные антитела обладают неоптимальными фармакологическими свойствами, медленным распределением в организме, плохим проникновением в ткани, выведением почками и высокой иммуногенностью, что существенно затрудняет их применение в клинической практике. В течение последнего десятилетия большую популярность приобретают таргетные молекулы, получившие название «альтернативные каркасные белки» (АКБ) или «скаффолды» и отвечающие всем требованиям для оптимальной доставки радионуклида к опухолевым клеткам. Обычно АКБ имеют меньшие размеры по сравнению с антителом, но большие, чем пептиды, и характеризуются высокой аффинностью и оптимальными биохимическими, биофизическими, биологическими и экономическими характеристиками. Преимуществами таких белков являются их стабильная структура, хорошее проникновение в ткани, возможность дополнительной функционализации и экспрессия в бактериальной системе, обеспечивающая низкую стоимость производства.

Результаты проведенных к настоящему моменту доклинических и клинических исследований для диагностики злокачественных образований с использованием таких представителей АКБ, как аффибоди, аднектин, дарпины и пр., продемонстрировали высокую специфичность, аффинность, хорошую переносимость и низкую иммуногенность используемых препаратов.

Ключевые слова: альтернативные каркасные белки, скаффолд, радионуклидная диагностика, молекулярные мишени.

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

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» по теме «Доклинические исследования радиофармацевтического препарата на основе меченых ^{99m}Tc рекомбинантных адресных молекул для радионуклидной диагностики онкологических заболеваний с гиперэкспрессией Her-2/neu». Шифр «2017-14-N08-0060». Государственный контракт № 14.N08.11.0163 от 31.08.2017.

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

Для цитирования: Брагина О.Д., Чернов В.И., Зельчан Р.В., Синилкин И.Г., Медведева А.А., Ларкина М.С. Альтернативные каркасные белки в радионуклидной диагностике злокачественных образований. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 125–133. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-125-133>.

УДК 616-006.6-073.916

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-125-133>

Alternative scaffolds in radionuclide diagnosis of malignancies

Bragina O.D.¹, Chernov V.I.^{1,2}, Zeltchan R.V.¹, Sinilkin I.G.¹, Medvedeva A.A.¹, Larkina M.S.³

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

² National Research Tomsk Polytechnic University 30, Lenina Av., 634050, Tomsk, Russian Federation

³ Siberian State Medical University (SSMU) 2, Moscow Trakt, 634050, Tomsk, Russian Federation

ABSTRACT

This review discusses a relatively new class of targeted molecules that is being actively studied for radionuclide diagnosis and treatment of malignancies. The full-size antibodies used so far have non-optimal pharmacological properties, slow distribution in the body, poor penetration into the tissue and kidney excretion, and high immunogenicity, which significantly complicates their use in clinical practice. Over the past decade, a new class of targeted molecules, called “non-immunoglobulin scaffolds” have become popular; they have all the requirements for optimal delivery of a radionuclide to tumor cells. Scaffolds usually are smaller in size in comparison with antibodies, but they are larger than peptides, and are characterized by high affinity and optimal biochemical, biophysical, biological, and economic features. The advantages of such proteins are their stable structure, good penetration into tissues, the possibility of additional functionalization and expression in the bacterial system, which ensures low production costs.

The results of preclinical and clinical studies for diagnosis of malignancies using such proteins as affibody, adnectin, DARPins, etc., have demonstrated their high specificity, affinity, good tolerance and low immunogenicity.

Key words: alternative proteins, scaffold, radionuclide diagnosis, molecular targets.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Source of financing. The study was supported by the Federal target program “Development of pharmaceutical and medical industries of the Russian Federation up to 2020 and further” on the topic “Preclinical trials of the radiopharmaceutical based on ^{99m}Tc-labeled recombinant target molecules for radionuclide diagnosis of cancer with overexpression of Her-2/neu”. Code “2017-14-N08-0060”. State contract No. 14.N08.11.0163 of 31.08.2017.

For citation: Bragina O.D., Chernov V.I., Zeltchan R.V., Sinilkin I.G., Medvedeva A.A., Larkina M.S. Alternative scaffolds in radionuclide diagnosis of malignancies. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 125–133. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-125-133>.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время для диагностики злокачественных образований все большее распространение получают таргетные радионуклидные методы,

обладающие высокой специфичностью к различным молекулярным мишеням, расположенным на поверхности мембран опухолевых клеток и позволяющим визуализировать очаги различных

размеров (основной опухолевый узел и метастатические очаги) [1]. До недавнего времени в качестве основного компонента радиоиммюноконъюгата использовались моноклональные антитела (мкАТ) [2]. Однако результаты исследований с применением мкАТ не оправдали возложенных на них ожиданий и выявили ряд особенностей, существенно ограничивающих их использование в клинической практике. При тщательном изучении оказалось, что мкАТ обладают значительно сниженной эффективностью взаимодействия с антигеном, неоптимальными фармакологическими свойствами, медленным распределением в организме, плохим проникновением в ткани и выведением почками (из-за высокой молекулярной массы – 150 кДа) [3]. К наиболее существенному недостатку относится высокая иммуногенность применяемых мышиных мкАТ, что в ответ на их введение приводит к образованию нейтрализующих антител и, соответственно, к возникновению гипериммунных реакций и снижению эффективности лечения. Стало очевидным, что для клинического применения необходимо кардинальное видоизменение мкАТ, включающее коррекцию размеров, аффинности, валентности и пр. [4].

В связи с поиском новых эффективных агентов, способных нацеливаться на специфические мишени, началось интенсивное изучение молекулярных конструкций, альтернативных связывающим доменам антител и имеющих ряд обязательных характеристик, таких как связывание исключительно с «таргетным» антигеном для специфической локализации, отсутствие иммуногенности, стабильность и возможность быстрой химической модификации для проведения процессов мечения [5]. Помимо этого, оптимальной функцией для радионуклидной визуализации являются скорость связывания препарата с мишенью и быстрое удаление несвязавшихся молекул из организма пациента для достижения высокого качества визуализации опухоли и сокращения временного промежутка между инъекцией и началом исследования [6].

В течение последнего десятилетия большую популярность приобретает новый класс таргетных молекул, получивших название «альтернативные каркасные белки» (АКБ) или «скаффолды» (scaffolds) и отвечающих всем требованиям для оптимальной доставки радионуклида к опухолевым клеткам [7]. Впервые термин «скаффолд» был введен профессором Плюктуном и соавт. для обозначения белкового каркаса или остова, состоящего из видоизмененных аминокислотных остатков или небольших последовательностей и

придающего различным вариантам белка разные функции, чаще возможность эффективного связывания со специфическими мишенями [8].

Обычно АКБ имеют меньшие размеры по сравнению с антителом, но большие, чем пептиды, и характеризуются высокой аффинностью и оптимальными биохимическими, биофизическими, биологическими и экономическими характеристиками. Преимуществами таких белков являются их стабильная структура, хорошее проникновение в ткани, возможность дополнительной функционализации и экспрессия в бактериальной системе, обеспечивающая низкую стоимость производства [9]. При этом основными требованиями к данной категории полипептидов являются наличие компактной и относительно жесткой пространственной структуры-каркаса, перспективы последующих белково-инженерных манипуляций и возможности получения гибридов с другими функциональными модулями. Целью стратегии с использованием высокоаффинных структур для связывания с мишенью является идентификация молекул с 3D-формой, которые будут совпадать со специфичным определенной опухоли антигеном [10]. Обычно АКБ состоят из выбранной белковой структуры/каркаса с подходящими свойствами для топографических вариаций. В данном случае важным моментом является то, что белковая структура остается стабильной под влиянием широкого спектра используемых растворителей и методов воздействия. Обычно для этого, с одной стороны, требуется небольшой размер молекул для облегчения производства, с другой – для увеличения разнообразия манипуляций для создания многомерных и биспецифических конструкций или изменения размера [11].

РАЗНОВИДНОСТИ АКБ И ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ИХ СИНТЕЗА

Альтернативные каркасные белки можно классифицировать по различным критериям, таким как размер, способ синтеза, происхождение, и биологическим функциям. Одним из основных критериев, однако, является их разделение в соответствии с элементами структуры, что объясняется возможностью передачи их биологических свойств также и новым производным (рис.) [12, 13]. Первый класс представляют собой соединения доменного строения (domain-sized compounds) (6–20 кДа), такие как аффибоды (Affibody, Inc.), альбумин-связывающие домены, имеющие родство с протеином (ADAPTs), аффилины (Scil Proteins GmbH), антикарины (Pierris, Inc.), атримеры (Anaphore, Inc.), дарпины

(Dyax, Inc., Shire Inc.), Fn3 скаффолды (Molecular Partners, Inc.), финомерные платформы (Janssen), домены типа ингибитора кунитца или пронектин (Protelica), последовательности на основе FN3 белка (Protelica, Inc.). Ко второму классу

относятся пептиды с закрепленной структурой (constrained peptides) (2–4 кДа), такие как вимеры (Avimers [Avidia, Inc.]), бициклический пептиды (Bicycle Therapeutics, Inc.) и цистеин-содержащие пептиды [14].

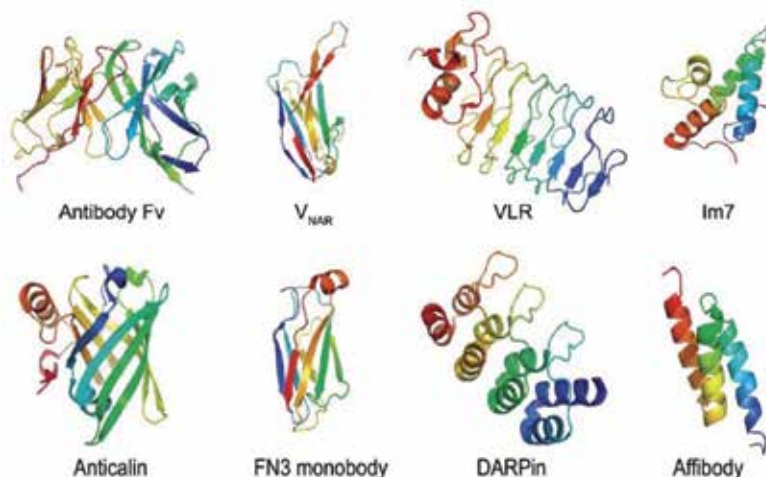


Рисунок. Схематичное изображение различных альтернативных каркасных белков

Figure. Schematic representation of scaffolds

Для обоих классов альтернативных каркасных белков характерен синтез с использованием комбинаторной библиотеки, которая включает набор генов АКБ со случайной последовательностью нуклеотидов в определенных участках, кодирующих варьируемые аминокислотные остатки [15]. Комбинаторная библиотека содержит миллиарды молекул, лежащих в основе постоянной белковой матрицы, разделенной на несколько отличающихся друг от друга областей. Обычно библиотеки смешиваются с иммобилизированным в процессе селекции антигеном, после чего путем вымывания «выбираются» только связавшиеся с ним молекулы, обладающие хорошей аффинностью [16]. Для создания высокоспецифичной молекулы с заданными характеристиками к этапу селекции обычно добавляют дополнительные этапы, удаляя при этом молекулы, связавшиеся одновременно как с нежелательными, так и с желательными мишенями [17]. На следующем этапе проводят идентификацию полученных клонов и изучение свойств полученного белка [18].

Для отбора с помощью комбинаторной библиотеки белков, обладающих заданными связывающими свойствами, используется несколько различных стратегий или систем белковой селекции. Поскольку методы определения последовательности ДНК являются более доступными, все используемые в настоящее время системы основываются на связи между генотипом (кодирующей

последовательностью) и фенотипом (связывающей активностью) белка, что позволяет легко идентифицировать и амплифицировать отобранные полипептиды при помощи кодирующих их ДНК или РНК [19].

Различные системы селекции обладают своими преимуществами и ограничениями. Их выбор в каждом конкретном случае основывается на различных факторах, в частности доступности и свойствах целевого лиганда [20]. Можно выделить три основных типа систем селекции: системы клеточного и бесклеточного дисплея и системы селекции *in vivo*. При использовании клеточного дисплея в клетки организма-хозяина различными способами вводят ДНК, представляющую собой соответствующую комбинаторную библиотеку, в результате чего связывающие белки экспонируются на поверхности клеток или фаговых частиц (фаговый дисплей) либо экспрессируются в какой-либо обособленной области клетки. Характерной чертой бесклеточных систем является использование транскрипции и трансляции *in vitro* для конструирования и скрининга комбинаторных библиотек [21]. При помощи данного способа могут быть получены библиотеки размером до 10^{13} вариантов, причем на стадии амплификации возможно проведение мутагенеза *in vitro*, обеспечивающего направленную эволюцию в каждом раунде селекции [22]. Существуют также системы селекции *in vivo*, в которых

целевой лиганд экспрессируется совместно с вариантами связывающих белков из библиотеки, таким образом процесс селекции не зависит от доступности целевого лиганда [23].

ПРИМЕНЕНИЕ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ КАРКАСНЫХ БЕЛКОВ ДЛЯ РАДИО-НУКЛИДНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОБРАЗОВАНИЙ

Аффибоды. К наиболее изученным представителям АКБ относятся аффибоды, являющиеся первыми скаффолдами, использованными для радионуклидной визуализации (таблица) [14]. В настоящее время закончены I/II фазы клинических исследований по изучению накопления радиоактивного фармацевтического препарата на основе молекулы АВУ-025, меченной ^{111}In и ^{68}Ga , для диагностики с помощью однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ) и позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) метастатического Her2/neu – позитивного рака молочной железы. При клинической апробации были продемонстрированы хорошая переносимость и отсутствие иммунных реакций на повторное введение препарата. Сравнение с результатами иммуногистохимического анализа биопсийного материала показало, что измерение максимального захвата через 2–4 ч после введения препарата является значимой характеристикой, позволяющей дифференцировать метастатическое поражение с экспрессией Her2/neu 2^+ и 3^+ . Также для выделения высокой и низкой экспрессии Her2/neu может использоваться референсное значение опухоль–селезенка при проведении как ПЭТ, так и ОФЭКТ и тем самым независимо от внешних аппаратных калибровок [24–26].

В настоящее время ведутся исследования в отношении молекул аффибоды ZIGF1R:4551 и Z08698, тропных к инсулиноподобному фактору роста 1 (IGF-1R) и эпидермальному фактору роста Her3 соответственно. Гиперэкспрессия данных молекулярных маркеров, как известно, может ассоциироваться с резистентностью к трастузумабу у больных раком молочной железы, а их выявление позволит ее предсказывать и корректировать планируемое лечение. Также экспрессия данных маркеров имеет важное значение и при других злокачественных образованиях, например, раке простаты и яичников. Меченная $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3$ ZIGF1R:4551 и меченная ^{68}Ga Z08698 молекулы на доклинических исследованиях продемонстрировали высокую аккумуляцию в опухолевых клетках и распределение соединения в

опухолевой ткани ксенографта, пропорциональные уровню экспрессии Her3 [27].

Также проводятся доклинические этапы по изучению молекул аффибоды ZEGFR:2377 к эпидермальному фактору роста EGFR1 для диагностики немелкоклеточного рака легких и опухолей головы и шеи, ZCAIX:2 к углеродной ангидразе IX для выявления радиорезистентных гипоксических опухолей и рака почки, а также Z09591 к рецептору фактора роста тромбоцитов Я [28, 29].

Дарпины. Представляют собой естественные анкириновые повторы пептида, состоящего из повторяющихся доменов длиной 33 а.о. и обладающего стабильной структурой из Я-поворота и двух α -спиралей. Обычно белки представлены 4–6 модулями с суммарной молекулярной массой от 14 до 21 кДа (молекулярная масса каждого 3,5 кДа) [30, 31].

Одно из первых доклинических исследований с использованием дарпина G3 было проведено Goldstein с соавт., описывающего мечение данной молекулы ^{125}I и ^{111}In для ОФЭКТ диагностики опухолей с гиперэкспрессией Her2/neu. По результатам этого исследования в обоих случаях отмечался высокий захват препарата опухолевой тканью на моделях BT-474 ксенографтов через 4 ч после введения. Однако более низкое поглощение нормальными тканями при использовании меченного ^{111}In компонента привело к увеличению соотношения опухоль–фон по сравнению с аналогом, меченным ^{125}I [32].

Результаты исследования Vorobyeva с соавт. с применением молекул дарпина 9_29, меченных $^{99\text{m}}\text{Tc}$ и ^{125}I , в обоих случаях – *in vitro* и *in vivo* – продемонстрировали высокую чувствительность и специфичность соединений к рецепторам Her2/neu [33, 34].

ADAPT. Представляют собой 46-аминокислотный каркас альбуминсвязывающего домена стрептококкового белка G с молекулярной массой 5,2 кДа. Нацеленный на рецептор Her2 ADAPT6 был выбран из-за его высокоаффинного связывания и быстрого выведения из кровотока в связи с низким связыванием с альбумином. Соединения на основе меченного $^{111}\text{In}/^{68}\text{Ga}$ ADAPT6 на этапе доклинических исследований продемонстрировали высокой захват опухолевой тканью SCOV3 ксенографтов через 1 ч после введения с четкой дифференцировкой по данным компьютерной томографии между высоким и низким уровнями экспрессии молекулярного маркера [35]. Последующие исследования продемонстрировали, что специфичность ADAPT6 значительно улучшается путем химической

модификации и добавлении N-терминального конца. При использовании оптимизированного варианта Cys³⁹-(HE)3DANS-ADAPT6, меченного ¹¹¹In, соотношение опухоль–кровь через 4 ч после введения составило 277 ± 35 [36].

Аднектин. Протеин, представляющий собой 10-й домен фибронектина III типа FN3 молекулярной массой 10 кДа и направленный на CD20 для ПЭТ-визуализации В-клеточных лимфом. Данная молекула обладает термостабильностью, высокой растворимостью и имеет пространственную структуру. *In vivo* проводилось изучение соединений на основе меченной ⁶⁴Cu молекулы FN3_{CD20} (⁶⁴Cu-DOTA-FN3CD20) на моделях опухолевого роста трансгенных животных, которое продемонстрировало высокое удельное накопление в селезенке и органах, экспрессирующих CD20 через 1 ч после введения препарата. У нетрансгенных мышей, несущих опухоли человека, экспрессирующих CD20, ис-

пользование соединения ⁶⁴Cu-FN3CD20 продемонстрировало высокий специфический захват опухолевой тканью с низкой аккумуляцией здоровыми тканями через 4 ч после инъекции [37]. Относительно недавно началось изучение аднектина к поверхностному рецептору PD-L1, участвующему в иммунной отмене. По результатам *in vivo* исследований на моделях опухолевого поражения у животных меченной ¹⁸F молекулы BMS-986192 (18F-BMS-986192) при проведении ПЭТ опухолевый узел визуализировался через 2 ч после инъекции. При проведении исследования Synomolgus специфическое связывание ¹⁸F-BMS-986192 отмечалось в селезенке с быстрым выведением из кровотока через почки и мочевого пузыря. В настоящее время проводятся одноцентровые клинические испытания данного соединения CheckMate 511 (NCT02714218 / EudraCT 2015-004920-67) у пациентов с отдаленными метастазами при меланоме [38].

Таблица
Table

Разновидности меченных АКБ, используемых в течение последних 5 лет для направленной радионуклидной визуализации онкологических заболеваний					
Varieties of labeled scaffolds used for radionuclide imaging of oncological diseases over the last 5 years					
Тип скаффолда Scaffold type	Исходный протеин Original protein	Мишень Target	Основной компонент Principal component	Изотоп Isotope	Стадия исследования Stage of the research
Аднектин Adnectin	10-й домен человеческого FN3 10 th human FN3 domain	CD20	FN3 _{CD20}	⁶⁴ Cu	Доклиническая Preclinical trials
		PD-L1	BMS-986192	¹⁸ F	Доклиническая Preclinical trials
Аффибоди Affibody	Z-домен стафилококкового протеина A Z domain of staphylococcal protein A	HER2	ABY-025	⁶⁸ Ga	Клиническая Clinical trials
			ZHER2:V2	¹¹¹ In	Клиническая Clinical trials
				¹⁸⁸ Re	Доклиническая Preclinical trials
		HER3	Z08698	¹¹¹ In	Доклиническая Preclinical trials
				⁶⁸ Ga	Доклиническая Preclinical trials
			Z08699	^{99m} Tc	Доклиническая Preclinical trials
		IGF-1R	ZIGFR:2377	⁶⁸ Ga	Доклиническая Preclinical trials
				^{55/57} Co	Доклиническая Preclinical trials
		CAIX	ZCAIX:2	^{99m} Tc	Доклиническая Preclinical trials
			ZCAIX:4	¹²⁵ I	Доклиническая Preclinical trials
		PDGFR α	Z09591	⁶⁸ Ga	Доклиническая Preclinical trials
		PD-L1	Z _{PD-L1_1}	¹⁸ F	Доклиническая Preclinical trials

Окончание таблицы
End of table

Тип скаффолда Scaffold type	Исходный протеин Original protein	Мишень Target	Основной компонент Principal component	Изотоп Isotope	Стадия исследования Stage of the research
ADAPT	Альбуминсвязывающий домен протеина стрептококка G Albumin-binding domain of streptococcal protein G	HER2	C-(HE) ₃ -ADAPT6	⁶⁸ Ga	Доклиническая Preclinical trials
				¹¹¹ In	Доклиническая Preclinical trials
			Cys ⁵⁹ -(HE)3DANS-ADAPT6	¹¹¹ In	Доклиническая Preclinical trials
				¹²⁵ I	Доклиническая Preclinical trials
			Cys ² -(HE)3DANS-ADAPT6	¹¹¹ In	Доклиническая Preclinical trials
				¹²⁵ I	Доклиническая Preclinical trials
Дарпин DARPin	Естественные анкириновые повторы Natural ankyrin repeats	HER2	G3	¹¹¹ In	Доклиническая Preclinical trials
			9_29	¹²⁵ I	Доклиническая Preclinical trials
				^{99m} Tc	Доклиническая Preclinical trials
Knottin	Ингибитор цистеинового узла Inhibitor cysteine knot	$\alpha_v\gamma_6$	S ₀ 2	⁶⁴ Cu	Доклиническая Preclinical trials
		$\alpha_v\gamma_6$	7c	¹¹¹ In	Доклиническая Preclinical trials
			3-4A	¹⁸ F	Доклиническая Preclinical trials

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, использование альтернативных каркасных белков для таргетной радионуклидной диагностики злокачественных образований представляет огромный интерес и является актуальным и перспективным направлением. Неоспоримыми преимуществами данного рода соединений являются их небольшие размеры, высокие аффинность и специфичность, стабильная структура, хорошее проникновение в ткани, хорошая переносимость, а также относительно низкая стоимость производства. Несомненно, использование в клинической практике соединений на основе меченных изотопами скаффолдов позволит проводить определение распространенности опухолевого процесса как основного опухолевого узла, так и регионарных узлов и отдаленных органов и тканей, часто имеющих различия в экспрессии маркеров, без лишних инвазивных вмешательств, тем самым повышая точность диагностического этапа и корректируя тактику лечения пациентов, а также выполнять динамическую оценку состояния опухоли на фоне проводимого лечения.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Чернов В.И., Медведева А.А., Синилкин И.Г., Зельчан Р.В., Брагина О.Д., Чойнзоннов Е.Л. Ядерная медицина в диагностике и адресной терапии злокачественных новообразований. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (1): 220–231. [Chernov V.I., Medvedeva A.A., Sinilkin I.G., Zelchan R.V., Bragina O.D., Choyzonov E.L. Nuclear medicine as a tool for diagnosis and targeted cancer therapy. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2018; 17 (1): 220–231 (in Russ.).]
- Tolmachev V., Orlova A., Andersson K. Methods for radiolabelling of monoclonal antibodies. *Methods Mol. Biol.* 2014; 1060: 309–330. DOI: 10.1007/978-1-62703-586-6_16.
- 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. [Chernov V.I., Bragina O.D., Sinilkin I.G., Medvedeva A.A., Zelchan R.V. Radioimmunotherapy: Current state of the problem. *Oncological Questions*. 2016; 62 (1): 24–30 (in Russ.).]
- Nicholes N., Date A., Beaujean P., Hauk P, Kanwar M, Ostermeier M. Modular protein switches derived from antibody mimetic proteins. *Protein Engineering, Design and Selection*. 2016; 29: 77–85. DOI: 10.1093/protein/gzv062.
- Чернов В.И., Брагина О.Д., Синилкин И.Г., Тицкая А.А., Зельчан Р.В. Радиоиммунотерапия в лечении злокачественных образований. *Сибирский онкологический журнал*. 2016; 15 (2): 101–106. [Chernov V.I., Bragina O.D., Sinilkin I.G., Medvedeva A.A., Titskaya A.A., Zelchan R.V. Radioimmunotherapy in the treatment of malignancies. *Siberian Journal of Oncology*. 2016; 15 (2): 101–106 (in Russ.).] DOI: 10.21294/1814-4861-2016-15-2-101–106.
- Stumpp M., Binz H., Amstutz P. DARPins: A new generation of protein therapeutics. *Drug Discovery Today*. 2008; 13 (15–16): 695–701. DOI: 10.1016/j.drudis.2008.04.013.

7. Vazquez-Lombardi R., Giang Phan T., Zimmermann C., Lowe D., Jermutus L., Christ D. Challenges and opportunities for non-antibody scaffold drugs. *Drug Discovery Today*. 2015; 20 (10): 1271–1283. DOI: 10.1016/j.drudis.2015.09.004.
8. Plückthun A. Designed ankyrin repeat proteins (DARPs): binding proteins for research, diagnostics, and therapy. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2015; 55: 489–511. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-010611-134654.
9. Azhar A., Ahmad E., Zia Q., Rauf M.A., Owais M., Ashraf G.M. Recent advances in the development of novel protein scaffolds based therapeutics. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017; 102: 630–641. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.04.045.
10. Hausamann S., Vogel M., Kremer J.A. Designed ankyrin repeat proteins: A new approach to mimic complex antigens for diagnostic purposes? *PLoS One*. 2013; 8: 1–9. DOI: 10.1371/journal.pone.0060688.
11. Moody P., Chudasama V., Nathani R.I., Maruani A., Martin S., Smith M.B., Caddick S. A rapid, site-selective and efficient route to the dual modification of DARPs. *Chem. Commun. (Camb.)*. 2014; 50 (38): 4898–4900. DOI: 10.1039/c4cc00053f.
12. Kramer L., Renko M., Završnik J., Turk D., Seeger M.A., Vasiljeva O., Grütter M.G., Turk V., Turk B. Non-invasive in vivo imaging of tumour-associated cathepsin B by a highly selective inhibitory DARPin. *Theranostics*. 2017; 7 (11): 2806–2821. DOI: 10.7150/thno.19081.
13. Houlihan G., Gatti-Lafronconi P., Lowe D., Hollfelder F. Directed evolution of anti-HER2 DARPs by SNAP display reveals stability/function trade-offs in the selection process. *Protein Eng. Des. Sel.* 2015; 28 (9): 269–279. DOI: 10.1093/protein/gzv029.
14. Krasniqi A., D'Huyvetter M., Devoogdt N., Frejd F. Y., Sorensen J., Orlova A., Keyaerts M., Tolmachev V. Same-Day Imaging Using Small Proteins: Clinical Experience and Translational Prospects in Oncology. *Journal of Nuclear Medicine*. 2018; 59 (6): 885–891. DOI: 10.2967/jnumed.117.199901.
15. Boersma Y., Pluckthun A. DARPs and other repeat protein scaffolds: advances in engineering and applications. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2011; 22 (6): 849–857. DOI: 10.1016/j.copbio.2011.06.004.
16. Binz H., Stumpp M., Forrer P., Amstutz P., Plückthun A. Designing repeat proteins: well-expressed, soluble and stable proteins from combinatorial libraries of consensus ankyrin repeat proteins. *J. Mol. Biol.* 2003; 332 (2): 489–503. DOI: 10.1016/S0022-2836(03)00896-9.
17. Buday L., Tompa P. Functional classification of scaffold proteins and related molecules. *The FEBS Journal*. 2010; 277 (21): 4348–4355. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2010.07864.x.
18. Петровская Л.Е., Шингарова Л.Н., Долгих Д.А., Кирпичников М.П. Альтернативные каркасные белки. *Биоорганическая химия*. 2011; 37 (5): 581–591. [Petrovskaya L.E., Shingarova L.N., Dolgikh D.A., Kirpichnikov M.P. Alternative Scaffold Proteins. *Bioorganic Chemistry*. 2011; 37 (5): 581–591 (in Russ.)].
19. Frejd F.Y., Kim K. Affibody molecules as engineered protein drugs. *Experimental & Molecular Medicine*. 2017; 49 (3): e306. DOI: 10.1038/emmm.2017.35.
20. Good M.C., Zalatan J.G., Lim W.A. Scaffold Proteins: Hubs for Controlling the Flow of Cellular Information. *Science*. 2011; 332 (6030): 680–686. DOI: 10.1126/science.1198701.
21. Simeon R., Chen Z. In vitro-engineered non-antibody protein therapeutics. *Protein Cell*. 2018; 9 (1): 3–14. DOI: 10.1007/s13238-017-0386-6.
22. De Vos J., Devoogdt N., Lahoutte T., Muyldermans S. Camelid single-domain antibody-fragment engineering for (pre)clinical in vivo molecular imaging applications: adjusting the bullet to its target. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2013; 13 (8): 1149–1160. DOI: 10.1517/14712598.2013.800478.
23. Miao Z., Levi J., Cheng Z. Protein scaffold-based molecular probes for cancer molecular imaging. *Amino Acids*. 2011; 41 (5): 1037–1047. DOI: 10.1007/s00726-010-0503-9.
24. Sorensen J., Sandberg D., Sandstrom M., Wennborg A., Feldwisch J., Tolmachev V., Eström G., Lubberink M., Garske-Römn U., Carlsson J., Lindman H. First-in-human molecular imaging of HER2 expression in breast cancer metastases using the ¹¹¹In-ABY-025 affibody molecule. *J. Nucl. Med.* 2014; 55 (5): 730–735. DOI: 10.2967/jnumed.113.131243.
25. Sorensen J., Velikyan I., Sandberg D., Wennborg A., Feldwisch J., Tolmachev V., Orlova A., Sandström M., Lubberink M., Olofsson H., Carlsson J., Lindman H. Measuring HER2-receptor expression in metastatic breast cancer using [⁶⁸Ga]ABY-025 Affibody PET/CT. *Theranostics*. 2016; 6 (2): 262–271. DOI: 10.7150/thno.13502.
26. Sandstrom M., Lindskog K., Velikyan I., Wennborg A., Feldwisch J., Sandberg D., Tolmachev V., Orlova A., Sörensen J., Carlsson J., Lindman H., Lubberink M. Biodistribution and radiation dosimetry of the anti-HER2 Affibody molecule ⁶⁸Ga-ABY-025 in breast cancer patients. *J. Nucl. Med.* 2016; 57 (6): 867–871. DOI: 10.2967/jnumed.115.169342.
27. Nahta R., Yu D., Hung M.C., Hortobagyi G.N., Esteva F.J. Mechanisms of disease: understanding resistance to HER2-targeted therapy in human breast cancer. *Nat. Clin. Pract. Oncol.* 2006; 3 (5): 269–280.
28. Garousi J., Honarvar H., Andersson K.G., Mitran B., Orlova A., Buijs J., Löfblom J., Frejd F.Y., Tolmachev V. Comparative evaluation of Affibody molecules for radionuclide imaging of *in vivo* expression of carbonic anhydrase IX. *Mol. Pharm.* 2016; 13 (11): 3676–3687. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.6b00502.
29. Strand J., Varasteh Z., Eriksson O., Abrahmsen L., Orlova A., Tolmachev V. Gallium-68-labeled affibody molecule for PET imaging of PDGFR beta expression *in vivo*. *Mol. Pharm.* 2014; 11 (11): 3957–3964. DOI: 10.1021/mp500284t.
30. Hanenberg M., McAfoose J., Kulic L. Amyloid-β peptide-specific DARPs as a novel class of potential therapeutics for Alzheimer disease. *J. Biol. Chem.* 2014; 289 (39): 27080–27089. DOI: 10.1074/jbc.M114.564013.

31. Tamaskovic R., Simon M., Stefan N., Schwill M., Plückthun A. Designed ankyrin repeat proteins (DARPin) from research to therapy. *Methods Enzymol.* 2012; 503: 101–134. DOI: 10.1016/B978-0-12-396962-0.00005-7.
32. Goldstein R., Sosabowski J., Livanos M., Leyton J., Vigor K., Bhavsar G., Nagy-Davidescu G., Rashid M., Miranda E., Yeung J., Tolner B., Plückthun A., Mather S., Meyer T., Chester K. Development of the designed ankyrin repeat protein (DARPin) G3 for HER2 molecular imaging. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2015; 42 (2): 288–301. DOI: 10.1007/s00259-014-2940-2.
33. Vorobyeva A., Bragina O., Altai M., Mitran B., Orlova A., Shulga A., Proshkina G., Chernov V., Tolmachev V., Deyev S. Comparative Evaluation of Radioiodine and Technetium-Labeled DARPin 9₂₉ for Radionuclide Molecular Imaging of HER2 Expression in Malignant Tumors. *Contrast Media & Molecular Imaging.* 2018; 2018: 6930425. DOI: 10.1155/2018/6930425.
34. Брагина О.Д., Ларькина М.С., Стасюк Е.С., Чернов В.И., Юсубов М.С.О., Скуридин В.С., Деев С.М., Зельчан Р.В., Булдаков М.А., Подрезова Е.В., Белоусов М.В. Разработка высокоспецифического радиохимического соединения на основе меченных ^{99m}Tc рекомбинантных адресных молекул для визуализации клеток с гиперэкспрессией Her2/neu. *Бюллетень сибирской медицины.* 2017; 16 (3): 25–33. [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 (in Russ.)]. DOI: 10.20538/1682-0363-2017-3-25–33.
35. Garousi J., Lindbo S., Nilvebrant J., Estrand M., Buijs J., Sandström M., Honarvar H., Orlova A., Tolmachev V., Hober S. ADAPT, a novel scaffold protein-based probe for radionuclide imaging of molecular targets that are expressed in disseminated cancers. *Cancer Res.* 2015; 75: 4364–4371. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-3497.
36. Lindbo S., Garousi J., Mitran B., Altai M., Buijs J., Orlova A., Hober S., Tolmachev V. Radionuclide tumor targeting using ADAPT scaffold proteins: aspects of label positioning and residualizing properties of the label. *J. Nucl. Med.* 2018; 59 (1): 93–99. DOI: 10.2967/jnumed.117.197202.
37. Natarajan A., Hackel B.J., Gambhir S.S. A novel engineered anti-CD20 tracer enables early time PET imaging in a humanized transgenic mouse model of B-cell non-Hodgkins lymphoma. *Clin. Cancer Res.* 2013; 19 (24): 6820–6829. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0626.
38. Donnelly D.J., Smith R.A., Morin P., Lipovšek D., Goke-meijer J., Cohen D., Lafont V., Tran T., Cole E.L., Wright M., Kim J., Pena A., Kukral D., Dischino D.D., Chow P., Gan J., Adelakun O., Wang X.T., Cao K., Leung D., Bonacorsi S.J. Jr., Hayes W. Synthesis and biological evaluation of a novel 18F-labeled Adnectin as a PET radioligand for imaging PD-L1 expression. *J. Nucl. Med.* 2018; 59 (3): 529–535. DOI: 10.2967/jnumed.117.199596.

Сведения об авторах

Брагина Ольга Дмитриевна, канд. мед. наук, врач-онколог, мл. науч. сотрудник, отделение радионуклидной диагностики НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-5281-7758.

Чернов Владимир Иванович, д-р мед. наук, профессор, руководитель отделения радионуклидной диагностики НИИ онкологии, Томский НИМЦ; НИ ТПУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-5524-9546.

Зельчан Роман Владимирович, канд. мед. наук, врач-радиолог, отделение радионуклидной диагностики, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-4568-1781.

Синилкин Иван Геннадьевич, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, отделение радионуклидной диагностики НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-6351-6408.

Медведева Анна Александровна, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, отделение радионуклидной диагностики НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-5840-3625.

Ларькина Мария Сергеевна, канд. фармацевт. наук, доцент, кафедра фармацевтического анализа СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0003-1176-2441.

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

Поступила в редакцию 18.02.2018
Подписана в печать 11.06.2019

Authors information

Bragina Olga D., PhD, Junior Researcher, Nuclear Medicine Department, Oncology Research Institute, Tomsk NRMC, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-5281-7758.

Chernov Vladimir I., DM, Professor, Head of the Nuclear Medicine Department, Oncology Research Institute, Tomsk NRMC; NR TPU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-5524-9546.

Zelchan Roman V., PhD, Radiologist, Nuclear Medicine Department, Oncology Research Institute, Tomsk NRMC, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-4568-1781.

Sinilkin Ivan G., PhD, Senior Researcher, Nuclear Medicine Department, Oncology Research Institute, Tomsk NRMC, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-6351-6408.

Medvedeva Anna A., PhD, Senior Researcher, Nuclear Medicine Department, Oncology Research Institute, Tomsk NRMC, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-5840-3625.

Larkina Maria S., PhD, Associate Professor, Pharmaceutical Analysis Division, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-1176-2441.

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

Received 18.02.2018
Accepted 11.06.2019

Митохондриальная ДНК как кандидатный DAMP при критических состояниях

Григорьев Е.В.^{1,3}, Салахов Р.Р.², Голубенко М.В.^{1,2}, Понасенко А.В.¹, Шукевич Д.Л.^{1,3}, Матвеева В.Г.¹, Радивилко А.С.¹, Цепочкина А.В.¹, Великанова Е.А.¹, Корнелюк Р.А.^{1,3}, Ивкин А.А.^{1,3}

¹ Научно-исследовательский институт (НИИ) комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний Россия, 650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6

² Научно-исследовательский институт (НИИ) медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук Россия, 634050, г. Томск, ул. Набережная реки Ушайки, 10

³ Кемеровский государственный медицинский университет (КГМУ) Россия, 650000, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22а

РЕЗЮМЕ

Недавно открытая роль митохондрий и митохондриальной ДНК в развитии иммунного ответа находится в фокусе внимания современных исследований. Растет число доказательств того, что митохондриальная ДНК, сохранившая некоторые характеристики генома древних α -протеобактерий, является иммунным стимулом для воспалительных реакций. Системный воспалительный ответ является частым осложнением при оперативных вмешательствах и различных травмах, и причины его развития не могут быть объяснены обычными подходами. В обзоре представлена информация о современном понимании механизмов развития воспаления, опосредованного мтДНК, в том числе системного воспалительного ответа, а также о факторах, регулирующих гомеостаз митохондрий и высвобождение мтДНК при различных патологических состояниях.

Ключевые слова: митохондриальная ДНК, DAMP, системный воспалительный ответ, сепсис, травма.

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

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ для ведущих научных школ НШ-2696.2018.7 «Прогнозирование и превентивная интенсивная терапия персистирующей полиорганной недостаточности».

Для цитирования: Григорьев Е.В., Салахов Р.Р., Голубенко М.В., Понасенко А.В., Шукевич Д.Л., Матвеева В.Г., Радивилко А.С., Цепочкина А.В., Великанова Е.А., Корнелюк Р.А., Ивкин А.А. Митохондриальная ДНК как кандидатный DAMP при критических состояниях. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 134–143. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-134-143>.

УДК 616-039.74:577.213

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-134-143>

Mitochondrial DNA as DAMP in critical conditions

Grigoriev E.V.^{1,3}, Salakhov R.R.², Golubenko M.V.^{1,2}, Ponasenko A.V.¹, Shukevich D.L.^{1,3},
Matveeva V.G.¹, Radivilko A.S.¹, Tsepokina A.V.¹, Velikanova E.A.¹, Kornelyuk R.S.^{1,3},
Ivkin A.S.^{1,3}

¹ Federal State Budgetary Scientific Institution Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases
6, Sosnoviy Blvd, Kemerovo, 650002, Russian Federation

² Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center (NRMC) of the Russian Academy
of Sciences
10, Naberezhnaya Usbaiki Str., Tomsk, 634050, Russian Federation

³ Kemerovo State Medical University (KSMU)
22a, Voroshilov Str., Kemerovo, 650000, Russian Federation

ABSTRACT

The focus of the researchers' attention today includes the recently discovered role of mitochondria in the immune response. Increasing evidence shows that mitochondrial DNA, in retaining some of their characteristics of the ancient α -proteobacteria's genome, is a potent immune stimulus for inflammatory reactions. Systemic inflammatory response is a frequent complication in surgical interventions and various traumas, and its development cannot be explained using common conceptions. This review provides information on the current understanding of the development of inflammation mediated by mtDNA, including systemic inflammatory response, and on the mechanisms regulating mitochondrial homeostasis and mtDNA release in various pathological conditions.

Key words: mitochondrial DNA, DAMP, systemic inflammatory response, sepsis, trauma.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. This work was supported by a grant from the President of the Russian Federation for leading scientific schools NSH-2696.2018.7 "Prediction and preventive intensive care of persistent multiple organ failure".

For citation: Bragina O.D., Chernov V.I., Zeltchan R.V., Sinilkin I.G., Medvedeva A.A., Larkina M.S. Alternative scaffolds in radionuclide diagnosis of malignancies. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 134–143. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-134-143>.

ВВЕДЕНИЕ

Согласно теории эндосимбиогенеза, более двух миллиардов лет назад α -протеобактерии – предшественники митохондрий – стали частью эукариотических клеток [1]. С тех пор большинство генов исходного генома этих протеобактерий «переселились» в ядро, однако и сегодня митохондрии обладают собственным геномом. Митохондриальная ДНК (мтДНК) человека и других млекопитающих кодирует субъединицы комплексов окислительного фосфорилирования, а также тРНК и рРНК для синтеза этих белков в мито-

хондриях. Кроме этого, считается, что мтДНК может участвовать в иммунном ответе, действуя как алармин, или DAMP (damage-associated molecular pattern). Одна из первых работ на эту тему была опубликована в 2004 г. [2]. Авторы обнаружили, что при добавлении к спленоцитам мыши мтДНК вызывала секрецию фактора некроза опухоли, а при введении в суставы мышей – индуцированный артрит. В основе этих исследований лежит представление о том, что митохондрии сохранили признаки древних α -протеобактерий, в том числе неметилированные CpG сайты

и N-формильные пептиды [3]. Данные структуры распознаются как чужеродные паттерны распознающими рецепторами системы врожденного иммунитета (pattern recognition receptors – PRRs) – это Toll-подобные рецепторы (TLR), RIG-I-подобные рецепторы (RLR), Nod-подобные рецепторы (NLR) и рецепторы лектина C-типа (CLR) [4–6]. Таким образом, имеющиеся данные позволяют предположить триггерную роль митохондриальных структур в активации системного воспалительного ответа, в том числе при массивном повреждении тканей и некрозе клеток.

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДНК: СТРОЕНИЕ, ФУНКЦИИ И РЕГУЛЯЦИЯ

Нуклеотидная последовательность митохондриальной ДНК человека была определена в 1981 г. [7]. МтДНК представляет собой кольцевую молекулу протяженностью 16 569 пар оснований, кодирующей 37 генов: 13 генов кодируют белки субъединиц комплекса окислительного фосфорилирования, две рибосомальные РНК (12S и 16S) и 22 транспортные РНК. Все остальные белки, необходимые для функционирования митохондрий, кодируются ядерными генами и импортируются в органеллы [8]. Основной регуляторный регион мтДНК содержит промоторы транскрипции (промотор тяжелой цепи (the heavy-strand promoter – HSP) и промотор легкой цепи (the light-strand promoter – LSP), а также сайт репликации тяжелой цепи (O_H)) [9].

МЕХАНИЗМЫ ВЫХОДА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК В ЦИТОЗОЛЬ И ВНЕКЛЕТОЧНОЕ ПРОСТРАНСТВО

Несмотря на то, что основной функцией митохондрий является производство АТФ, они также вовлечены в механизмы клеточной гибели: некроз и апоптоз. Гибель клеток по апоптотическому типу является физиологическим процессом и не приводит в нормальных условиях к разрушению плазматических мембран и выходу содержимого клеток в межклеточное пространство. Некротическая гибель клетки, наоборот, сопровождается повреждением и повышением проницаемости мембран клетки, в первую очередь митохондрий, а затем и остальных органелл, что в конечном счете приводит к разрыву плазматической мембраны, высвобождению продуктов клеточного распада в межклеточное пространство. Некроз клеток является основным фактором, однако существует еще несколько вариантов выхода митохондриальной ДНК из митохондрий.

Так, например, митохондриальная дисфункция может привести к выходу мтДНК в цитозоль при нарушении процессов аутофагии и формирования инфламмасом [10–12]. Помимо аутофагии, возможен путь, связанный с митохондриальными везикулами, которые являются посредниками переноса митохондриальных белков в эндосомы для представления антигенов. Существует предположение, что они вовлечены в представление мтДНК для TLR9 [13, 14].

Другим возможным источником «свободной» мтДНК является нарушение структуры упаковки нуклеоида за счет недостатка транскрипционного митохондриального фактора А (TFAM), в результате чего образуется aberrантная мтДНК, способная выходить в цитозоль [15]. Еще одним предполагаемым механизмом, посредством которого мтДНК может попасть во внеклеточное пространство, является некроптоз (запрограммированная форма некроза), который в отличие от апоптоза запускается с помощью семейства факторов некроза опухолей, Toll-подобными рецепторами и ДНК-зависимым активатором регуляторных факторов интерферона [16, 17]. Кроме того, тромбоциты также могут быть источником внеклеточной мтДНК, высвобождая ее после своей активации под действием секретируемой фосфолипазы A2 [18].

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДНК КАК DAMP

Одним из основных механизмов запуска иммунной реакции при высвобождении мтДНК является ее взаимодействие с TLR9 (Toll-like receptor 9). TLR9 является рецептором врожденного иммунного ответа, способным распознавать бактерии и вирусы путем связывания с неметилированными CpG-мотивами в структуре их ДНК [19, 20]. После взаимодействия с мтДНК сигнал от TLR9 передается через цитозольный адаптерный белок MYD88 (myeloid differentiation primary response protein 88) к митоген-активированной протеинкиназе (MAPK) и транскрипционному фактору NF- κ B для инициирования воспалительной реакции и последующего хемотаксиса нейтрофилов. Доказательства того, что мтДНК как субстанция, содержащая структуры, гомологичные бактериальным агентам, может активировать реакции врожденного иммунного ответа через взаимодействие с TLR9, были получены в ряде работ на модельных животных [21]. Так, в моделях *in vivo* введение мтДНК мышам приводило к синдрому острого повреждения легких и почек путем активации TLR9-зависимого пути воспаления [22, 23].

Помимо стимуляции путем воздействия внеклеточной циркулирующей мтДНК, захваченной путем эндоцитоза, существует и прямой путь активации TLR9. В работе Т. Ока и соавт. показано, что в кардиомиоцитах при ингибировании ДНКазы II (лизосомального фермента, принимающего участие в деградации ДНК в апоптотических тельцах) мтДНК не подвергается аутофагии и запускает TLR9-зависимый путь воспаления, что приводит к миокардиту или кардиомиопатии. Этот механизм может быть актуальным при развитии многих хронических неинфекционных заболеваний, связанных с воспалением, таких как атеросклероз, метаболический синдром и сахарный диабет [24, 25]. Одним из возможных механизмов запуска является захват везикул митохондриального происхождения (Mitochondrial-derived vesicle – MDV) с формированием аутофагосомы-лизосомы для представления TLR9 [26].

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДНК И ИНФЛАММАСОМА

Еще одним возможным механизмом, с помощью которого мтДНК вызывает воспалительный иммунный ответ, является взаимодействие с протеиновыми комплексами – инфламмасомами, модулирующими воспалительные реакции путем активации каспазы-1 и секреции провоспалительных цитокинов (*IL-1 β* , *IL-18*) [27]. Существует четыре типа рецепторов, активируемых экзогенными PAMP (Pathogen-associated molecular pattern) и (или) эндогенными DAMP, посредством которых запускается каскад синтеза провоспалительных цитокинов – NLRP1 (NOD, LRR and Pyrin domain-containing protein 1), NLRP3, NLRC4 (NLR family CARD domain-containing protein 4) и AIM2 (absent in melanoma 2). Кластеризуясь друг с другом, эти рецепторы приводят к образованию комплекса инфламмасы и активации каспазы-1, которая, в свою очередь, переводит неактивные формы про-*IL-1 β* , про-*IL-18* в активные молекулы. Действие митохондриальных DAMP чаще всего реализуется через NLRP3 путь, хотя точный механизм остается неясным. При этом для активации NLRP3 пути требуется наличие активных форм кислорода [10, 28]. Получены данные о том, что NLRP3 может связываться с мтДНК, при этом предпочтение отдается окисленным формам мтДНК, что объясняет необходимость присутствия АФК [29]. Высокие уровни АФК могут также способствовать перекисному окислению липидов плазматической мембраны, вызывая пермеабиллизацию и высвобождение DAMP [30]. В ряде работ было показано, что мтДНК-опосредо-

ванная активация инфламмасы вовлечена в такие патологические состояния, как атеросклероз, возрастная дегенерация желтого пятна и некоторые другие [31, 32].

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДНК И СТИМУЛЯЦИЯ СИНТЕЗА ИНТЕРФЕРОНОВ

В течение последних лет накоплены доказательства того, что цитозольные двуцепочечные ДНК (эндогенного или экзогенного происхождения), взаимодействуя с паттерн-распознающими рецепторами, могут опосредовать иммунный ответ и по TLR9-независимому пути у TLR9-дефицитных мышей [33]. После взаимодействия мтДНК с PRR, в частности с RIG-I, сигнал передается на циклическую цГМФ-цАМФ синтазу (сGAS), которая, в свою очередь, активирует цитозольный белок STING (Stimulator of Interferon Genes), прикрепленный к мембране эндоплазматического ретикулума. Затем STING активирует регуляторный фактор интерферона (ИФН) 3 (IRF3), который транслируется в ядро и запускает транскрипцию интерферонов I типа [34]. По-видимому, высвобождаемая в цитозоль мтДНК активирует синтез ИФН I типа по такому же механизму. Показано, что в случае дефицита апоптотических каспаз 3, 7 и 9 происходит усиление выработки ИФН I типа. Этот механизм зависит от Bax/Bak проапоптотических белков, ответственных за пермеабиллизацию митохондриальной мембраны и высвобождение мтДНК и цитохрома C, запускающего апоптоз. В случае удаления вышеуказанных каспаз, ответственных за окончание апоптоза, мтДНК продолжает активировать сGAS/STING-зависимый путь выработки интерферонов. Однако при воздействии бромистым этидием на культуры клеток, с целью уменьшения количества копий мтДНК, выработка ИФН резко снижалась по сравнению с контролем, что указывает на роль мтДНК как основного индуктора в сGAS/STING-зависимом пути активации выработки ИФН I типа [35, 36].

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДНК И СИНДРОМ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА

Оперативное вмешательство само по себе является сильным стимулом к развитию иммунного ответа при нарушении целостности тканей [37, 38], и среди наиболее частых осложнений у пациентов в послеоперационном периоде является системный воспалительный ответ (СВО). Меха-

низмы, лежащие в основе СВО, во многом неизвестны. Наиболее часто в литературе встречаются предположения о роли ишемия-реперфузионной травмы, системы комплемента и эндотоксикации в развитии СВО, но четкого понимания этого процесса нет [39, 40]. Считается что, при оперативном вмешательстве механическая травма вызывает клеточное повреждение. В результате в кровоток выходят различные клеточные элементы, которые выступают в роли DAMP [41–43]. Было показано, что различные виды травм приводят к высвобождению в кровоток мтДНК и N-формильных пептидов, которые активируют и стимулируют нейтрофилы и запускают СВО [41, 44–46].

В другой работе, выполненной S. Sun и соавт., было показано, что митохондриальные DAMP (мтДНК, N-формильные пептиды) приводили к двустадийному повышению проницаемости мембран эндотелиальных клеток. Первая фаза была короткой и не зависела от нейтрофилов, а вторая характеризовалась более пролонгированным нейтрофил-зависимым периодом. При использовании мтДНК в очищенном виде этот эффект сохранялся, что не наблюдалось при воздействии только N-формильными пептидами. Однако воздействие на митохондриальные DAMP протеазами приводило к уменьшению проницаемости эндотелия, тем самым показывая, что до сих пор не ясно, какие именно молекулы приводят к повышению проницаемости мембран эндотелиальных клеток. Возможно, происходит какое-то конформационное изменение мтДНК, однако точный механизм пока не известен. Кроме того, было показано, что мтДНК вызывала увеличение экспрессии адгезивных молекул: селектинов (E-селектин) и интегринов (ICAM-1) в EC и их контрлигандами CD18 и L-селектином в нейтрофилах, тем самым способствуя адгезии нейтрофилов с эндотелиальными клетками. Эти результаты говорят о том, что митохондриальные DAMP принимают участие в реализации взаимодействия эндотелиальных клеток и нейтрофилов при травматическом повреждении [47].

Увеличение экспрессии адгезивных молекул было показано и в другой работе. При исследовании влияния мтДНК или ее лигандов на тубулярные эпителиальные клетки почек и тромбоциты было установлено, что повышение концентрации циркулирующей мтДНК приводит к увеличению экспрессии воспалительных цитокинов и P-селектина. Однако не получено данных о связи циркулирующей мтДНК с развитием острой почечной недостаточности и СВО. При этом показано, что уровень мтДНК в моче коррелирует с повы-

шенным соотношением альбумина к креатинину, маркерами воспаления, коагуляции и активации тромбоцитов. Кроме того, активация тромбоцитов приводит к дополнительному высвобождению мтДНК, что также, возможно, усиливает каскад реакций воспаления [48].

Высвобождение DAMP при трансфузиологических манипуляциях может быть возможным механизмом развития СВО при оперативных вмешательствах. Наиболее частым и тяжелым осложнением при множественных переливаниях крови является синдром острого повреждения легких [49]. Было показано, что мтДНК может быть медиатором синдрома острого повреждения легких и СВО при частом переливании различных препаратов донорской крови [50]. Данные по поражению легких при введении мтДНК в кровоток были показаны и на модельных животных [42]. В исследовании D.J. McIlroy и соавт. пытались оценить изменение активности ДНКазы – плазматического фермента, расщепляющего внеклеточные ДНК, при проведении оперативного вмешательства у пациентов с ортопедическими травмами [45]. Взятие образцов крови проводили по пяти точкам в периоперационном периоде (до и после операции, через 7, 24 ч и на 3-и сут). Было показано, что уровень мтДНК повышался у всех пациентов после оперативного вмешательства. При этом активность ДНКазы была ниже в группе лиц с травмами по сравнению с контрольной группой, но не наблюдалось никакой корреляции между активностью ДНКазы и концентрацией мтДНК в периоперационном периоде. Уровень мтДНК коррелировал с развитием СВО, но не с развитием полиорганной недостаточности [45]. Введение крысам со смоделированной пневмонией интратрахеально ДНКазы I приводило к разрушению циркулирующей внеклеточной мтДНК, накопленной в перфузате, и тем самым предотвращало повреждение легких [51].

Еще один из возможных факторов в развитии СВО и действии мтДНК как DAMP был исследован в работе N. Sandler и соавт. при оценке риска постоперативной фибрилляции предсердий, которая является наиболее частым осложнением при кардиохирургических вмешательствах, проводимых в условиях искусственного кровообращения [52]. В этом исследовании было показано, что уровень мтДНК в плазме крови увеличивался в шесть раз сразу после применения ИК ($p = 0,008$) и сохранял высокие значения в течение 1–2 сут ($p = 0,02$) по сравнению со значениями до оперативного вмешательства. При этом у пациентов с операциями по протезированию клапанов сердца

уровень мтДНК в плазме крови имел тенденцию к повышению по сравнению с пациентами с аорто-коронарным шунтированием. Кроме того, у пациентов был повышен плазменный уровень хорошо известного провоспалительного цитокина – *IL-6*. Но увеличение его концентрации происходило более медленно по сравнению с уровнем мтДНК, и максимум регистрировался на 1–2-е сут после оперативного вмешательства. Авторы предположили, что оценка содержания мтДНК в плазме крови пациентов с кардиохирургическими вмешательствами может использоваться как более ранний маркер воспаления и развития СВО. Помимо этого, ими было показано, что у пациентов с развившейся постоперативной фибрилляцией предсердий наблюдается двукратное увеличение уровня мтДНК в плазме по сравнению с группой пациентов без фибрилляций.

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДНК И СЕПСИС

Развитие такого критического состояния, как сепсис, приводит к последующему системному подавлению иммунного ответа. Считается, что сепсис вызывается как микробными агентами, так и патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (РАМР), что в итоге выражается развитием двухфазного иммунного ответа. На первом этапе происходит развитие СВО, сопровождаемое септическим шоком и полиорганной недостаточностью вследствие «иммунного паралича» и неспособности давать адекватный ответ на вторичные оппортунистические инфекции. После этого наступает стадия иммуносупрессии, сопровождающаяся снижением производства про- и противовоспалительных цитокинов и истощением иммунных клеток [53]. Однако не всегда у пациентов в критическом состоянии обнаруживается наличие инфекционного агента. При этом пациенты проявляют повышенную восприимчивость к сепсису и развитию иммуносупрессии под действием эндогенных триггеров.

Одна из первых работ в этом направлении была опубликована в 2013 г. К. Narahira с соавт. [43]. В исследование было включено 200 пациентов отделения интенсивной терапии, поступивших в период с 2008 по 2011 г. Было показано, что число копий мтДНК в плазме крови выше у пациентов, умерших в течение 28 дней с момента поступления в стационар, по сравнению с выжившими (9 504 копии/мкл против 1 927 копий/мкл). У всех пациентов, умерших в течение 28 дней, значение числа копий мтДНК было выше 3 200 мкл, и при использовании значения (свыше 3 200 копий/мкл) этого показателя в прогностической

модели было достигнуто увеличение значения площади под кривой с 0,76 до 0,83. В исследовании V.C. Bhagirath с соавт. был проведен анализ влияния внеклеточных ядерной, митохондриальной и бактериальной ДНК на жизнеспособность нейтрофилов и секрецию ими *IL-6* у пациентов с сепсисом и контрольной группе [54]. Они показали, что количество митохондриальной ДНК и ядерной ДНК в плазме пациентов с сепсисом было выше по сравнению с контрольной группой. Кроме того, мтДНК и бактериальная ДНК, в отличие от ядерной ДНК, пролонгировали жизнеспособность нейтрофилов, при этом увеличение секреции *IL-6* происходило только при воздействии бактериальной ДНК. Похожие результаты были получены и в других работах [53, 55]. При этом в работе S.T. Schäfer и соавт. было показано, что высокая концентрация мтДНК обладает сильным иммуносупрессивным свойством как при сепсисе, так и при отсутствии бактериальных агентов [53].

Еще в одной работе, посвященной выявлению связи уровней ядерной и митохондриальной ДНК в плазме крови с маркерами воспаления, показателями тяжести шока и повреждения органов у пациентов с септическим шоком, было показано, что у пациентов с септическим шоком определялись высокие концентрации плазменных цитокинов, ядерной ДНК и мтДНК. Однако при этом ядерная ДНК имела более сильную связь с уровнем цитокинов, чем мтДНК. Аналогичные результаты были получены и при введении эндотоксина добровольцам. Считается, что нуклеиновые кислоты высвобождаются после некроза клеток или их разрушения. В результате работы было продемонстрировано, что даже незначительное воздействие эндотоксинами с целью моделирования системного воспалительного ответа, который, как ожидается, не должен вызывать разрушения и некроза клеток, все равно приводит к высвобождению нуклеиновых кислот [56].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Митохондрии являются важными органеллами, принимающими участие в механизмах клеточного метаболизма, в сигнальных путях, вовлеченных в ответ клеток на повреждение, а также в развитии иммунных ответов на патогены. Структурные и функциональные особенности митохондрий, такие как гипометилирование участков мтДНК, N-формильные пептиды, а также повышенная восприимчивость к окислительному стрессу, играют важную роль, являясь по сути эндогенными DAMP, запуская механизм воспа-

ления, схожий с септическим процессом, что в итоге проявляется более тяжелым течением основного заболевания.

Приведенные данные показывают, что мтДНК выступает важным иммуностимулирующим фактором, попадая в цитоплазму, внеклеточное пространство и кровоток при нарушении целостности мембран клетки и клеточного повреждения. Однако остается много вопросов, связанных с механизмами высвобождения мтДНК во внутри- и внеклеточное пространство в результате митофагии или аутофагии. Кроме того, активация агонистов мтДНК и запуск иммунного ответа могут зависеть от характеристик молекул мтДНК – нуклеотидной последовательности, длины фрагментов, конформации и других факторов, и эти параметры пока остаются не исследованными. Также необходимо более полно изучить механизмы взаимодействия мтДНК различными рецепторами системы врожденного иммунитета и пути дальнейшего развития воспалительного процесса, что в конечном итоге позволит получить новые знания, необходимые как для разработки методов диагностики и лечения хронических патологий, так и для предотвращения жизнеугрожающих осложнений в послеоперационном периоде.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Friedman J.R., Nunnari J. Mitochondrial form and function. *Nature*. 2014; 505 (7483): 335–343. DOI: 10.1038/nature12985.
- Collins L.V., Hajizadeh S., Holme E., Jonsson I.M., Tarowski A. Endogenously oxidized mitochondrial DNA induces *in vivo* and *in vitro* inflammatory responses. *J. Leukoc Biol*. 2004; 75 (6): 99–1000. DOI: 10.1189/jlb.0703328.
- West A.P., Shadel G.S., Ghosh S. Mitochondria in innate immune responses. *Nat. Rev. Immunol*. 2011; 11 (6): 389–402. DOI: 10.1038/nri2975.
- Takeuchi O., Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*. 2010; 140 (6): 805–820. DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.022.
- Weinberg S.E., Sena L.A., Chandel N.S. Mitochondria in the regulation of innate and adaptive immunity. *Immunity*. 2015; 42 (3): 406–417. DOI: 10.1016/j.immuni.2015.02.002.
- Nakahira K., Hisata S., Choi A.M. The roles of mitochondrial damage-associated molecular patterns in diseases. *Antioxid. Redox. Signal*. 2015; 23 (17): 1329–1350. DOI: 10.1089/ars.2015.6407.
- Anderson S., Bankier A.T., Barrell B.G., de Bruijn M.H., Coulson A.R., Drouin J., Eperon I.C., Nierlich D.P., Roe B.A., Sanger F., Schreier P.H., Smith A.J., Staden R., Young I.G. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*. 1981; 290 (5806): 457–465.
- Calvo S.E., Mootha V.K. The mitochondrial proteome and human disease. *Annu. Rev. Genomics Hum Genet*. 2010; 11: 25–44. DOI: 10.1146/annurev-genom-082509-141720.
- Nicholls T.J., Minczuk M. In D-loop: 40 years of mitochondrial 7S DNA. *Exp. Gerontol*. 2014; 56: 175–181. DOI: 10.1016/j.exger.2014.03.027.
- Nakahira K., Haspel J.A., Rathinam V.A., Lee S.J., Dolinay T., Lam H.C., Englert J.A., Rabinovitch M., Cernadas M., Kim H.P., Fitzgerald K.A., Ryter S.W., Choi A.M. Autophagy proteins regulate innate immune responses by inhibiting the release of mitochondrial DNA mediated by the NALP3 inflammasome. *Nat. Immunol*. 2011; 12(3): 222–230. DOI: 10.1038/ni.1980.
- Jung S.S., Moon J.S., Xu J.F., Ifedigbo E., Ryter S.W., Choi A.M., Nakahira K. Carbon monoxide negatively regulates NLRP3 inflammasome activation in macrophages. *Am. J. Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol*. 2015; 308: 1058–1067. DOI: 10.1152/ajplung.00400.2014.
- Won J.H., Park S., Hong S., Son S., Yu J.W. Rotenone-induced impairment of mitochondrial electron transport chain confers a selective priming signal for NLRP3 inflammasome activation. *J. Biol. Chem*. 2015; 290 (45): 27425–27437. DOI: 10.1074/jbc.M115.667063.
- Cadete V.J., Deschknes S., Cuillerier A., Brisebois F., Sugiura A., Vincent A., Turnbull D., Picard M., McBride H.M., Burelle Y. Formation of mitochondrial-derived vesicles is an active and physiologically relevant mitochondrial quality control process in the cardiac system. *J. Physiol*. 2016; 594 (18): 5343–5362. DOI: 10.1113/JP272703.
- Matheoud D., Sugiura A., Bellemare-Pelletier A., Laplante A., Rondeau C., Chemali M., Fazel A., Bergeron J.J., Trudeau L.E., Burelle Y., Gagnon E., McBride H.M., Desjardins M. Parkinson's disease-related proteins PINK1 and Parkin repress mitochondrial antigen presentation. *Cell*. 2016; 166: 314–327. DOI: 10.1016/j.cell.2016.05.039.
- West A.P., Khoury-Hanold W., Staron M., Tal M.C., Pineda C.M., Lang S.M., Bestwick M., Duguay B.A., Raimundo N., MacDuff D.A., Kaech S.M., Smiley J.R., Means R.E., Iwasaki A., Shadel G.S. Mitochondrial DNA stress primes the antiviral innate immune response. *Nature*. 2015; 520 (7548): 553–557. DOI: 10.1038/nature14156.
- Kaczmarek A., Vandenabeele P., Krysko D.V. Necroptosis: the release of damage-associated molecular patterns and its physiological relevance. *Immunity*. 2013; 38 (2): 209–223. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.02.003.
- Mangalmurti N., Qing D., Hotz M., Siegel D.L., Sontheimer N., Mangalmurti N.S. Mitochondrial DNA released following necroptosis accumulates on RBCs. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2016; 193: A4309.
- Boudreau L.H., Duchez A.C., Cloutier N., Soulet D., Martin N., Bollinger J., Paré A., Rousseau M., Naika G.S., Lévesque T., Laflamme C., Marcoux G., Lambeau G., Farndale R.W., Pouliot M., Hamzeh-Cognasse H., Cognasse F., Garraud O., Nigrovic P.A., Guderley H., Lacroix S., Thibault L., Semple J.W., Gelb M.H., Boilard E. Platelets release mitochondria serving as substrate for bactericidal group IIA-secreted phospholipase A2 to

- promote inflammation. *Blood*. 2014; 124 (14): 2173–2183. DOI: 10.1182/blood-2014-05-573543.
19. Hemmi H., Takeuchi O., Kawai T., Kaisho T., Sato S., Sanjo H., Matsumoto M., Hoshino K., Wagner H., Takeda K., Akira S. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature*. 2000; 408 (6813): 740–745. DOI: 10.1038/35047123.
 20. Kawasaki T., Kawai T. Toll-like receptor signaling pathways. *Front. Immunol.* 2014; 50: 461. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00461.
 21. Zhang Q., Itagaki K., Hauser C.J. Mitochondrial DNA is released by shock and activates neutrophils via p38 map kinase. *Shock*. 2010; 34 (1): 55–59. DOI: 10.1097/SHK.0b013e3181cd8c08.
 22. Gan L., Chen X., Sun T., Li Q., Zhang R., Zhang J., Zhong J. Significance of serum mtDNA concentration in lung injury induced by hip fracture. *Shock*. 2015; 44 (1): 52–57. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000366.
 23. Tsuji N., Tsuji T., Ohashi N., Kato A., Fujigaki Y., Yasuda H. Role of mitochondrial DNA in septic AKI via Toll-like receptor 9. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2016; 27 (7): 2009–2020. DOI: 10.1681/ASN.2015040376.
 24. Oka T., Hikoso S., Yamaguchi O., Taneike M., Takeda T., Tamai T., Oyabu J., Murakawa T., Nakayama H., Nishida K., Akira S., Yamamoto A., Komuro I., Otsu K. Mitochondrial DNA that escapes from autophagy causes inflammation and heart failure. *Nature*. 2012; 485 (7397): 251–255. DOI: 10.1038/nature10992.
 25. Nakayama H., Otsu K. Translation of hemodynamic stress to sterile inflammation in the heart. *Trends Endocrinol. Metab.* 2013; 24 (11): 546–553. DOI: 10.1016/j.tem.2013.06.004.
 26. De Leo M.G., Staiano L., Vicinanza M., Luciani A., Carrissimo A., Mutarelli M., Di Campli A., Polishchuk E., Di Tullio G., Morra V., Levchenko E., Oltrabella F., Starborg T., Santoro M., Di Bernardo D., Devuyst O., Lowe M., Medina D.L., Ballabio A., De Matteis M.A. Autophagosome-lysosome fusion triggers a lysosomal response mediated by TLR9 and controlled by OCRL. *Nat. Cell Biol.* 2016; 18 (8): 839–850. DOI: 10.1038/ncb3386.
 27. Guo H., Callaway J.B., Ting J.P. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nat. Med.* 2015; 21 (7): 677–687. DOI: 10.1038/nm.3893.
 28. Man S.M., Kanneganti T.D. Converging roles of caspases in inflammasome activation, cell death and innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2016; 16 (1): 7–21. DOI: 10.1038/nri.2015.7.
 29. Shimada K., Crother T.R., Karlin J., Dagvadorj J., Chiba N., Chen S., Ramanujan V.K., Wolf A.J., Vergnes L., Ojcius D.M., Rentsendorj A., Vargas M., Guerrero C., Wang Y., Fitzgerald K.A., Underhill D.M., Town T., Arditi M. Oxidized mitochondrial DNA activates the NLRP3 inflammasome during apoptosis. *Immunity*. 2012; 36 (3): 401–414. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.01.009.
 30. Yu J., Nagasu H., Murakami T., Hoang H., Broderick L., Hoffman H.M., Horng T. Inflammasome activation leads to Caspase-1-dependent mitochondrial damage and block of mitophagy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014; 111 (43): 15514–15519. DOI: 10.1073/pnas.1414859111.
 31. Tumurkhuu G., Shimada K., Dagvadorj J., Crother T.R., Zhang W., Luthringer D., Gottlieb R.A., Chen S., Arditi M. Ogg1-dependent DNA repair regulates NLRP3 inflammasome and prevents atherosclerosis. *Circ. Res.* 2016; 119 (6): e76–90. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308362.
 32. Dib B., Lin H., Maidana D.E., Tian B., Miller J.B., Bouzika P., Miller J.W., Vavvas D.G. Mitochondrial DNA has a pro-inflammatory role in AMD. *Biochim. Biophys. Acta*. 2015; 1853: 2897–2906. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2015.08.012.
 33. Hornung V., Latz E. Intracellular DNA recognition. *Nat. Rev. Immunol.* 2010; 10 (2): 123–130. DOI: 10.1038/nri2690.
 34. Ishikawa H., Barber G.N. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signaling. *Nature*. 2008; 455 (7213): 674–678. DOI: 10.1038/nature07317.
 35. Rongvaux A., Jackson R., Harman C.C., Li T., West A.P., de Zoete M.R., Wu Y., Yordy B., Lakhani S.A., Kuan C.Y., Taniguchi T., Shadel G.S., Chen Z.J., Iwasaki A., Flavell R.A. Apoptotic caspases prevent the induction of type I interferons by mitochondrial DNA. *Cell*. 2014; 159 (7): 1563–1577. DOI: 10.1016/j.cell.2014.11.037.
 36. White M.J., McArthur K., Metcalf D., Lane R.M., Cambier J.C., Herold M.J., van Delft M.F., Bedoui S., Lessene G., Ritchie M.E., Huang D.C., Kile B.T. Apoptotic caspases suppress mtDNA-induced STING-mediated type I IFN production. *Cell*. 2014; 159 (7): 1549–1562. DOI: 10.1016/j.cell.2014.11.036.
 37. Kohl B.A., Deutschman C.S. The inflammatory response to surgery and trauma. *Curr. Opin. Crit. Care*. 2006; 12 (4): 325–332. DOI: 10.1097/01.ccx.0000235210.85073.fc.
 38. Понасенко А.В., Хуторная М.В., Головкин А.С., Савостьянова Ю.Ю., Григорьев Е.В. Вклад провоспалительных цитокинов в формирование системного воспалительного ответа после операций протезирования клапанов сердца. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2013; 4: 71–76. [Ponassenko A.V., Khutorная M.V., Golovkin A.S., Savostyanova Yu.Yu., Grigorev E.V. Potential role as a proinflammatory cytokines in postoperative severe systemic inflammatory response syndrome undergoing heart valve replacement surgery. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2013; 4: 71–76 (in Russ.)].
 39. Hall R. Identification of inflammatory mediators and their modulation by strategies for the management of the systemic inflammatory response during cardiac surgery. *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anaesthesia*. 2013; 27 (5): 983–1033. DOI: 10.1053/j.jvca.2012.09.013.
 40. Понасенко А.В., Головкин А.С., Григорьев Е.В. Значение системы комплемента и C5a субъединицы при формировании системного воспалительного ответа в послеоперационном периоде протезирования кла-

- панов сердца пациентов с инфекционным эндокардитом. *Фундаментальные исследования*. 2014; 10 (1): 141–146. [Ponassenko A.V., Golovkin A.S., Grigoriev E.V. Importance of the complement system and C5a subunit in the formation of a systemic inflammatory response in the postoperative period of prosthetics of the heart valves in patients with infections endocarditis. *Fundamental Research*. 2014; 10 (1): 141–146 (in Russ.)].
41. Lam N.Y., Rainer T.H., Chiu R.W., Joynt G.M., Lo Y.M. Plasma mitochondrial DNA concentrations after trauma. *Clin Chem*. 2004; 50 (1): 213–216. DOI: 10.1373/clinchem.2003.025783.
 42. Dolinay T., Kim Y.S., Howrylak J., Hunninghake G.M., An C.H., Fredenburgh L., Massaro A.F., Rogers A., Gazourian L., Nakahira K., Haspel J.A., Landazury R., Eppanapally S., Christie J.D., Meyer N.J., Ware L.B., Christiani D.C., Ryter S.W., Baron R.M., Choi A.M. Inflammasome-regulated cytokines are critical mediators of acute lung injury. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 2012; 185 (11): 1225–1234. DOI: 10.1164/rccm.201201-0003OC.
 43. Nakahira K., Kyung S.Y., Rogers A.J., Gazourian L., Youn S., Massaro A.F., Quintana C., Osorio J.C., Wang Z., Zhao Y., Lawler L.A., Christie J.D., Meyer N.J., McCausland F.R., Waikar S.S., Waxman A.B., Chung R.T., Bueno R., Rosas I.O., Fredenburgh L.E., Baron R.M., Christiani D.C., Hunninghake G.M., Choi A.M. Circulating mitochondrial DNA in patients in the ICU as a marker of mortality: derivation and validation. *PLoS Med*. 2013; 10 (12): e1001577. DOI: 10.1371/journal.pmed.1001577.
 44. Gu X., Yao Y., Wu G., Lv T., Luo L., Song Y. The plasma mitochondrial DNA is an independent predictor for post-traumatic systemic inflammatory response syndrome. *PLoS One*. 2013; 8 (8): e72834. DOI: 10.1371/journal.pone.0072834.
 45. McIlroy D.J., Minahan K., Keely S., Lott N., Hansbro P., Smith D.W., Balogh Z.J. Reduced DNASE enzyme activity in response to high post-injury mitochondrial dna-concentration provides a therapeutic target for SIRS. *J. Trauma Acute Care Surg*. 2018; 22. DOI: 10.1097/TA.0000000000001919.
 46. Zhang Q., Raoof M., Chen Y., Sumi Y., Sursal T., Junger W., Brohi K., Itagaki K., Hauser C.J. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury. *Nature*. 2010; 464 (7285): 104–107. DOI: 10.1038/nature08780.
 47. Sun S., Sursal T., Adibnia Y., Zhao C., Zheng Y., Li H., Otterbein L.E., Hauser C.J., Itagaki K. Mitochondrial DAMPs increase endothelial permeability through neutrophil dependent and independent pathways. *PLoS One*. 2013; 8 (3): e59989. DOI: 10.1371/journal.pone.0059989.
 48. Jansen M.P.B., Pulskens W.P., Butter L.M., Florquin S., Juffermans N.P., Roelofs J.J.T.H., Leemans J.C. Mitochondrial DNA is released in urine of SIRS patients with acute kidney injury and correlates with severity of renal dysfunction. *Shock*. 2018; 49 (3): 301–310. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000967.
 49. Григорьев Е.В., Плотников Г.П., Шукевич Д.А., Головкин А.С. Персистирующая полиорганная недостаточность. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2014; 3: 82–86. [Grigoryev E.V., Plotnikov G.P., Shukevich D.L., Golovkin A.S. Persistent multiorgan failure. *Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2014; 3: 82–86 (in Russ.)]. DOI: 10.21688/1681-3472-2014-3-82-86.
 50. Lee Y.L., King M.B., Gonzalez R.P., Brevard S.B., Frotan M.A., Gillespie M.N., Simmons J.D. Blood transfusion products contain mitochondrial DNA damage-associated molecular patterns: a potential effector of transfusion-related acute lung injury. *J. Surg. Res*. 2014; 191 (2): 286–289. DOI: 10.1016/j.jss.2014.06.003.
 51. Simmons J.D., Freno D.R., Muscat C.A., Obiako B., Lee Y.L., Pastukh V.M., Brevard S.B., Gillespie M.N. Mitochondrial DNA damage associated molecular patterns in ventilator-associated pneumonia: Prevention and reversal by intratracheal DNase I. *J. Trauma Acute Care Surg*. 2017; 82 (1): 120–125. DOI: 10.1097/TA.0000000000001269.
 52. Sandler N., Kaczmarek E., Itagaki K., Zheng Y., Otterbein L., Khabbaz K., Liu D., Senthilnathan V., Gruen RL., Hauser C.J. Mitochondrial DAMPs are released during cardiopulmonary bypass surgery and are associated with postoperative atrial fibrillation. *Heart Lung Circ*. 2018; 27 (1): 122–129. DOI: 10.1016/j.hlc.2017.02.014.
 53. Schäfer S.T., Franken L., Adamzik M., Schumak B., Scherag A., Engler A., Schönborn N., Walden J., Koch S., Baba H.A., Steinmann J., Westendorf A.M., Fandrey J., Bieber T., Kurts C., Frede S., Peters J., Limmer A. Mitochondrial DNA: An Endogenous Trigger for Immune Paralysis. *Anesthesiology*. 2016; 124 (4): 923–33. DOI: 10.1097/ALN.0000000000001008.
 54. Bhagirath V.C., Dwivedi D.J., Liaw P.C. Comparison of the proinflammatory and procoagulant properties of nuclear, mitochondrial, and bacterial DNA. *Shock*. 2015; 44 (3): 265–271. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000397.
 55. Krychtiuk K.A., Ruhittel S., Hohensinner P.J., Koller L., Kaun C., Lenz M., Bauer B., Wutzlhofer L., Draxler D.F., Maurer G., Huber K., Wojta J., Heinz G., Niessner A., Speidl W.S. Mitochondrial DNA and Toll-like receptor-9 are associated with mortality in critically ill patients. *Crit. Care Med*. 2015; 43 (12): 2633–2641. DOI: 10.1097/CCM.0000000000001311.
 56. Timmermans K., Kox M., Scheffer G.J., Pickkers P. Mitochondrial DNA levels, and markers of inflammation, shock, and organ damage in patients with septic shock. *Shock*. 2016; 45 (6): 607–612. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000549.

Сведения об авторах

Григорьев Евгений Валерьевич, д-р мед. наук, профессор, зам. директора по научной и лечебной работе, вед. науч. сотрудник, НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний; зав. кафедрой анестезиологии и реаниматологии, КГМУ, г. Кемерово. ORCID iD 0000-0002-3898-0740.

Салахов Рамиль Ринатович, канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория популяционной генетики, НИИ медицинской генетики, Томский НИМЦ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-9789-9555.

Голубенко Мария Владимировна, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория популяционной генетики, НИИ медицинской генетики, Томский НИМЦ, г. Томск; вед. науч. сотрудник, лаборатория геномной медицины, НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово. ORCID iD 0000-0002-7692-9954.

Понасенко Анастасия Валерьевна, канд. мед. наук, зав. лабораторией геномной медицины, НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово. ORCID iD 0000-0002-3002-2863.

Шукевич Дмитрий Леонидович, д-р мед. наук, зав. лабораторией критических состояний, НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, профессор; кафедра анестезиологии и реаниматологии, КГМУ, г. Кемерово. ORCID iD 0000-0001-5708-2463.

Матвеева Вера Геннадьевна, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клеточных технологий, НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово. ORCID iD 0000-0002-4146-3373.

Радивилко Артем Сергеевич, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория критических состояний, НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово. ORCID iD 0000-0001-8743-4466.

Цепочкина Анна Викторовна, науч. сотрудник, лаборатория геномной медицины, НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово. ORCID iD 0000-0002-4467-8732.

Великанова Елена Анатольевна, канд. биол. наук, науч. сотрудник, лаборатория клеточных технологий, НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, г. Кемерово. ORCID iD 0000-0002-1079-1956.

Корнелюк Роман Александрович, лаборант-исследователь, лаборатория критических состояний, НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний; ассистент, кафедра анестезиологии и реаниматологии КГМУ, г. Кемерово. ORCID iD 0000-0002-2654-2727.

Ивкин Артем Александрович, лаборант-исследователь, лаборатория критических состояний, НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний; клинический ординатор, кафедра анестезиологии и реаниматологии КГМУ, г. Кемерово. ORCID iD 0000-0002-3899-1642.

(✉) **Григорьев Евгений Валерьевич**, e-mail: grigoriev@hotmail.com.

Authors information

Grigoryev Evgeny V., DM, Professor, Deputy Director for Scientific and Clinical Affairs, Scientific Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Disease; Head of the Department of Anesthesiology and Critical Care, KSMU, Kemerovo, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-3898-0740.

Salakhov Ramil R., PhD, Researcher, Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center NRMC, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-9789-9555.

Golubenko Maria V., PhD, Senior Researcher, Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center NRMC, Tomsk; Leading Researcher, Laboratory for Genomic Medicine, Scientific Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Disease, Kemerovo, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-7692-9954.

Ponassenko Anastasya V., PhD, Head of the Laboratory for Genomic Medicine, Scientific Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Disease, Kemerovo, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-3002-2863.

Shukevich Dmitriy L., DM, Head of the Laboratory for Critical Care, Scientific Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Disease; Professor, Department of Anaesthesiology and Critical Care, KSMU, Kemerovo, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-5708-2463.

Matveeva Vera G., PhD, Senior Researcher, Laboratory for Cell Technologies, Scientific Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Disease, Kemerovo, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-4146-3373.

Radivilko Artem S., PhD, Senior Researcher, Laboratory for Critical Care, Scientific Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Disease, Kemerovo, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-8743-4466.

Tsepokina Anna V., Researcher, Laboratory for Genomic Medicine, Scientific Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Disease, Kemerovo, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-4467-8732.

Velikanova Elena A., PhD, Researcher, Laboratory for Cell Technologies, Scientific Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Disease, Kemerovo, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-1079-1956.

Kornelyuk Roman S., Researcher, Laboratory for Critical Care, Scientific Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Disease; Assistant, Department of Anaesthesiology and Critical Care, KSMU, Kemerovo, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-2654-2727.

Ivkin Artem S., Researcher, Laboratory for Genomic Medicine, Scientific Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Disease; Resident, Department of Anaesthesiology and Critical Care, KSMU, Kemerovo, Russian Federation.

(✉) **Grigoryev Evgeny V.**, e-mail: grigoriev@hotmail.com.

Поступила в редакцию 28.06.2018
Подписана в печать 11.06.2019

Received 28.06.2018
Accepted 11.06.2019

Стоматологические проявления первичных иммунодефицитов

Долгих М.А.¹, Болков М.А.^{1,2}, Тузанкина И.А.^{1,2}, Саркисян Н.Г.^{1,2}, Овсепян Н.А.¹

¹Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения РАН (ИИФ УрО РАН)
Россия, 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106

²Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина
Россия, 620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19

РЕЗЮМЕ

Для понимания современного состояния проблемы стоматологических проявлений первичных иммунодефицитов проанализирована соответствующая зарубежная литература. В статье описаны стоматологические проявления многих первичных иммунодефицитов, которые могут быть как вторичным, так и основным симптомом. Представлены синдром тяжелого комбинированного иммунодефицита, гипер-IgE синдром, синдромы Вискотта – Олдрича, Ди Джорджи, дефицит STIM1 и дефицит ORAI1, дефицит NEMO и дефицит IκBα, общая переменная иммунная недостаточность, X-сцепленная агаммаглобулинемия, гипер-IgM синдром, селективный дефицит IgA, аутоиммунный лимфопролиферативный синдром, аутоиммунный полиэндокринный синдром 1-го типа, синдром Чедиака – Хигаши, дефицит CD70, синдромы тяжелой врожденной нейтропении, дефициты адгезии лейкоцитов, локализованный агрессивный пародонтит, синдром Папийона – Лефевра, хронический кожно-слизистый кандидоз, синдром Маршалла, гипер-IgD синдром, синдром Айкарди – Гутьереса 7-го типа, синдром херувизма, синдром CANDLE (хронический атипичный нейтрофильный дерматит с липодистрофией), PAPA (пиогенный артрит, гангренозная пиодермия и акне), хронический рецидивирующий мультифокальный остеомиелит, периодонтальный синдром Элерса – Данло, дефицит C1-ингибитора. Приведены данные о роли секреторных иммуноглобулинов, определяемых в слюнной жидкости.

Ключевые слова: первичные иммунодефициты, полость рта, проявления, секреторные иммуноглобулины, обзор литературы.

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

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках госзадания ИИФ УрО РАН (тема № АААА-А18-118020590108-7) и при финансовой поддержке Постановления № 211 Правительства Российской Федерации, контракт № 02.А03.21.0006.

Для цитирования: Долгих М.А., Болков М.А., Тузанкина И.А., Саркисян Н.Г., Овсепян Н.А. Стоматологические проявления первичных иммунодефицитов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 144–154. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-144-154>.

Oral manifestations of primary immunodeficiencies

Dolgikh M.A.¹, Bolkov M.A.^{1,2}, Tuzankina I.A.^{1,2}, Sarkisyan N.G.^{1,2}, Hovsepyan N.A.¹

¹Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (IIP UB RAS)
106, Pervomayskaya Str., Ekaterinburg, 620049, Russian Federation

✉ Тузанкина Ирина Александровна, e-mail: ituzan@yandex.ru.

²Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education “Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin”
19, Mira Str., Ekaterinburg, 620002, Russian Federation

ABSTRACT

To understand the current state of the issue of dental manifestations of primary immunodeficiencies, foreign literature on the problem has been analyzed. The article describes the dental manifestations of many primary immunodeficiencies, which can be both secondary and major symptoms. The article presents the data on the following syndromes: severe combined immunodeficiency, hyper IgE, Wiskott – Aldrich, DiGeorge, deficiency of STIM1 and ORAI1, NEMO deficiency and IκBα deficiency, common variable immunodeficiency, X-linked agammaglobulinemia, hyper IgM, selective IgA deficiency, autoimmune lymphoproliferative syndrome, autoimmune polyendocrine syndrome type 1, Chediak – Higashi syndrome, CD70 deficiency, severe congenital neutropenia syndromes, leukocyte adhesion deficiency, localized aggressive periodontitis, Papillon – Lefevre syndrome, chronic mucocutaneous candidiasis, Marshall syndrome, hyper IgD syndrome, Aicardi – Goutières syndrome type 7, cherubism syndrome, CANDLE (chronic atypical neutrophilic dermatosis with lipodystrophy and elevated temperature), PAPA (pyogenic arthritis, pyoderma gangrenosum and acne), chronic recurrent multifocal osteomyelitis, periodontal Ehlers – Danlos syndrome, and C1 inhibitor deficiency. The role of secretory immunoglobulins of salivary fluid is described.

Key words: primary immunodeficiencies, oral cavity, manifestations, secretory immunoglobulins, literature review.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was supported by the state order of the Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (topic No. AAAA-A18-118020590108-7) as well as by the decree of the Russian Federation Government No. 211, contract No. 02.A03.21.0006.

For citation: Dolgikh M.A., Bolkov M.A., Tuzankina I.A., Sarkisyan N.G., Hovsepyan N.A. Oral manifestations of primary immunodeficiencies. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 144–154. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-144-154>.

ВВЕДЕНИЕ

Нарушение развития и болезни зубов, тканей пародонта и всей челюстно-лицевой области составляют значительную часть комплекса симптомов, часто встречающихся при первичных иммунодефицитах. Несмотря на это, в практическом здравоохранении стоматологические проявления часто недооцениваются, что приводит к ошибочной тактике врачей и к удлинению сроков диагностики. Принято считать, что предрасположенность к бактериальной инвазии, дисрегуляция цитокинов, системные воспалительные процессы и некротические изменения могут приводить к ранней манифестации поражений тканей полости рта. Стоматологические проявления иммунопатологии требуют особой осведомленности, необходимой для своевременного выявления иммунозависимой патологии [1].

КОМБИНИРОВАННЫЕ ИММУНОДЕФИЦИТЫ

Для большинства иммунодефицитных состояний, независимо от их природы, характерны

проявления в ротовой полости в виде инфекций, самой частой из которых является грибковая инфекция, в частности кандидоз, который может быть первым, а зачастую и единственным признаком иммунодефицита. Кроме кандидозной инфекции, для комбинированных иммунодефицитов характерны вирусные поражения тканей полости рта в виде язвенного стоматита, но, как правило, это не главное проявление комбинированных иммунодефицитов [2].

Стоит иметь в виду «мягкие» формы тяжелых комбинированных иммунодефицитов, так называемый leaky SCID. «Мягкий» фенотип такой тяжелой комбинированной иммунной недостаточности (ТКИН) или иных форм иммунодефицитов затрудняет постановку правильного диагноза и приводит к ошибочной терапевтической тактике: пациент длительное время наблюдается разными специалистами, в том числе стоматологами, а к иммунологам попадает уже тогда, когда «окно» терапевтических возможностей упущено.

Однако многие «мягкие» формы первичных иммунодефицитов могут иметь ту же генетиче-

скую природу и патогенез, что и тяжелые формы, например ТКИН и им подобные, а значит, несмотря на «мягкий» фенотип, они требуют соблюдения тех же принципов лечения и стратегии долговременных терапевтических вмешательств.

Одна из групп, заслуживающая внимания, – комбинированные первичные иммунодефициты (ПИД), ассоциированные с синдромальными проявлениями. Так, по данным А.С. О’Connell и соавт., а также D.L. Domingo и соавт., у большинства лиц с гипер-IgE синдромом, относящемуся к этой группе, может наблюдаться персистенция молочных зубов, что предопределяет задержку прорезывания постоянных зубов или возникновение двойных рядов зубов [3, 4]. Многорядный рост зубов и их ретенция приводят к неправильному прикусу, что ведет к плохой гигиене полости рта и увеличению риска болезни пародонта.

A.F. Freeman и соавт. сообщили, что большая часть пациентов с гипер-IgE имеют патологию твердого нёба в виде неравномерного фиброзного утолщения по средней линии, иногда окруженного канавками или щелевидными складками [5]. Еще более распространенными являются особенности поражения языка, состоящие из поверхностных канавок различной глубины, которые могут быть локализованы или распределены по всей поверхности языка. У таких пациентов наиболее значительным проявлением является глубокая срединная трещина языка, которая может иметь или не иметь вышележащий тканевой лоскут. На губах и щеках поражение слизистой оболочки состоит из поверхностных трещин и кератических борозд, пятен или бляшек, некоторые из них могут напоминать лишеноидные образования.

L. Esposito и соавт. по результатам 6-летнего наблюдения за шестью пациентами (8–39 лет) с данным синдромом выявили высокую восприимчивость к кариесу и микотическим инфекциям полости рта, недостаточный поперечный диаметр нёба, а также патологию слизистой в виде бляшек и трещин, обычно расположенных на языке и на нёбе [6].

Таким образом, гипер-IgE синдром – один из тех первичных иммунодефицитов, при котором стоматологические симптомы имеют характерные особенности и часто помогают верификации диагноза.

Другим синдромом из этой группы является синдром Вискотта – Олдрича. В 2008 г. S.R. Sujatha и B. Almas описали клинический семейный случай патологии у двух братьев 4 и 6 лет, у которых помимо типичных проявлений данного синдрома наблюдались петехии на сли-

зистой щек (у младшего) и деснах (у старшего), а также кровотечения десен при зондировании зубов стоматологом [7]. У старшего брата была выявлена повышенная склонность к кариесу, а у младшего – склонность к спонтанным кровотечениям десен, которые купировали топическим применением вяжущей краски для десен. Спонтанное кровотечение и кровотечение при легкой провокации во время клинического обследования были отмечены у обоих братьев. После проведения трансфузии тромбоцитов десневое кровотечение и носовое кровотечение прекращались.

Для синдрома Ди Джорджи дефекты в челюстно-лицевой области являются наиболее известными: дефекты твердого нёба, в частности расщелина, а также микростомия и микрогнатия. При данном синдроме описаны гипотонус оральной мускулатуры, а также нарушение потока слюны. Учитывая известный патогенез синдрома, можно предположить, что обнаруживаемый при синдроме Ди Джорджи дефект эмали связан с гипокальциемией и может приводить к более высокой частоте кариеса [8]. Однако этому противоречат данные исследований, проведенных H. Nordgarden и соавт. в 2012 г. в Норвегии [9]. Были обследованы 50 пациентов (лиц женского пола, средний возраст 10 лет ($1,5 \pm 44$) лет) с синдромом Ди Джорджи. Клиническими и рентгенологическими методами исследовано 1 148 зубов. Это позволило выявить гипоминерализацию эмали, гипоплазию и адентию (врожденное отсутствие зубов) на ортопантомограммах.

Выяснилось, что у 15% обследованных наблюдалась адентия зубов. Эмалевые нарушения имели 66% пациентов, 26,0% зубов. Из числа обследованных 12 человек (24,0%) и 215 зубов (18,7%) имели гипоминерализацию, а четыре человека (8,0%) и 86 зубов (7,5%) – гипоплазию эмали. Оба типа нарушений наблюдались у 17 участников (34,0%), но редко они встречались на одном зубе. Только два зуба (0,17%) имели оба типа нарушений. Гипоминерализация выявлялась в два раза чаще в постоянных зубах, чем в молочных. Не было выявлено никаких серьезных корреляций между гипопаратиреозом или гипокальциемией и нарушениями эмали. Пациенты с врожденными аномалиями сердца имели меньшее количество эмалевых нарушений и гипоминерализаций в коренных зубах, чем те, у кого врожденных аномалий сердца не выявлено.

Относительно подверженности кариесу пациентов с синдромом Ди Джорджи показателен клинический случай девочки с плохим гигиеническим состоянием полости рта, при котором,

кроме готического нёба и микрогнатии, наблюдались абсцессы двух коренных зубов и кариес всех молочных зубов. После консультации с кардиологом было принято решение не применять антибиотики, и все лечение проводилось препаратами топического применения, без локальной анестезии. После обработки корневых каналов и удаления некротизированных тканей проводилось восстановительное лечение и герметизация фиссур, что привело к долгосрочному клиническому эффекту. Был сделан вывод о том, что частые инфекции при синдроме Ди Джорджи оказывают негативные воздействия на зубы, которое усугубляет неудовлетворительная гигиена полости рта, что подтверждается как исследованиями других авторов, так и нашими собственными наблюдениями [10–15].

Дефицит STIM1 и дефицит ORAI1 – комбинированные иммунодефициты, приводящие к нарушению активации кальциевых каналов не только в клетках мускулатуры, но и в иммунных клетках, вследствие чего активация лимфоцитов и нормальное функционирование иммунной системы затруднены. Указанные синдромы характеризуются рецидивирующими инфекциями, аутоиммунной активностью, врожденной миопатией (в том числе отсутствием рефлекса радужки на свет) и эктодермальной дисплазией. Дефект эмали при этих синдромах выявляется с появления самых первых зубов. Гипокальцификационный тип несовершенного амелогенеза, т.е. дефект эмали вследствие дефицита кальция, приводит к тому, что через тонкий слой эмали просвечивает цвет мягкого дентина, а зубы приобретают болезненную чувствительность. Изнурительный характер болей при этих дефектах требует интенсивного комплексного лечения зубов [16].

При синдромах ПИД с ангиодермической эктодермальной дисплазией (дефицит NEMO и дефицит IκBα) ярким симптомом является коническая форма зубов. Такая дисплазия может сочетаться с адентией. Кроме того, дети с этими синдромами страдают от алопеции, отсутствия потоотделения, а также восприимчивы к различным бактериальным инфекциям [17].

ПИД С ПРЕИМУЩЕСТВЕННЫМИ ДЕФЕКТАМИ АНТИТЕЛООБРАЗОВАНИЯ

Иранские исследователи G. Meighani с соавт. в конце 2011 г. опубликовали данные 7-летнего наблюдения за 33 пациентами с преимущественными дефектами антителообразования, среди которых 21 был с общей вариабельной иммунной недостаточностью (ОВИН), восемь человек – с

X-сцепленной агаммаглобулинемией и четыре – с гипер-IgM синдромом [18]. При сравнении клинических проявлений с контрольной группой (66 пациентов, 54 мальчика и 12 девочек в сопоставимой возрастной группе детей без этой патологии, $(12,12 \pm 4,9)$ лет) выявились следующие достоверные отличия.

По данным G. Meighani, у пациентов с дефектами антителообразования в полости рта в 38,7% случаев наблюдались афтозные поражения, что на 16,7% больше, чем в контрольной группе ($p = 0,033$), герпес на слизистой в 48,4% (против 3% в контрольной группе, $p < 0,001$), чаще выявлялись кандидоз (32,3% против 4,5%, $p = 0,002$) и тонзиллит (35,5 против 6,1%, $p = 0,006$), а также гингивит (50% против 18,2%, $p = 0,002$) и прочие дефекты слизистой (54,8% против 6,1%, $p < 0,001$). Более того, зубной камень также выявлялся значительно чаще, чем в контрольной группе (51,6% против 18,2%, $p = 0,005$). Согласно результатам этого исследования, различия между различными типами ПИД с преимущественными дефектами антителообразования нет, но у всех пациентов с дефицитом антител наблюдался более высокий уровень всех проявлений стоматологической патологии по сравнению со здоровыми людьми.

В 2016 г. Karin Sá Fernandes и соавт. опубликовали результаты сравнительного исследования уровня слюнных иммуноглобулинов и здоровья полости рта у 51 пациента с ОВИН и 50 пациентов из контрольной группы [19]. Ожидается, что частота кариеса и гингивита была выше в группе ОВИН, чем в контрольной группе ($p < 0,05$), как и индекс КПУ (индекс, основанный на подсчете пораженных, отсутствующих и залеченных зубов, 10,51 против 4,68). Однако гипоплазия эмали, сухость во рту, географический язык, травматические язвы и рецидивирующий афтозный стоматит наблюдались у лиц обеих групп, и не было никакой разницы в темпах развития этих расстройств между группой ОВИН и контрольной группой обследуемых. В том же исследовании при сравнении пациентов из группы ОВИН, употребляющих и не употребляющих антибиотики, было подтверждено, что статистической корреляции между использованием антибиотиков и отсутствием периодонтита у этих пациентов не было ($p > 0,05$).

Такой дефект антителообразования, как селективный дефицит IgA, в 85–90% случаев протекает бессимптомно [20]. Впервые данная патология была описана у пациента с атаксией-телеангиоэктазией в 1961 г., но генетическая природа и патогенез окончательно не выявлены до настоящего

времени [21]. Поскольку секреторный IgA (SIgA) играет протекторную роль при инвазии микроорганизмов на поверхностях слизистой оболочки, принято считать, что IgA-дефицитные субъекты восприимчивы к заболеваниям пародонта и стоматологическим проявлениям. Однако множество исследований на эту тему доказывают, что селективный дефицит IgA, за редкими исключениями, не ассоциируется со стоматологической патологией [22–26]. Так, например, в 2017 г. L. Azzi и соавт. была описана 7-летняя пациентка с симметричным двусторонним язвенным гингивитом в области верхних молочных моляров, однако на фоне дефектов со стороны желудочно-кишечного тракта [27]. Также Tar Ildiky и соавт. выявили у детей с селективным дефицитом IgA повышенный риск развития кариеса, но тяжесть нарушений слизистой и тканей пародонта была сопоставима с популяционной частотой встречаемости патологии [28]. Относительно необходимости измерения SIgA в ротовой полости, J. Nikfarjam и соавт. сделали вывод о том, что отсутствие существенных различий в стоматологических проявлениях между IgA-дефицитными субъектами и здоровыми пациентами может объясняться результатом компенсаторного увеличения IgG и, в особенности, IgM слюны (что подтверждалось и ранее) или других неиммунологических факторов защиты в слюне [25, 29, 30]. Таким образом, нет необходимости оценивать IgA и SIgA у всех пациентов с поражением зубов и слизистой ротовой полости, более информативными оказываются исследования других факторов.

Относительно роли секреторных иммуноглобулинов, оцениваемых в слюнной жидкости, и влиянии их дефицита на здоровье полости рта данных накоплено недостаточно. Известно, что в отличие от сывороточных иммуноглобулинов, большинство слюнных иммуноглобулинов не действуют как опсонизирующие агенты. Слюнные антитела IgG, IgM и IgA могут влиять на микробиоту рта, препятствуя их адгезии или ингибируя бактериальный метаболизм [31].

В упомянутом выше исследовании 2016 г. K.S. Fernandes и соавт. не обнаружили статистически значимой разницы между уровнями слюнных иммуноглобулинов и кариесом ($p > 0,05$) или между уровнями слюнных иммуноглобулинов и болезнями пародонта ($p > 0,05$). Многие из пациентов с пониженным уровнем IgA и IgM в слюне показали хорошее состояние полости рта, тогда как другие пациенты с ОВИН с большей вероятностью имели кариес и болезни пародонта,

несмотря на более высокие уровни иммуноглобулинов в слюне.

Тогда же было выявлено, что титры секреторных IgA и IgM в слюне были ниже в группе ОВИН, чем в контрольной группе, однако титры IgG, определяемые в слюне, были одинаковыми как у пациентов с ОВИН, так и в контрольной группе.

ПИД С ИММУННОЙ ДИСРЕГУЛЯЦИЕЙ

Различные формы аутоиммунного лимфопролиферативного синдрома (ALPS) часто сопровождаются поражением полости рта. По данным М. Рас и соавт., у всех наблюдаемых ими пациентов с ALPS определялись кариозные полости и гингивит, неудовлетворительный гигиенический уровень тканей полости рта [32]. У шести из семи исследуемых также отмечались язвы слизистой рта. В двух из них гингивит оценивался как тяжелый (с покраснением, отеком и спонтанным кровотечением десны), в другом – мягким. Связь между гематологическими и иммунными расстройствами и состоянием здоровья слизистой оболочки полости рта и десной наблюдалась у всех, кроме одного пациента. У пациентов с ALPS отмечали бледную слизистую оболочку рта, гладкий язык, рецидивирующие язвы слизистой оболочки и гингивит с кровотечением. Начало стоматологических симптомов сопровождалось ухудшением общего состояния здоровья и наличием местных причинных факторов.

При синдроме APECED (аутоиммунный полиэндокринный синдром 1-го типа) в полости рта кроме кандидоза – характерного признака иммунодефицита, обнаруживается гипоплазия эмали. В целом пациенты с APECED характеризуются высокой распространенностью заболеваний пародонта, кариеса, эрозий слизистой и дефектов эмали. Дефект эмали может прогрессировать независимо, как следствие гипоплазии эмали, так и быть связанным с историей системных болезней в период развития зубов [33]. При том гипоплазия эмали наблюдается вне зависимости от наличия кандидоза [34].

При синдроме Чедиака – Хигаши, иммунодефиците, который обычно ассоциируется с альбинизмом, доказана роль влияния гена *LYST* на рецепторы TLR-2 и TLR-4 в фибробластах десны, что приводит к дисрегулируемому иммунораспалительному ответу и агрессивному пародонтиту. Степень пародонтита зависит от тяжести фенотипа синдрома [35]. В качестве примера типичной стоматологической патологии при синдроме Чедиака – Хигаши можно привести иссле-

дование А. Khocht. У мальчика 13 лет в полости рта отмечались чрезмерная подвижность зубов, отек десен и кровоточивость, при зондировании глубина пародонтальных карманов определялась более 10 мм. Рентгеновское исследование показало существенную убыль костной ткани, также были отмечены области депигментации кожи [36]. При этом синдроме нередко ранние потери зубов детьми и подростками, поэтому сохранение зубов зависит от тесного взаимодействия со стоматологом [37, 38].

В качестве примера дифференциальной диагностики с аутовоспалительными синдромами можно привести случай периодической лихорадки у мальчика 1,5 лет, у которого длительные эпизоды лихорадки сопровождались тонзиллитом, аденопатией и спленомегалией, а с появлением зубов осложнились множественным кариесом. В этом случае причиной явился дефицит CD70 (лиганд для CD27) и, как следствие, персистирующая ВЭБ-инфекция [39].

Еще одна группа в классификации – врожденные дефекты числа и функций фагоцитов. При тяжелой врожденной нейтропении (SCN) пародонтит, несмотря на стандартную медицинскую и стоматологическую помощь, – частое осложнение, усугубляющее общее состояние пациента. Мутации в гене нейтрофильной эластазы (дефицит ELANE) связаны с более тяжелыми фенотипами нейтропении и пародонтита, что связывают с повышением IL-1 β в жидкости десневой борозды [40].

Дефекты адгезии лейкоцитов (LAD-синдромы) обычно характеризуются рецидивирующими, часто тяжелыми бактериальными или грибковыми инфекциями и отсроченным отрывом пуповины, омфалитом. Инфекции чаще всего поражают кожу и поверхность слизистой оболочки. Отсутствие образования гноя в месте инфицирования является важной особенностью, которая может указывать на недостаточность адгезии лейкоцитов. У людей с более мягкой формой LAD-синдромов на первый план могут выступать тяжелые пародонтиты на фоне менее серьезных инфекций [41–44]. Подчеркивается, что основной причиной достаточно тяжелых и сложных в лечении пародонтитов являются не инфекции, а повышенный воспалительный ответ [44].

Локализованный агрессивный (ювенильный) пародонтит, который может дебютировать в раннем возрасте, связывают с дефектом формилового пептидного рецептора 1 (FPR1). Не только мутация гена *FPR1*, которая включена в классификацию первичных иммунодефицитов, но

и некоторые его полиморфизмы (-12915C> T, -10056T> C, -8430A> G, 301G> C и 546C> A) связывают с тяжелым торпидным течением локализованного агрессивного пародонтита [45].

Синдром Папийона – Лефевра, причиной которого является мутация гена *CTSC*, характеризуется ладонно-подошвенной кератодермией, сопровождающейся пародонтитом с ранним дебютом. В детстве вслед за псориазиформным гиперкератозом возникает выраженный гингивит, который быстро прогрессирует, переходя в пародонтит с лизисом кости альвеолярных отростков и ранней потерей молочных зубов [46–48].

Принято считать, что при синдроме Папийона – Лефевра воспалительный процесс в тканях парадонта связан с постоянной рециркуляцией и накоплением гиперактивных нейтрофилов наряду с уменьшенной антимикробной способностью, что приводит к локальному разрушающему хроническому воспалительному циклу и прогрессирующему лизису десны и костной ткани [49].

У пациентов с хронической гранулематозной болезнью в некоторых случаях наблюдаются стоматологические симптомы, такие как афты и язвы слизистой, тяжелые гингивиты, пародонтиты, в том числе на слизистой в непосредственном контакте с зубной налетом, гипоплазия эмали, кандидоз ротовой полости, гранулематозный мукозит верхней губы и мягкого неба, географический язык [50]. Однако многие из проявлений связывают с эффектом иммуносупрессивной терапии.

Можно сделать вывод о том, что тяжелые, торпидные к лечению пародонтиты всегда должны настораживать врача в отношении дефектов фагоцитоза и первичных иммунодефицитов в целом.

ДЕФЕКТЫ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА

Синдром хронического кожно-слизистого кандидоза встречается при многих первичных иммунодефицитах, но как самостоятельный синдром его связывают с врожденным дефектом молекул IL-17A/C/F и рецепторов к ним. Кандидоз при данных синдромах, кроме ротовой полости, поражает все слизистые и кожные покровы [51].

При синдроме активации STAT1 кожно-слизистый кандидоз сочетается с различными грибковыми, бактериальными и вирусными инфекциями, дефицит CARD9, помимо кандидоза слизистых, приводит к инвазивным грибковым инфекциям [52–55].

Одновременное поражение кандидозом и микобактериозом характерно для мутации гена *RORC* [56].

АУТОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ СИНДРОМЫ

Рецидивирующий афтозный стоматит на фоне периодической лихорадки является самым ярким признаком синдрома Маршалла (PFAPA) [57–60]. При этом аутовоспалительном синдроме до настоящего времени отсутствует однозначно охарактеризованный генетически этиологический фактор [61]. При тяжелом течении PFAPA у детей проводят тонзиллэктомию, которая, тем не менее, не является гарантом постоянной ремиссии [59, 62].

В исследованиях пациентов с гипер-IgD синдромом (HIDS) разные авторы отмечают лимфаденопатию, в том числе шейной области, сопровождающую язвенные поражения слизистой оболочки полости рта [63, 64].

Для синдрома Айкарди – Гутьереса 7-го типа, иначе синдрома Синглтона – Мертена, характерны задержка выпадения молочных зубов и прорезывания постоянных, формирование укороченного корня зуба, раннее начало болезни пародонта. Нарушение минерализации приводит к резорбции корней и резорбции альвеолярной кости, а в дальнейшем к выпадению зубов [65].

При аутосомно-доминантной мутации *SH3BP2* возникает синдром херувизма. Симметричное увеличение верхней и нижней челюстей, вследствие дегенеративных изменений костной ткани челюстей, является первым проявлением этого заболевания в детском возрасте. Большинство случаев херувизма регрессируют после пубертатного периода [66, 67]. Херувизм может быть не только самостоятельным синдромом, но и симптомом разных врожденных заболеваний, поэтому при его выявлении требуется обращение к генетику и иммунологу [68, 69].

Редкие стоматологические проявления выявлены у африканской девочки с синдромом CANDLE (хронический атипичный нейтрофильный дерматит с липодистрофией). Кроме низкорослости, дистрофии мягких тканей рук и ног, эритематозной кожной сыпи и гепатоспленомегалии, стоматологи отметили генерализованную микродентию и остеопению челюстей. Наблюдаемые кариозные поражения зубов объяснялись плохим гигиеническим состоянием полости рта [70].

При синдроме PAPA или PASH (пиогенный артрит, гангренозная пиодермия и акне) из-за вовлечения височно-нижнечелюстного сустава в процессы системного воспаления могут возникать его перманентная деформация и микрогнатия [71]. Редко описывают проявления афтозного стоматита [72]. В 2016 г. описан случай PAPA синдрома с анкилозом височно-челюстного сустава.

Утверждается, что патогенез анкилоза до конца не ясен. Среди причин указываются первичная травма и инфекционное осложнение гидраденита [73].

При хроническом рецидивирующем мультифокальном остеомиелите (CRMO) могут поражаться кости лицевого скелета, в том числе верхней и нижней челюстей. Тем не менее остеомиелит челюстей – не частое проявление CRMO [74]. Описано несколько частных случаев, в основном у девочек [75–77]. Специальное исследование CRMO среди педиатрических пациентов, как и данные общего анализа по разным возрастам, подтверждают большую тенденцию к CRMO у женского пола [74, 77]. Указывается, что на панорамных рентгенограммах остеомиелит челюстей при CRMO можно ошибочно принять за фиброзную дисплазию, хронический диффузный склерозирующий остеомиелит или оссифицирующий периостит [74].

Е.-О. Glocker и D. Kotlarz в своих исследованиях EO-IBD (Early-Onset Inflammatory Bowel Disease) описали язвы в полости рта [78, 79].

В международном исследовании 158 пациентов с периодическим синдромом, ассоциированным с рецептором TNF (TRAPS), было выявлено 15 человек с явлениями афтозного стоматита, у 41 обнаружилась шейная лимфаденопатия [80, 81].

В целом генерализованная лимфаденопатия, в особенности шейная, является частым проявлением аутовоспалительных синдромов у пациентов детского и подросткового возраста, но может встречаться и у некоторых взрослых пациентов [82].

ДЕФИЦИТ КОМПЛЕМЕНТА

Периодонтальный синдром Элерса – Данло (pEDS), причиной которого являются мутации *C1r* и *C1s* компонентов комплемента, сопровождается ранним пародонтитом, гипермобильностью суставов и поражением кожи [83]. Для синдрома характерны обширное воспаление десен в ответ на мягкое накопление зубного налета и ранний дебют пародонтита. В исследовании 2016 г. среди 107 пациентов из 19 семей парадонтит присутствовал у 99% взрослых. Медиана возраста первой потери постоянного зуба – 14 лет (диапазон (2 ± 35) лет). У одного взрослого (24 года) не было пародонтита, но отмечалась «экстремальная» рецессия десны. Рецессия десны была диагностирована у 98% пациентов, причем выраженная нехватка прикрепленной десны, вызывающей хрупкость полости рта, была уникальной структурной десневой аномалией [84].

Дефицит C1-ингибитора комплемента (на-

следственный ангионевротический отек) может протекать с отеком слизистой рта и гортани, но гораздо важнее врачам и пациентам помнить не о возможных стоматологических проявлениях этого синдрома, а о профилактике отеков перед посещением стоматолога, поскольку стоматологические манипуляции могут стать триггером отека.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, повторные воспаления тканей пародонта, афты, дисплазии зубов или множественный кариес могут быть первыми симптомами первичного иммунодефицита и должны учитываться при дифференциальной диагностике педиатром или врачом любого другого профиля. Это указывает на необходимость тесного сотрудничества стоматологов, иммунологов и гематологов для раннего выявления болезни, обусловленной врожденными ошибками иммунитета, и своевременного проведения патогенетически обусловленной терапии, имеющей системную направленность, зачастую носящую характер пожизненной заместительной терапии или требующую проведения радикальных мер, например трансплантации гемопоэтических стволовых клеток.

Вопреки прежним мнениям о редкости и фатальности первичных иммунодефицитов, накопленный опыт и современные исследования меняют представление о вариабельности и степени тяжести проявлений врожденных ошибок иммунитета. Пациент с первичным иммунодефицитом может оказаться на приеме у стоматолога, не зная своего основного диагноза, и осведомленность врача может помочь выявить болезнь. В то же время, постоянно наблюдаясь у гематолога или иммунолога, не нужно игнорировать стоматологические приемы как необходимый фактор для улучшения качества жизни пациента. Склонность клиницистов к поиску причины инфекционных осложнений в основном диагнозе играет против пациента, поскольку основная профилактика инфекций полости рта при многих первичных иммунодефицитах – адекватная гигиена, которой пренебрегают большинство пациентов.

Необходимость использования общего знания и единого подхода с учетом характера фенотипических проявлений, как типичных, включая стоматологические, так и атипичных, позволит сократить период проведения диагностического пути, своевременно использовать возможности для патогенетической коррекции врожденной патологии иммунитета, улучшить качество и продолжительность жизни пациентов и пред-

упредить летальные исходы в случае применения неэффективных методов терапии и несвоевременного оказания помощи. Общий взгляд как на типичные клинические, так и на стоматологические проявления патологии облегчает точный диагноз и способствует соответствующему стоматологическому лечению потенциально летальных состояний, улучшая качество жизни пациентов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Szczawinska-Poplonyk A. et al. Oral manifestations of primary immune deficiencies in children *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 2009; 108 (3): e9–20. DOI: 10.1016/j.tripleo.2009.03.049.
2. Peacock M., Arce R., Cutler C. Periodontal and other oral manifestations of immunodeficiency diseases. *Oral Dis.* 2016; 23 (7): 866–888. DOI: 10.1111/odi.12584.
3. O'Connell A.C. et al. Delayed eruption of permanent teeth in hyperimmunoglobulinemia E recurrent infection syndrome. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 2000; 89 (2): 177–185.
4. Domingo D.L. et al. Novel intraoral phenotypes in hyperimmunoglobulin-E syndrome. *Oral Dis.* 2008; 14 (1): 73–81. DOI: 10.1111/j.1601-0825.2007.01363.x.
5. Freeman A.F., Domingo D.L., Holland S.M. Hyper IgE (Job's) syndrome: a primary immune deficiency with oral manifestations. *Oral Dis.* 2009; 15 (1): 2–7. DOI: 10.1111/j.1601-0825.2008.01463.x.
6. Esposito L. et al. Hyper-IgE syndrome: dental implications. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol.* 2012; 114 (2): 147–153. DOI: 10.1016/j.oooo.2012.04.005.
7. Reddy S.S., Binnal A. Wiscott Aldrich syndrome with oral involvement: A case report. *J. Dent. Child.* 2011; 78 (1): 49–52.
8. Toka O. et al. Dental aspects in patients with DiGeorge syndrome. *Quintessence Int. Berl. Ger.* 1985. 2010; 41 (7): 551–556.
9. Nordgarden H. et al. Dental developmental disturbances in 50 individuals with the 22q11.2 deletion syndrome; relation to medical conditions? *Acta Odontol. Scand.* 2012. 70 (3): 194–201. DOI: 10.3109/00016357.2011.629624.
10. Kulan P., Pekiner F.N., Akyuz S. Oral manifestation and dental management of catch 22 syndrome. *Marmara Dental Journal.* 2013; 1 (1): 46–48.
11. Sullivan K.E. et al. Lack of correlation between impaired T cell production, immunodeficiency, and other phenotypic features in chromosome 22q11.2 deletion syndromes. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1998; 86 (2): 141–146.
12. Gordon S.M., Dionne R.A., Snyder J. Dental fear and anxiety as a barrier to accessing oral health care among patients with special health care needs. *Spec. Care Dent.* 1998; 18 (2): 88–92.
13. Matevosyan N.R. Oral health of adults with serious mental illnesses: a review. *Community Ment. Health J.* 2010; 46 (6): 553–562. DOI: 10.1007/s10597-009-9280-x.

14. Klingberg G., Hallberg U., Oskarsdyttir S. Oral health and 22q11 deletion syndrome: thoughts and experiences from the parents' perspectives. *Int. J. Paediatr. Dent.* 2010; 20 (4): 283–292. DOI: 10.1111/j.1365-263X.2010.01052.x.
15. Долгих М.А. и др. Распространенность кариеса у детей с ошибками иммунитета. *Журнал теоретической и клинической медицины.* 2018; 4: 56–58. [Dolgikh M.A. et al. Prevalence of caries in children with impaired immunity. *Journal of Theoretical and Clinical Medicine.* 2018; 4: 56–58. (in Russ.)].
16. Feske S., Picard C., Fischer A. Immunodeficiency due to mutations in ORAI1 and STIM1. *Clin. Immunol. Orlando Fla.* 2010; 135 (2): 169–182. DOI: 10.1016/j.clim.2010.01.011.
17. Picard C., Casanova J.-L., Puel A. Infectious diseases in patients with IRAK-4, MyD88, NEMO, or I κ B α deficiency. *Clin. Microbiol. Rev.* 2011; 24 (3): 490–497. DOI: 10.1128/CMR.00001-11.
18. Meighani G. et al. Oral and dental health status in patients with primary antibody deficiencies. *Iran. J. Allergy Asthma Immunol.* 2011; 10 (4): 289–293. DOI: 010.04/ijaai.289293.
19. Fernandes K.S. et al. Salivary immunoglobulins in individuals with common variable immunodeficiency. *Braz. Dent. J.* 2016; 27 (6): 641–645. DOI: 10.1590/0103-6440201601096.
20. Yel L. Selective IgA deficiency. *J. Clin. Immunol.* 2010; 30 (1): 10–16. DOI: 10.1007/s10875-009-9357-x.
21. Thieffry S. et al. Ataxiatelangiectasis (7 personal cases). *Rev. Neurol. (Paris).* 1961; 105: 390–405.
22. Lakhanpal S. et al. Evidence for linkage of IgA deficiency with the major histocompatibility complex. *Mayo Clin. Proc.* 1988; 63 (5): 461–465.
23. Wang N., Hammarström L. IgA deficiency: what is new? *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2012; 12 (6): 602–608. DOI: 10.1097/ACI.0b013e3283594219.
24. Yazdani R. et al. Clinical phenotype classification for selective immunoglobulin A deficiency. *Expert Rev. Clin. Immunol.* 2015; 11 (11): 1245–1254. DOI: 0.1586/1744666X.2015.1081565.
25. Norhagen E.G. et al. Immunoglobulin levels in saliva in individuals with selective IgA deficiency: Compensatory IgM secretion and its correlation with HLA and susceptibility to infections. *J. Clin. Immunol.* 1989; 9 (4): 279–286.
26. Kiykim A. et al. Comparison of oral microflora in selective IgA deficiency and X linked agammaglobulinemia cases with control group. *Turk Pediatri Arsivi.* 2013; 48: 204–209. DOI: 10.4274/tpa.438.
27. Azzi L. et al. Oral manifestations of selective IgA-deficiency: review and case-report. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* 2017; 31 (2. Suppl. 1): 113–117.
28. Tar I. et al. Oral and dental conditions of children with selective IgA deficiency. *Pediatr. Allergy Immunol. Off. Publ. Eur. Soc. Pediatr. Allergy Immunol.* 2008; 19: 33–36.
29. Engström G.N. et al. Oral conditions in individuals with selective immunoglobulin A deficiency and common variable immunodeficiency. *J. Periodontol.* 1992; 63 (12): 984–989.
30. Nikfarjam J. et al. Oral manifestations in selective IgA deficiency. *Int. J. Dent. Hyg.* 2004; 2 (1): 19–25.
31. Van Nieuw Amerongen A., Bolscher J.G.M., Veerman E.C.I. Salivary proteins: protective and diagnostic value in cariology? *Caries Res.* 2004; 38 (3): 247–253.
32. Pac M. et al. Recurrent oral inflammation in autoimmune lymphoproliferative syndrome. *J. Pediatr. Sci.* 2014; 6: e 211. DOI: 10.17334/jps.49665.
33. McGovern E. et al. Oral health in autoimmune polyendocrinopathy candidiasis ectodermal dystrophy (APECED). *Eur. Arch. Paediatr. Dent. Off. J. Eur. Acad. Paediatr. Dent.* 2008; 9 (4): 236–244.
34. Ahonen P. et al. Clinical variation of autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED) in a series of 68 patients. *N. Engl. J. Med.* 1990; 322 (26): 1829–1836.
35. Thumbigere Math V. et al. Periodontitis in Chédiak–Higashi syndrome: An altered immunoinflammatory response. *JDR Clin. Transl. Res.* 2018; 3 (1): 35–46. DOI: 10.1177/2380084417724117.
36. Khocht A. et al. Periodontitis associated with Chédiak–Higashi syndrome in a young African American male. *J. Int. Acad. Periodontol.* 2010; 12 (2): 49–55.
37. Delcourt-Debruyne E.M., Boutigny H.R., Hildebrand H.F. Features of severe periodontal disease in a teenager with Chédiak–Higashi syndrome. *J. Periodontol.* 2000; 71 (5): 816–824.
38. Bailleul-Forestier I. et al. Generalized periodontitis associated with Chédiak – Higashi syndrome. *J. Periodontol.* 2008; 79 (7): 1263–1270. DOI: 10.1902/jop.2008.070440.
39. Caorsi R. et al. CD70 deficiency due to a novel mutation in a patient with severe Chronic EBV Infection Presenting As a Periodic Fever. *Front. Immunol.* 2018; 8. DOI: 10.3389/fimmu.2017.02015.
40. Ye Y. et al. Mutations in the ELANE gene are associated with development of periodontitis in patients with severe congenital neutropenia. *J. Clin. Immunol.* 2011; 31 (6): 936–945. DOI: 10.1007/s10875-011-9572-0.
41. Roberts M., Atkinson J. Oral manifestations associated with leukocyte adhesion deficiency: a five-year case study. *Pediatr. Dent.* 1990; 12: 107–111.
42. Etzioni A. Leukocyte adhesion deficiency (LAD) syndromes. *Orphanet Encycl.* 2005; (5): 1–4.
43. Dababneh R. et al. Periodontal manifestation of leukocyte adhesion deficiency type I. *J. Periodontol.* 2008; 79 (4): 764–768. DOI: 10.1902/jop.2008.070323.
44. Hajishengallis G., Moutsopoulos N.M. Etiology of leukocyte adhesion deficiency-associated periodontitis revisited: not a raging infection but a raging inflammatory response. *Expert Rev. Clin. Immunol.* 2014; 10 (8): 973–975. DOI: 10.1586/1744666X.2014.929944.

45. Zhang Y. et al. Evaluation of human leukocyte N-formyl-peptide receptor (FPR1) SNPs in aggressive periodontitis patients. *Genes Immun.* 2003; 4 (1): 22–29.
46. Khan F.Y., Jan S.M., Mushtaq M. Papillon – Lefèvre syndrome: Case report and review of the literature. *J. Indian Soc. Periodontol.* 2012; 16 (2): 261–265. DOI: 10.4103/0972-124X.99273.
47. Sharma A., Kaur G., Sharma A. Papillon – Lefevre syndrome: A case report of 2 affected siblings. *J. Indian Soc. Periodontol.* 2013; 17 (3): 373–377. DOI: 10.4103/0972-124X.115643.
48. Sreeramulu B. et al. Papillon – Lefèvre syndrome: clinical presentation and management options. *Clin. Cosmet. Investig. Dent.* 2015; 7: 75–81. DOI: 10.2147/CCIDE.S76080.
49. Roberts H. et al. Characterization of neutrophil function in Papillon – Lefèvre syndrome. *J. Leukoc. Biol.* 2016; 100 (2): 433–444. DOI: 10.1189/jlb.5A1015-489R.
50. Oveisi M., Barzilay O., Hanafi A. Periodontal disease in immunodeficient patients: Clinical guidelines for diagnosis and management. *Int. Dent. J. Stud. Res.* 2015; 3 (2): 93–104.
51. Wang X., van de Veerdonk F.L. When the fight against fungi goes wrong. *PLoS Pathog.* 2016; 12 (2): e1005400. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005400.
52. Lanternier F. et al. Inherited CARD9 deficiency in otherwise healthy children and adults with *Candida* species-induced meningoencephalitis, colitis, or both. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2015; 135 (6): 1558–1568. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.12.1930.
53. Glocker E.-O. et al. A Homozygous CARD9 mutation in a family with susceptibility to fungal infections. *N. Engl. J. Med.* 2009; 361 (18): 1727–1735. DOI: 10.1056/NEJMoa0810719.
54. Drewniak A. et al. Invasive fungal infection and impaired neutrophil killing in human CARD9 deficiency. *Blood.* 2013; 121 (13): 2385–2392. DOI: 10.1182/blood-2012-08-450551.
55. Okada S. et al. Chronic mucocutaneous candidiasis disease associated with inborn errors of IL-17 immunity. *Clin. Transl. Immunol.* 2016; 5 (12): e114. DOI: 10.1038/cti.2016.71.
56. Okada S. et al. Impairment of immunity to *Candida* and *Mycobacterium* in humans with bi-allelic RORC mutations. *Science.* 2015; 349 (6248): 606–613. DOI: 10.1126/science.aaa4282.
57. Kraszewska-Głomba B., Matkowska-Kocjan A., Szenborn L. The pathogenesis of periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis syndrome: *A Review of Current Research.* 2015; 5: 563876. DOI: 10.1155/2015/563876.
58. Pascual V. et al. Role of interleukin-1 (IL-1) in the pathogenesis of systemic onset juvenile idiopathic arthritis and clinical response to IL-1 blockade. *J. Exp. Med.* 2005; 201 (9): 1479–1486.
59. Cattalini M. et al. Basic characteristics of adults with periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenopathy Syndrome in Comparison with the typical pediatric expression of Disease. *Mediators Inflamm.* 2015; 2015: 11. DOI: 10.1155/2015/570418.
60. Cantarini L. et al. Diagnostic criteria for adult-onset periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and cervical adenitis (PFAPA) syndrome. *Front. Immunol.* 2017; 8. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01018.
61. Berkun Y. et al. The familial mediterranean fever gene as a modifier of periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenopathy syndrome. *Semin. Arthritis Rheum.* 2011; 40 (5): 467–472. DOI: 10.1016/j.semarthrit.2010.06.009.
62. Colotto M. et al. PFAPA Syndrome in a young adult with a history of tonsillectomy. *Intern. Med.* 2011; 50 (3): 223–225.
63. Bader-Meunier B. et al. Mevalonate kinase deficiency: a survey of 50 patients. *Pediatrics.* 2014; 128 (1): e152–159. DOI: 10.1542/peds.2010-3639.
64. Drenth J.P., Haagsma C.J., van der Meer J.W. Hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever syndrome. The clinical spectrum in a series of 50 patients. International Hyper-IgD Study Group. *Medicine (Baltimore).* 1994; 73 (3): 133–144.
65. Rutsch F. et al. A Specific IFIH1 gain-of-function mutation causes singleton – Merten syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* 2015; 96 (2): 275–282. DOI: 10.1016/j.ajhg.2014.12.014.
66. Papadaki M.E. et al. Cherubism: best clinical practice. *Orphanet J. Rare Dis.* 2012; 7 (Suppl. 1): 6. DOI: 10.1186/1750-1172-7-S1-S6.
67. Meng X.-M., Yu S.-F., Yu G.-Y. Clinicopathologic study of 24 cases of cherubism. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 2005; 34 (4): 350–356.
68. Niranjana B. et al. Non-hereditary cherubism. *J. Oral Maxillofac. Pathol. JOMFP.* 2014; 18 (1): 84–88. DOI: 10.4103/0973-029X.131920.
69. Carvalho Silva E., Carvalho Silva G.C., Vieira T.C. Cherubism: clinicoradiographic features, treatment, and long-term follow-up of 8 cases. *J. Oral Maxillofac. Surg. Off. J. Am. Assoc. Oral Maxillofac. Surg.* 2007; 65 (3): 517–522.
70. Roberts T. et al. Candle syndrome: Orofacial manifestations and dental implications. *Head Face Med.* 2015; 11: 38.
71. Tallon B., Corkill M. Peculiarities of PAPA syndrome. *Rheumatol. Oxf. Engl.* 2006; 45 (9): 1140–1143.
72. Smith E.J. et al. Clinical, molecular, and genetic characteristics of PAPA Syndrome: A review. *Curr. Genomics.* 2010; 11 (7): 519–527. DOI: 10.2174/138920210793175921.
73. Wargo J.J., Emmer B.T. Systemic Inflammation Gone Awry: PASH Syndrome and Temporomandibular Joint Ankylosis. *Am. J. Med.* 2016; 129 (4): e1–3. DOI: 10.1016/j.amjmed.2015.12.019.
74. Jansson A. et al. Classification of Non-Bacterial Osteitis-Retrospective Study of clinical, immunological and genetic aspects in 89 patients. *Rheumatology.* 2007; 46 (1): 154–160.

75. Monsour P.A.J., Dalton J.B. Chronic recurrent multifocal osteomyelitis involving the mandible: case reports and review of the literature. *Dentomaxillofacial Radiol.* 2010; 39 (3): 184–190. DOI: 10.1259/dmfr/23060413.
76. Rasmussen A.Q. et al. Non-infectious osteomyelitis of the mandible in a young woman: a case report. *J. Med. Case Reports.* 2014; 8: 44. DOI: 10.1186/1752-1947-8-44.
77. Padwa B.L. et al. Pediatric chronic nonbacterial osteomyelitis of the jaw: clinical, radiographic, and histopathologic features. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 2016; 74 (12): 2393–2402. DOI: 10.1016/j.joms.2016.05.021.
78. Glocker E.-O. et al. Inflammatory bowel disease and mutations affecting the interleukin-10 Receptor. *N. Engl. J. Med.* 2009; 361 (21): 2033–2045. DOI: 10.1056/NEJMoa0907206.
79. Kotlarz D. et al. Loss of interleukin-10 signaling and infantile inflammatory bowel disease: implications for diagnosis and therapy. *Gastroenterology.* 2012; 143 (2): 347–355. DOI: 10.1053/j.gastro.2012.04.045.
80. Stojanov S., Mcdermott M.F. The tumour necrosis factor receptor-associated periodic syndrome: current concepts. *Expert Rev. Mol. Med.* 2005; 7 (22): 1–18.
81. Lachmann H.J. et al. The phenotype of TNF receptor-associated autoinflammatory syndrome (TRAPS) at presentation: a series of 158 cases from the Eurofever/EUROTRAPS international registry. *Ann. Rheum. Dis.* 2014; 73 (12): 2160–2167. DOI: 10.1136/annrheumdis-2013-204184.
82. Medrano San Ildefonso M., Bruscas Izu C. Hypergammaglobulinemia D syndrome. *An. Med. Interna Madr. Spain.* 1984. 2000; 17 (4): 213–216.
83. Stewart R.E., Hollister D.W., Rimoin D.L. A new variant of Ehlers-Danlos syndrome: an autosomal dominant disorder of fragile skin, abnormal scarring, and generalized periodontitis. *Birth Defects Orig. Artic. Ser.* 1977; 13 (3B): 85–93.
84. Kapferer-Seebacher I. et al. Periodontal Ehlers-Danlos Syndrome Is Caused by Mutations in C1R and C1S, which Encode Subcomponents C1r and C1s of Complement. *Am. J. Hum. Genet.* 2016; 99 (5): 1005–1014. DOI: 10.1016/j.ajhg.2016.08.019.

Сведения об авторах

Долгих Мария Андреевна, аспирант, ИИФ УрО РАН, г. Екатеринбург. ORCID iD 0000-0002-1355-3048.

Болков Михаил Артемович, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, ИИФ УрО РАН, г. Екатеринбург. ORCID iD 0000-0003-2763-9907.

Тузанкина Ирина Александровна, д-р мед. наук, заслуженный деятель науки Российской Федерации, профессор, гл. науч. сотрудник, ИИФ УрО РАН, г. Екатеринбург. ORCID iD 0000-0001-7496-0950.

Саркисян Нарине Гришаевна, канд. мед. наук, науч. сотрудник, ИИФ УрО РАН, г. Екатеринбург. ORCID iD 0000-0003-3939-2956.

Овсепян Нарек Андрикович, аспирант, ИИФ УрО РАН, г. Екатеринбург. ORCID iD 0000-0001-9767-1932.

(✉) Тузанкина Ирина Александровна, e-mail: ituzan@yandex.ru

Authors information

Dolgikh Mariia A., Postgraduate Student, IIP UB RAS, Ekaterinburg, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-1355-3048.

Bolkov Mikhail A., PhD, Senior Researcher, IIP UB RAS, Ekaterinburg, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-2763-9907.

Tuzankina Irina A., DM, Honored Worker of Science of the Russian Federation, Professor, Chief Researcher, IIP UB RAS, Ekaterinburg, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-7496-0950.

Sarkisyan Narine G., PhD., Researcher, IIP UB RAS, Ekaterinburg, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-3939-2956.

Hovsepyan Narek A., Postgraduate student, IIP UB RAS, Ekaterinburg, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-9767-1932.

(✉) Tuzankina Irina A., e-mail: ituzan@yandex.ru

Поступила в редакцию 17.09.2018
Подписана в печать 11.06.2019

Received 17.09.2018
Accepted 11.06.2019

О необходимости единого подхода к написанию судебно-медицинских экспертных выводов

Евтеева И.А., Шигеев С.В.

*Бюро судебно-медицинской экспертизы Департамента здравоохранения г. Москвы
Россия, 115516, г. Москва, Тарный проезд, 3*

РЕЗЮМЕ

Целью исследования явилось изучение имеющихся подходов к формулированию и контролю качества судебно-медицинских экспертных выводов. Нами были изучены литературные источники, содержащие рекомендации по составлению экспертных заключений и повышению их качества. После подборки научных публикаций и изданий по искомой тематике с помощью описательного метода в статье представлены существующие подходы к указанной проблеме. В результате проведенного исследования выявлено отсутствие каких-либо общих объективных требований, предъявляемых к экспертным выводам. Разработка единых стандартов написания и определение «признаков качества» экспертных выводов являются перспективной задачей судебно-медицинской науки и практики, решение которой позволит повысить качество экспертиз.

Ключевые слова: заключение эксперта, выводы, судебно-медицинская экспертиза, качество экспертных выводов.

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.

Для цитирования: Евтеева И.А., Шигеев С.В. О необходимости единого подхода к написанию судебно-медицинских экспертных выводов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 155–163. [https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2019-3-155–163](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-155-163).

On the necessity of a single approach to written medical expert conclusions

Evteeva I.A., Shigeev S.V.

*Bureau of Forensic Medical Examination of the Department of Public Health of the City of Moscow
3, Tarny Proezd, Moscow, 115516, Russian Federation*

ABSTRACT

The aim of the study was to study the available approaches to the formulation and quality control of forensic medical expert conclusions. We have studied the literature sources containing recommendations

on drawing up expert opinions and improving their quality. After a selection of scientific publications and publications on the subject matter with the help of a descriptive method, the article presents the existing approaches to this problem. As a result of the conducted research, the absence of any general objective requirements for expert conclusions was revealed. The development of unified standards for writing and the definition of “signs of quality” of expert conclusions is a promising task of forensic science and practice, the solution of which will improve the quality of examinations.

Key words: expert's conclusion, conclusions, forensic medical examination, quality of expert conclusions.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

For citation: evtееva I.A., Shigeev S.V. On the necessity of a single approach to written medical expert conclusions. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 155–163. [https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2019-3-155-163](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-155-163).

Согласно имеющемуся в литературе определению, заключение эксперта – это мотивированный ответ на поставленные вопросы, к которому он пришел на основе своих специальных знаний в результате всестороннего, полного и объективного исследования представленных материалов [1]. Оно состоит из трех частей – вводной части, исследовательской части и выводов. В вводной части указываются наименование и номер экспертизы, где, когда, кем и на каком основании она произведена, кто присутствовал при ее производстве, перечень предоставленных для исследования объектов, поставленные перед экспертом вопросы и указанные в процессуальных документах обстоятельства дела. В исследовательской части излагаются ход проведенных исследований, полученные результаты и их научная оценка. Выводы содержат ответы эксперта на поставленные перед ним вопросы, а также указания на установленные при производстве экспертизы и имеющие значение для дела обстоятельства, по поводу которых вопросы перед экспертом не ставились. Если решить поставленный вопрос не представляется возможным, об этом также сообщается в выводах. При этом указывается причина, по которой вопрос не может быть решен [1–3].

Таким образом, все выводы можно условно разделить на содержащие имеющую значение для дела информацию и указывающие на невозможность разрешения поставленного вопроса. Выводы, содержащие имеющую значение для дела информацию, подразделяются на содержащие ответы на поставленные перед экспертом вопросы и сделанные им по собственной инициативе. Среди содержащих ответы на поставленные вопросы выводов, в свою очередь, выделяют содержащие полные и частичные ответы. В выводе, содержащем частичный ответ, ему должно

предшествовать указание на невозможность разрешить вопрос полностью [1].

Помимо вышеприведенного деления, выводы, содержащие ответы на поставленные перед экспертом вопросы, подразделяются также на категорические и вероятные. Категорические выводы выражают какое-либо не допускающее иных толкований утверждение. Вероятные, или предположительные, выводы даются, когда невозможно о чем-либо утверждать категорически, но при этом имеется обоснованная версия о наличии или отсутствии конкретного обстоятельства [1, 2, 4].

Категорические выводы, в свою очередь, делятся на положительные и отрицательные, условные и безусловные, однозначные и альтернативные. В условных выводах указывается на наличие какого-либо факта в зависимости от определенных обстоятельств. Альтернативные выводы подразумевают наличие нескольких альтернативных суждений, каждое из которых исключает другие [1, 2].

Принципы составления и требования к содержанию исследовательской части экспертного заключения на сегодняшний день достаточно подробно изложены в Приказе Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 12 мая 2010 г. № 346н «Об утверждении Порядка организации и производства судебно-медицинских экспертиз в государственных судебно-экспертных учреждениях Российской Федерации», а также в многочисленных руководствах и методических пособиях [3, 5, 6]. Однако подробные рекомендации по написанию выводов и четко сформулированные требования к их содержанию на данный момент отсутствуют [7–9].

Впервые общие требования к экспертным выводам были сформулированы в «Наставлении

врачам при судебном осмотре и вскрытии мертвых тел» (1829), где указывается, что выводы («мнение») эксперта должны быть истинными, обоснованными, логично вытекать из проведенного исследования, не должны основываться на одной только аналогии, должен различаться достоверный и вероятный характер выводов, а в сомнительных случаях эксперт должен высказаться о невозможности ответить на поставленный вопрос: «Потом следует мнение, основанное на том, что действительно при вскрытии тела найдено, согласно правилам Судебно-Медицинским. Мнение сие должно быть подтверждаемо достаточными и ясными доказательствами, согласно правилам Анатомии, Физиологии, Патологии и Химии, не менее того и здравым суждением, и заключением, основанным, если можно, на несомненных опытах и наблюдениях классических по сему предмету Авторам. Однако же, хотя сравнение с другими подобными случаями, в сочинениях Судебно-Медицинских найденными, и весьма полезно; но оно не должно быть принимаемо основанием и достаточным доказательством, а служить только может к подкреплению заключения. Поелику открытие истины составляет главный предмет стараний Судебного Врача, то при составлении осмотра обязан различать он то, что никакому сомнению не подлежит, от того, что только вероятно. — По сему он должен в сомнительных случаях, где обстоятельства дела не совершенно открыты, лучше признаться в невозможности произвести решительное заключение, нежели затмевать и запутывать дело неосновательным мнением...» [10]. В 1842 г. эти же требования переключались в «Устав судебной медицины» [11]. В действовавших в СССР «Инструкции о производстве судебно-медицинской экспертизы в СССР» (1952) и Инструкции «О работе судебно-медицинских экспертных комиссий бюро судебно-медицинских экспертиз» (1959) к ним добавлено указание, что, помимо ответов на поставленные вопросы, должны быть освещены и другие обстоятельства, имеющие значение для дела [12]. Эти же требования содержит и ныне действующий Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 12 мая 2010 г. № 346н «Об утверждении Порядка организации и производства судебно-медицинских экспертиз в государственных судебно-экспертных учреждениях Российской Федерации».

А.И. Законов (1959) отмечает, что в связи с отсутствием единой и общепринятой методики написания экспертных выводов они разнятся от

предельно кратких, просто констатирующих тот или иной факт, до содержащих весьма обширные выдержки из исследовательской части заключения и дублирующих ее [9].

С целью решить эту проблему некоторые авторы в своих работах предлагают образцы написания выводов. Например, В.Д. Исаков с соавт. приводят образцы выводов при основных видах повреждений [13], И.З. Дынкина — при исследовании трупов новорожденных младенцев [14], Ю.И. Пиголкин с соавт. — при наркотических интоксикациях [15], В.В. Хохлов — при различных причинах смерти [3, 16]. Однако несмотря на то, что перечень основных вопросов, разрешаемых при проведении судебно-медицинских экспертиз, общеизвестен и изложен во многих руководствах, учебниках и методических пособиях, предусмотреть образцы для всех встречающихся в практике ситуаций невозможно [8].

Более целесообразными представляются принимаемые многими авторами попытки разработки общих схем и рекомендаций для написания выводов в различных случаях. Например, А.Р. Деньковским предложены схемы и образцы выводов при различных причинах смерти [17], А.М. Бедриным — для случаев скоропостижной смерти от ишемической болезни сердца [18]. Под редакцией В.Д. Исакова изданы методические рекомендации, посвященные структуре и аргументации выводов при судебно-медицинской экспертизе повреждений острыми предметами [19]. В.А. Попов с соавт. дают рекомендации по построению и обоснованию выводов при экспертизе огнестрельных повреждений, а также приводят образец выводов [20]. А.А. Солохин и В.Н. Гужеедов в своей работе приводят перечни обязательных для разрешения вопросов и образцы выводов при отдельных видах механической травмы [21]. Р.В. Бабаханян с соавт. дают рекомендации по структуре и аргументации выводов при судебно-медицинской экспертизе повреждений из газового ствольного оружия [22], а В.Д. Исаков с соавт. — при судебно-медицинской экспертизе повреждений от взрыва [23]. И.Г. Вермель приводит схемы составления выводов при судебно-медицинской экспертизе правильности действий медицинских работников, при судебно-медицинской экспертизе живых лиц, трупов в случаях ненасильственной и насильственной смерти, трупов новорожденных, вещественных доказательств с пятнами, подозрительными на кровь. При этом он подчеркивает, что отношение к приведенным схемам должно быть творческим, в них должны вноситься изменения в зависимо-

сти от конкретной ситуации [8, 24]. А.И. Законов подробно разбирает схему построения вывода о причине смерти [9].

Разными авторами и в разное время, после проведения анализа заключений экспертов, отмечалось, что, несмотря на требования нормативных документов, на практике судебно-медицинские эксперты зачастую не обосновывают или недостаточно обосновывают свои выводы [7, 25–30]. Это снижает качество экспертиз, а также служит поводом к назначению повторных экспертиз, при которых не всегда удается устранить имеющиеся недостатки [26]. Кроме того, обосновывая свои выводы на основании обнаруженных при исследовании диагностических признаков и ранее установленных известных в медицине положений, судебно-медицинский эксперт еще раз самостоятельно оценивает свои аргументы, проверяет правильность собственных суждений и точность формулировок. При этом аргументация вывода должна включать само суждение и указание, какими именно признаками оно подтверждается [8].

По мнению О.Х. Поркшеяна, одна из причин большого количества необоснованных выводов – отсутствие в большинстве схем составления судебно-медицинского заключения, предлагаемых различными авторами, рекомендаций по их обоснованию. Он, как и многие другие, подчеркивает необходимость выработки единых принципов написания и обоснования выводов [29].

Выводы эксперта могут быть зачитаны в суде и поэтому должны быть понятны как судье, прокурору и защитнику, так и обвиняемому, и всем лицам, присутствующим в судебном заседании. Для этого они должны излагаться предельно четким и ясным языком, эксперт должен избегать употребления специальной терминологии и иностранных слов. Должны быть полностью исключены любые противоречия и возможность двойного толкования выводов [1, 2, 30–32]. При этом И.Г. Вермель отмечает, что этим требованиям соответствуют далеко не все заключения экспертов, иногда и их образцы, предлагаемые в литературе [8]. Как указывает Е.А. Смоленцев, некоторыми экспертами употребляются в заключениях специальные медицинские термины без разъяснения их смысла, что затрудняет судом оценку экспертных выводов [33].

Эксперт не может давать ответы на вопросы, выходящие за пределы его компетенции, вторгаясь в другую отрасль специальных познаний или в сферу «общежитейского знания», а также подменять выводы, сделанные на основании собственных исследований, оценкой собранных по делу доказательств [1].

В.А. Поповым (2008) при изучении заключений экспертов в случаях убийств были выделены следующие недостатки, наиболее часто встречающиеся в выводах: неполнота обоснования (приведение одного-двух каких-либо аргументов, не являющихся достаточным подтверждением указываемых фактов); неопределенность мотивировки (например, ссылки на «характер» и «особенности» повреждений без указаний о каком именно «характере» и «особенностях» идет речь); скрытая неполнота мотивировки («подтверждение» нескольких утверждений единым перечнем аргументов, при котором некоторые утверждения обосновываются недостаточно, а некоторые не обосновываются совсем); оставление отдельных вопросов следствия без ответов; основание выводов на обстоятельствах дела, а не на результатах проведенного собственного исследования; оценка фактов, не являвшихся предметом исследования; подмена специфических признаков характерными (например, оценка групповых характеристик травмирующего предмета как индивидуальных); выход эксперта за пределы его компетенции и вторжение в сферу смежных дисциплин или в сферу «общежитейского знания» [28].

В.Б. Богуславский (1969) выделяет следующие узловые вопросы методики формирования выводов: определение объема необходимой экспертной информации, приводимой в выводах; установление критериев степени достоверности фактических данных, на основании которых делаются выводы; методы научного экспертного объяснения фактических данных, добытых в ходе исследования. По мнению В.Б. Богуславского, экспертные выводы должны включать суммарную характеристику фактических данных, установленных при производстве экспертизы, ответы на вопросы, указанные в постановлении или определении о назначении экспертизы, и дополнительную установленную в процессе экспертизы информацию, которая, по мнению эксперта, может иметь значение для следствия или суда [7].

И.Г. Вермель (1979) представляет процесс составления выводов судебно-медицинской экспертизы в виде четырех основных действий: установления последовательности изложения выводов; решения поставленных вопросов по существу; определения необходимой логической формы и формулировки каждого вывода; аргументации выводов [8].

Отдельное внимание И.Г. Вермель уделяет определению последовательности изложения выводов. Первый вариант – изложение по принци-

пу «вопрос-ответ». В этом случае ответы даются пунктуально на все вопросы и располагаются в той же последовательности. Это освобождает эксперта от необходимости задумываться над порядком изложения выводов и снижает вероятность пропустить какой-либо вопрос, оставив его без ответа. Однако при таком порядке изложения зачастую теряется его цельность, выводы располагаются бессвязно и логически непоследовательно, а иногда могут и противоречить друг другу. Одни и те же ответы могут повторяться по несколько раз, и каждый раз эксперту требуется заново их аргументировать. Кроме того, при таком подходе ответы на имеющие значение для дела, но не поставленные вопросы, как правило, отсутствуют, а сами выводы становятся менее понятными для работников следствия и суда. Стараясь устранить эти недостатки, некоторые эксперты, отвечая на близкие по смыслу вопросы, объединяют ответы или, ответив один раз, далее ссылаются на этот пункт выводов, а также меняют последовательность вопросов на логически более целесообразную. Несмотря на эти меры, по мнению автора, существенного улучшения качества заключений, построенных по такому принципу, добиться не удастся [8, 24].

Более предпочтительным И.Г. Вермель считает второй вариант изложения выводов, при котором ориентируются не на порядок поставленных вопросов, а на их содержание. При этом каждый последующий вывод логично увязан с предыдущими, а повторения и противоречия между ответами практически исключаются. Так как все внимание эксперта сосредоточено на смысле поставленных вопросов, а не на их формулировках, он, как правило, не оставляет без внимания и дополнительные вопросы, не поставленные перед ним судом или следствием, но имеющие значение для дела. Определяя последовательность изложения выводов, целесообразно начинать с разрешения ключевых вопросов, от ответов на которые зависят ответы на остальные вопросы. Например, при экспертизе живых лиц одним из таких вопросов будет вопрос о наличии повреждений, а при исследовании трупа – о причине смерти [8].

А.Р. Шляхов придерживается мнения, что выводы эксперта должны излагаться в заключении в той последовательности, в которой были расположены поставленные перед ним вопросы, а содержание ответов должно четко соответствовать смыслу вопросов. Он отмечает, что эксперт при формулировании выводов должен воздерживаться от высказываний, содержащих юридическую оценку, например, от определения рода смерти,

т.е. имели место убийство, самоубийство, либо несчастный случай [2].

Н.А. Зыкова отмечает, что следователи и судьи не всегда правильно формулируют свои вопросы, а адвокаты задают только те из них, которые выгодны стороне защиты. Поэтому она считает наиболее целесообразным логически последовательное построение выводов, исходящее из особенностей производимой экспертизы. При этом ответы даются не только на заданные вопросы, но и на вопросы, вытекающие из существа дела. Ответы на вопросы, выпадающие из логичного изложения, даются в конце выводов. Первый пункт выводов содержит констатирующую часть. В нем указывается, какие повреждения или заболевания при каком виде исследования установлены, в порядке от наиболее тяжелых к наиболее легким, проводится группировка повреждений по механизму образования. Со второго пункта следует комментирующая часть выводов. В каждом пункте этой части последовательно даются ответы на вопросы, касающиеся механизма образования повреждений, прижизненности и давности их образования, степени вреда, причиненного здоровью, и другие имеющие значение для дела вопросы. По принципу «вопрос-ответ» выводы формулируются только в случаях дополнительных экспертиз, содержащих чаще всего уточняющие вопросы, когда экспертами уже составлялись подробные ответы на все заданные и вытекающие из существа дела вопросы [32].

В настоящее время актуальными проблемами являются контроль качества судебно-медицинской экспертной деятельности и внедрение в судебно-медицинской экспертизе системы менеджмента качества. Под качеством понимается степень удовлетворенности требований потребителя, применительно к судебно-медицинской экспертной деятельности – обеспечение полного и своевременного решения вопросов, возникающих у правоохранительных органов и судов [34, 35]. При этом качество экспертизы определяется пригодностью ее заключения для установления истины по делу [36]. Одними из критериев, определяющих качество проведения судебно-медицинской экспертизы, являются соответствие выводов содержанию исследовательской части, их научная обоснованность и мотивированное формулирование в соответствии с законами логики, а также ясность, конкретность и наглядность изложения [37, 38].

С целью контроля качества экспертиз многими авторами предлагается систематическое проведение проверок актов и заключений по единообраз-

ным схемам [39–45]. Например, А.Н. Додиной с целью повышения качества экспертиз в случаях автомобильной травмы была разработана схема проверки актов вскрытия трупов, в которой особое внимание уделялось правильности группировки повреждений и обоснованности выводов о механизме образования повреждений и причине смерти [46].

По мнению В.И. Прозоровского (1974), в случае назначения повторной экспертизы, если ее заключение опровергает первичное, необходимо выявлять причину расхождения выводов и принимать меры к предотвращению подобных случаев [47]. А.В. Коковихин (2004) и О.В. Мельников (2010) отмечают, что каждый случай повторной экспертизы должен быть проанализирован и проведены мероприятия по устранению причин, вызвавших ее назначение [34, 38]. Однако при отсутствии каких-либо общих объективных требований, предъявляемых к экспертным выводам, любая их проверка представляется носящей субъективный характер. Разработка единых стандартов написания и определение «признаков качества» экспертных выводов являются перспективной задачей судебно-медицинской науки и практики, решение которой позволит повысить качество экспертиз [38, 48].

Таким образом, несмотря на многолетнюю историю разработки и изучения проблемы формулирования экспертных выводов, она по-прежнему далека от своего разрешения. Зачастую даже в одной организации по одним и тем же материалам могут быть сделаны две экспертизы с противоречащими друг другу выводами. Во многих случаях, особенно когда вопросы, поставленные перед экспертами, сформулированы некорректно, выводы имеют малую информативность, при этом экспертная инициатива с целью указать максимум значимых сведений применяется крайне редко [33]. Все это приводит к назначению повторных экспертиз, а следовательно, к дополнительным затратам бюджетных средств на их производство. Появление все новых негосударственных судебно-медицинских экспертных организаций неизбежно влечет увеличение конкуренции в сфере производства судебно-медицинских экспертиз, когда усиление контроля качества экспертных выводов является необходимым условием конкурентоспособности организации [34].

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Кузнецов А.Е., Шибанова Н.И. Назначение и производство медицинских экспертиз: учебно-практическое пособие. М., 2003: 576. [Kuznetsov L.Ye., Shibanova N.I. Appointment and production of medical examinations: a practical training manual. Moscow, 2003: 576 (in Russ.).]
2. Шляхов А.Р. Судебная экспертиза: организация и проведение. М.: Юридическая литература, 1979: 168. [Shlyahov A.R. Forensic examination: organization and conduct. Moscow: Legal literature Publ., 1979: 168 (in Russ.).]
3. Хохлов В.В. Судебная медицина: руководство. Смоленск, 2010: 992. [Khokhlov V.V. Forensic Medicine: A Guide. Smolensk, 2010: 992 (in Russ.).]
4. Шигеев В.Б., Шигеев С.В. Наставления по судебно-медицинскому вскрытию мертвых тел. М.: August Borg, 2014: 376. [Shigeev V.B., Shigeev S.V. Manuals on forensic autopsies of dead bodies. Moscow: August Borg, 2014: 376 (in Russ.).]
5. Солохин А.А., Солохин Ю.А. Руководство по судебно-медицинской экспертизе трупа. М.: РМАПО, 1997: 264. [Solokhin A.A., Solokhin YU.A. Manual on forensic examination of the corpse. Moscow: RMAPO, 1997: 264 (in Russ.).]
6. Шигеев С.В. Наставления к судебно-медицинскому исследованию трупов: учебно-методическое пособие для студентов, интернов и ординаторов. М., 2005: 55. [Shigeev S.V. Manuals for forensic research of corpses (educational-methodical manual for students, interns and residents). Moscow, 2005: 55 (in Russ.).]
7. Богуславский В.Б. К вопросу о методике формирования заключения судебно-медицинской экспертизы: сборник трудов по судебной медицине и судебной химии. Пермь, 1969; 3: 66–70. [Boguslavskiy V.B. To the question of the method of forming the conclusion of forensic medical examination: collection of works on forensic medicine and forensic chemistry. Perm', 1969; 3: 66–70 (in Russ.).]
8. Вермель И.Г. Вопросы теории судебно-медицинского заключения. М.: Медицина, 1979: 128. [Vermel' I.G. Questions of the theory of forensic medical conclusion. Moscow: Meditsina Publ., 1979: 128 (in Russ.).]
9. Законов А.И. Танатологический принцип построения заключения о причине смерти. Вопросы судебно-медицинской экспертизы и криминалистики. Горький, 1959: 254–276. [Zakonov A.I. Thanatological principle of constructing a conclusion about the cause of death. Questions of forensic medical examination and criminalistics. Gor'kiy, 1959: 254–276 (in Russ.).]
10. Наставление врачам при судебном осмотре и вскрытии мертвых тел. СПб., 1829: 181. [Manual for doctors in forensic examination and autopsy of dead bodies. St.-Petesburg, 1829: 181 (in Russ.).]
11. Свод законов Российской Империи. СПб., 1857: 323–387. [Code of Laws of the Russian Empire. St.-Petesburg, 1857: 323–387 (in Russ.).]
12. Прозоровский В.И., Кантер Э.И. Сборник организационно-методических материалов по судебно-медицинской экспертизе. М.: Медгиз, 1960: 480. [Prozorovsky V.I., Kanter E.I. Collection of organizational

- and methodological materials on forensic medical examination. Moscow: Medgiz Publ., 1960: 480 (in Russ.).
13. Исаков В.Д., Бабаханян Р.В., Белых А.Н., Карнаевич Ю.А., Колкутин В.В., Толмачев И.А., Фетисов В.А., Хрусталева Ю.А. Примеры описания, формулирования диагноза и выводов по основным видам повреждений. СПб., 2002: 68. [Isakov V.D., Babakhanyan R.V., Belykh A.N., Karnasevich Yu.A., Kolkutin V.V., Tolmachev I.A., Fetisov V.A., Khrustaleva Yu.A. Examples of description, formulation of diagnosis and conclusions on the main types of damage. St.-Petesburg, 2002: 68 (in Russ.).]
 14. Дынкина И.З. Схема заключения по материалам судебно-медицинского исследования трупов новорожденных младенцев: методическое пособие. Л., 1970: 11. [Dynkina I.Z. Scheme of the conclusion on materials of forensic medical examination of corpses of newborn infants: methodical manual. Leningrad, 1970: 11 (in Russ.).]
 15. Пиголкин Ю.И., Богомолов Д.В., Богомолова И.Н., Должанский О.В., Горностаев Д.В. Морфологическая диагностика наркотических интоксикаций в судебной медицине. М.: Медицина, 2004: 304. [Pigolkin Yu.I., Bogomolov D.V., Bogomolova I.N., Dolzhanskiy O.V., Gornostayev D.V. Morphological diagnosis of narcotic intoxication in forensic medicine. Moscow: Meditsina Publ., 2004: 304 (in Russ.).]
 16. Хохлов В.В. Судебная медицина. Врачебное свидетельство о смерти. Кодирование причины смерти по МКБ-10 в практической работе судебно-медицинского эксперта. Структура судебно-медицинского диагноза и выводов: практическое пособие. Смоленск, 1999: 118. [Khokhlov V.V. Forensic Medicine. Medical certificate of death. Coding the cause of death according to ICD-10 in the practical work of a forensic expert. Structure of forensic diagnosis and findings: Practical manual. Smolensk, 1999: 118 (in Russ.).]
 17. Денковский А.Р. Составление судебно-медицинских заключений: методическое пособие для слушателей факультетов подготовки врачей. Л., 1970: 105. [Denkovsky A.R. Drawing up of forensic medical reports: methodical manual for students of the faculties of training doctors. Leningrad, 1970: 105 (in Russ.).]
 18. Бедрин Л.М., Загрядская А.П., Кедров В.С., Уткина Т.М. Судебно-медицинская диагностика скоропостижной смерти от ишемической болезни сердца. Горький, 1975: 160. [Bedrin L.M., Zagryadskaya A.P., Kedrov V.S., Utkina T.M. Forensic diagnosis of sudden death from ischemic heart disease. Gor'kiy, 1975: 160 (in Russ.).]
 19. Белых А.Н., Исаков В.Д., Ковалев А.В., Колкутин В.В., Толмачев И.А. Структура и аргументация выводов при судебно-медицинской экспертизе повреждений острыми предметами: методические рекомендации для судебно-медицинских экспертов. СПб., 1994: 20. [Belykh A.N., Isakov V.D., Kovalev A.V., Kolkutin V.V., Tolmachev I.A. Structure and reasoning of conclusions in the forensic medical examination of injuries by sharp objects: Methodological recommendations for forensic experts. St.-Petesburg, 1994: 20 (in Russ.).]
 20. Попов В.Л., Шигеев В.Б., Кузнецов Л.Е. Судебно-медицинская баллистика. СПб: Гиппократ, 2002: 656. [Popov V.L., Shigeyev V.B., Kuznetsov L.Ye. Forensic medical ballistics. St.-Petesburg: Hippocrates Publ., 2002: 656 (in Russ.).]
 21. Солохин А.А., Гужеедов В.Н. Методика описания повреждений и формулирования выводов судебно-медицинского эксперта в случаях механической травмы. М.: РМАПО, 1999: 72. [Solokhin A.A. Guzheyedov V.N. A technique for describing injuries and formulating the conclusions of a forensic expert in cases of mechanical trauma. Moscow: RMAPO, 1999: 72 (in Russ.).]
 22. Бабаханян Р.В., Владимиров В.Ю., Исаков В.Д., Катков И.Д., Кузнецов Ю.Д., Сигалов Ф.А. Газовое стрелковое оружие самообороны. Криминалистические и судебно-медицинские аспекты. СПб., 1997: 100. [Babakhanyan R.V. Vladimirov V.Yu., Isakov V.D., Katkov I.D., Kuznetsov Yu.D., F.A. Sigalov F.A. Gas shotguns of self-defense. Forensic and forensic aspects. St.-Petesburg, 1997: 100 (in Russ.).]
 23. Исаков В.Д., Бабаханян Р.В., Матышев А.А., Катков И.Д., Гальцев Ю.В., Аполлонов А.Ю. Судебно-медицинская экспертиза взрывной травмы. СПб., 1997: 120. [Isakov V.D., Babakhanyan R.V., Matyshev A.A., Katkov I.D., Gal'tsev Yu.V., Apollonov A.Yu. Forensic examination of explosive trauma. St.-Petesburg, 1997: 120 (in Russ.).]
 24. Вермель И.Г. Вопросы логики в судебно-медицинских заключениях. М.: Медицина, 1974: 53. [Vermel' I.G. Questions of logic in forensic medical reports. Moscow: Meditsina Publ., 1974: 53 (in Russ.).]
 25. Березный В.И. Об ошибках судебно-медицинских экспертов. Первый Всесоюзный съезд судебных медиков (тезисы докладов), 21–24 сентября 1976 г., Киев, 1976: 90–91. [Bereznyy V.I. About the mistakes of forensic experts. The First All-Union Congress of Forensic Physicians (reports abstracts). September 21–24, 1976. Kiyev, 1976: 90–91 (in Russ.).]
 26. Бойко О.И., Кузьмина Е.И., Свид К.С. О некоторых недостатках экспертиз по исследованию трупов. Первый Всесоюзный съезд судебных медиков (тезисы докладов), 21–24 сентября 1976, г. Киев, 1976: 73–74. [Boyko O.I., Kuzmina E.I., Svid K.S. On some shortcomings in the examination of corpses. The First All-Union Congress of Forensic Physicians (reports abstracts). September 21–24, 1976. Kiyev, 1976: 73–74 (in Russ.).]
 27. Дынкина И.З. Обоснование выводов – обязательное требование при составлении судебно-медицинского заключения. Труды ЛенГИДУВа. Л., 1967: 50: 11–13. [Dynkina I.Z. Justification of conclusions is an obligatory requirement when drawing up a forensic

- report. Proceedings of former Leningrad State Institute for Advanced Medical Studies. Leningrad, 1967; 50: 11–13 (in Russ.)).
28. Попов В.А. Обоснование выводов в заключении судебно-медицинского эксперта: ошибки, их причины и пути преодоления. Сборник докладов совещания начальников БСМЭ СЗФО РФ по вопросам взаимодействия судебно-медицинской экспертизы со следователями Следственного комитета при прокуратуре Российской Федерации. Калининград, 2008: 33–38. [Popov V.L. Justification of the conclusions in the conclusion of a forensic expert: errors, their causes and ways to overcome. Collection of reports of the meeting of the Heads of the Office of the Chief Medical Examiner (OCME) of the North-West Federal District of the Russian Federation on the issues of interaction between forensic medical examination and investigators of the Investigative Committee under the Prosecutor's Office of the Russian Federation. Kaliningrad, 2008: 33–38 (in Russ.).]
29. Поркшеян О.Х. Экспертное заключение и необходимость его обоснования. Судебно-медицинская экспертиза и криминалистика на службе следствия: сборник работ. Ставрополь, 1967; 5: 325–327. [Porksheyan O.Kh. Expert opinion and the need for its justification. Forensic medical examination and criminalistics in the service of the investigation: collection of works. Stavropol', 1967; 5: 325–327 (in Russ.).]
30. Сапожников Ю.С. О судебно-медицинском мнении при исследовании трупа. *Судебная экспертиза*. 1936; (2): 32–40. [Sapozhnikov Yu.S. On forensic medical opinion when examining a corpse. *Forensic Expertise*. 1936; 19 (2): 32–40 (in Russ.).]
31. Воскобойников В.И. К вопросу о составлении заключения к судебно-медицинскому протоколу вскрытия трупа: сборник научных работ. Ростов-н/Д, 1959: 225–231. [Voskoboynikov V.I. On the issue of drafting an opinion on the forensic protocol of the autopsy of a corpse. Collection of scientific works. Rostov-na-Donu, 1959: 225–231 (in Russ.).]
32. Зыкова Н.А. Об опыте составления выводов при производстве комиссионных судебно-медицинских экспертиз по материалам дела. Актуальные вопросы судебной медицины и экспертной практики. М., 2011: 350–354. [Zykova N.A. On the experience of drawing conclusions in the commissioning of forensic medical examinations on the case materials. Actual issues of forensic medicine and expert practice. Moscow, 2011: 350–354 (in Russ.).]
33. Смоленцев Е.А. Повышение качества судебно-медицинских экспертиз – важное условие дальнейшего совершенствования правосудия. *Судебно-медицинская экспертиза*. 1983; (1): 20–22. [Smolentsev Ye.A. Improving the quality of forensic medical examinations is an important condition for the further improvement of justice. *Forensic Medical Expertise*. 1983; (1): 20–22 (in Russ.).]
34. Мельников О.В. К вопросу о контроле качества экспертной деятельности бюро судебно-медицинской экспертизы. Актуальные вопросы судебно-медицинской науки и практики: Материалы межрегиональной научно-практической конференции. Киров, 2010: 62–64. [Mel'nikov O.V. On the issue of quality control of the expert activity of the Bureau of Forensic Medical Examination. Actual questions of forensic science and practice: materials of the interregional scientific-practical conference. Kirov, 2010: 62–64 (in Russ.).]
35. Фадеев С.П. Вопросы качества в судебной медицине. Актуальные вопросы судебной и клинической медицины. Ханты-Мансийск, 2002; 6: 35–37. [Fadeyev S.P. Quality issues in forensic medicine. Actual Issues of Forensic and Clinical Medicine. Khanty-Mansiysk, 2002; 6: 35–37 (in Russ.).]
36. Гордон Э.С. Судебно-медицинская экспертиза: проблемы и решения. Ижевск: Объединение «Полиграфия», 1990: 140. [Gordon E.S. Forensic medical examination: problems and solutions. Izhevsk: Printing Association "Polygraphy", Publ., 1990: 140 (in Russ.).]
37. Ермолин А.В. Развитие системы менеджмента качества в судебно-медицинской экспертизе. Актуальные вопросы медико-криминалистической экспертизы: современное состояние и перспективы развития. М., 2013: 45–50. [Yermolin A.V. Development of the quality management system in forensic medical examination. Actual issues of medical and forensic expertise: current status and development prospects. Moscow, 2013: 45–50 (in Russ.).]
38. Коковихин А.В. Перспективы внедрения системы управления качеством в судебно-медицинской экспертизе. *Проблемы экспертизы в медицине*. 2004; 3: 3–4. [Kokovikhin A.V. Prospects for the introduction of a quality management system in forensic medical examination. *Problems of Examination in Medicine*. 2004; 3: 3–4 (in Russ.).]
39. Сивогривова Н.В., Коротун В.Н. Современное состояние проблемы организации и оптимизации контроля качества экспертных исследований в судебно-медицинских отделениях. *Проблемы экспертизы в медицине*. 2004; 4: 36–39. [Syvohryvova N.V., Korotun V.N. The current state of the problem of organizing and optimizing the quality control of expert research in the forensic medical departments. *Problems of Examination in Medicine*. 2004; (4): 36–39 (in Russ.).]
40. Томилин В.В., Лукаш А.А., Сироткин Г.М., Шанидзе В.С. Научно-организационные и методические вопросы повышения качества судебно-медицинской экспертизы. Первый Всесоюзный съезд судебных медиков (тезисы докладов), 21–24 сентября 1976 г. Киев, 1976: 27–28. [Tomylyn V.V., Lukash A.A., Syrotkyn H.M., Shanydze V.S. Scientific-organizational and methodical issues of improving the quality of forensic medical examination. First All-Union Congress of Forensic Physicians (reports abstracts). September 21–24, 1976. Kyev, 1976: 27–28 (in Russ.).]

41. Додина Л.Н. К вопросу о единообразной схеме проверки актов вскрытий трупов. Первый Всесоюзный съезд судебных медиков (тезисы докладов), 21–24 сентября 1976 г. Киев, 1976: 56–57. [Dodina L.N. On the question of a uniform scheme of verification of acts of autopsy of corpses. First All-Union Congress of Forensic Physicians (reports abstracts). September 21–24, 1976. Kyev, 1976: 56–57 (in Russ.)].
42. Андреев В.В. Организация работы по контролю за качеством и сроками выполнения экспертиз. *Судебно-медицинская экспертиза*. 1987; 2: 53–54. [Andreyev V.V. Organization of work to control the quality and timing of the examination. *Forensic Medical Expertise*. 1987; 2: 53–54 (in Russ.)].
43. Калинин Ю.П., Харин Г.М., Нигматулин Н.Ш., Спиридонов В.А. О формах контроля качества экспертной работы. Первая международная конференция судебных медиков: тезисы докладов. Астрахань, 1995: 74. [Kalinin Yu.P., Kharin G.M., Nigmatulin N.Sh., Spiridonov V.A. On the forms of quality control of expert work. The First International Conference of Forensic Medicine: Abstracts. Astrakhan', 1995: 74 (in Russ.)].
44. Заславский Г.И. Оценка качества экспертизы трупа в случаях убийств. Проблемы идентификации в теории и практике судебной медицины: Материалы IV Всероссийского съезда судебных медиков. М.; Владимир, 1996: (1): 9–11. [Zaslavskiy G.I. Assessment of the quality of expertise in cases of murders. Problems of identification of the corpse in the theory and practice of forensic medicine: Proceedings of the IV All-Russian Congress of Forensic Medicine. Moscow; Vladimir, 1996: (1): 9–11 (in Russ.)].
45. Заславский Г.И., Лобан И.Е., Попов В.А., Вылегжанин С.В. Система управления качеством государственной судебно-медицинской деятельности (на модели отдела экспертизы трупов). Материалы Всероссийской научно-практической конференции «О проблемных вопросах в организации производства судебно-медицинских экспертиз». М., 2009: 24–32. [Zaslavskiy G.I., Loban I.Ye., Popov V.L., Vylegzhanin S.V. The system of quality management of state forensic activity (on the model of the department of examination of corpses). Materials of the all-Russian scientific and practical conference “On problematic issues in the organization of forensic medical examinations”. Moscow, 2009: 24–32 (in Russ.)].
46. Додина Л.Н. О единообразной проверке актов вскрытия трупов в случаях автотравмы. Актуальные вопросы судебно-медицинской травматологии. М., 1975: 10–13. [Dodina L.N. On the uniform verification of acts of autopsy in cases of auto-trauma. Actual questions of forensic traumatology. Moscow, 1975: 10–13 (in Russ.)].
47. Прозоровский В.И., Кантер Э.И. Судебно-медицинская служба и ее задачи по дальнейшему улучшению судебно-медицинской экспертизы. *Судебно-медицинская экспертиза*. 1974; 1: 3–7. [Prozorovsky V.I., Kanter E.I. Forensic medical service and its tasks for further improvement of forensic medical examination. *Forensic Medical Expertise*. 1974; 1: 3–7 (in Russ.)].
48. Мельников В.С., Мельников О.В., Семенов Е.Н. О системе качества судебно-медицинской экспертной деятельности. Материалы XVII Пленума ВОСМ «Судебно-медицинская оценка качества оказания медицинской помощи». Владимир; Москва, 2003: 15–17. [Mel'nikov V.S., Mel'nikov O.V., Semenov Ye.N. On the quality system of forensic expert activity. Materials XVII Plenum of the Russian Society of Forensic Physicians “Forensic medical assessment of the quality of medical care.” Vladimir; Moscow, 2003: 15–17 (in Russ.)].

Сведения об авторах

Евтеева Ирина Адилевна, канд. мед. наук, врач судебно-медицинский эксперт, отдел комиссионных судебно-медицинских экспертиз, Бюро судебно-медицинской экспертизы, Департамент здравоохранения г. Москвы, г. Москва. ORCID iD 0000-0002-6839-2771.

Шигеев Сергей Владимирович, д-р мед. наук, начальник Бюро судебно-медицинской экспертизы, Департамент, здравоохранения г. Москвы, г. Москва. ORCID iD 0000-0003-2219-5315.

(✉) Евтеева Ирина Адилевна, e-mail: tahtarova@bk.ru.

Поступила в редакцию 02.07.2018
Подписана в печать 11.06.2019

Authors information

Evteeva Irina A., PhD, Forensic Doctor, Bureau of Forensic Medical Examination; Department of Public Health of the City of Moscow, Moscow, Russian Federation. . ORCID iD 0000-0002-6839-2771.

Shigeev Sergey V., DMSc, Head of the Bureau of Forensic Medical Examination; Department of Public Health of the City of Moscow, Moscow, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-2219-5315.

(✉) Evteeva Irina A., e-mail: t.ahtarova@bk.ru

Received 02.07.2018
Accepted 11.06.2019

Открытые и эндоваскулярные оперативные вмешательства при стенозе периферических отделов фистульных вен

Карданахшвили З.Б., Зулькарнаев А.Б.

Московский областной научно-исследовательский клинический институт (МОНКИ) им. М.Ф. Владимирского
Россия, 129110, г. Москва, ул. Щеткина, 61/2, корпус 6

РЕЗЮМЕ

Сосудистый доступ – краеугольный камень гемодиализа. При дисфункции сосудистого доступа значительно ухудшаются результаты лечения пациентов с хронической болезнью почек V стадии. Одной из наиболее частых причин дисфункции сосудистого доступа является стеноз периферического отдела фистульной вены. Несмотря на многообразие инициирующих факторов, морфологическим субстратом стенотического поражения фистульной вены (или артериовенозного анастомоза) в большинстве случаев является неоинтимальная гиперплазия. Стенотическое поражение фистульной вены сильно ассоциировано с повышенным риском тромбоза и утратой сосудистого доступа. Можно условно выделить четыре характерные локализации стеноза: артериовенозный или артериопротезный анастомоз, стеноз юктаанастомотического сегмента фистульной вены, стеноз фистульной вены на протяжении «функционального» сегмента, стеноз «плечевой дуги».

Показаниями к оперативному лечению в подавляющем большинстве случаев являются нарушение функции сосудистого доступа и гораздо реже – клиническая симптоматика венозной недостаточности.

Известны различные методы открытой реконструкции стенозированного участка фистульной вены: резекция, протезирование синтетическим сосудистым протезом, протезирование или пластика стенки аутовеной, полное или частичное дренирование пристенотического сегмента вены и др. Постепенно набирает популярность альтернативный метод пластики стеноза при помощи эндоваскулярных вмешательств. В отличие от стенозов центральных вен, где эндоваскулярные вмешательства являются золотым стандартом, при стенозе периферических вен это лишь адъювантный метод. Осложнения при эндоваскулярных вмешательствах встречаются крайне редко.

Несмотря на то, что эндоваскулярные вмешательства имеют практически абсолютную вероятность технического успеха, первичная проходимость невысока и составляет примерно 50% через полгода. Использование непокрытых стентов не сопровождается увеличением первичной проходимости. Применение стент-графтов позволяет увеличить первичную проходимость, особенно при пластике «проблемных» стенозов в области протезовенозного анастомоза и плечевой дуги.

Множество вопросов, связанных с эндоваскулярными вмешательствами, остаются неразрешенными, что требует продолжения исследований в этом направлении.

Ключевые слова: сосудистый доступ, гемодиализ, стеноз, ангиопластика, артериовенозная фистула, сосудистый протез, стент.

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Для цитирования: Карданахшвили З.Б., Зулькарнаев А.Б. Открытые и эндоваскулярные оперативные вмешательства при стенозе периферических отделов фистульных вен. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 164–174. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-164-174>.

УДК 616.14-007.253-007.271-089

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-164-174>

Open and endovascular surgery for stenosis of the peripheral regions of arteriovenous fistula

Kardanakhishvili Z.B., Zulkarnaev A.B.

Moscow Regional Research and Clinical Institute
129110, Moscow, Shchepkina Str., 61/2, building 6

ABSTRACT

Vascular access is the cornerstone of hemodialysis. With vascular access dysfunction, the results of treatment of patients with stage 5 chronic kidney disease significantly deteriorate. One of the most common causes of vascular access failure is peripheral venous stenosis. Despite the variety of initiating factors, the morphological substrate of stenotic damage to the arteriovenous fistula (or arteriovenous anastomosis) in most cases is neointimal hyperplasia. Stenotic lesions of the arteriovenous fistula are strongly associated with an increased risk of thrombosis and loss of vascular access. There are 4 typical localizations of stenosis: arteriovenous or arteriograft anastomosis, stenosis of the juxta-anastomotic segment of the fistula, stenosis of the functional segment of the fistula, and stenosis of the cephalic arc.

The most common indication for surgical treatment is vascular access failure; less common indications are clinical symptoms of venous insufficiency.

There are various methods of open reconstruction of the stenotic segment of the fistula vein: resection, prosthetics with a synthetic vascular graft, prosthetics or plastic repair of the autologous vein wall, complete or partial drainage of the prestenotic segment of the vein, etc. Currently an alternative method of stenosis repair using endovascular interventions is gaining popularity. In contrast to central vein stenosis, where endovascular interventions are the gold standard, in peripheral vein stenosis it is only an adjuvant method. Complications of endovascular interventions are extremely rare.

Despite the fact that endovascular interventions have almost absolute probability of technical success, the primary patency is not high and is about 50% in six months. The use of bare stents is not accompanied by an increase in primary patency. The use of stent-grafts can increase the primary patency, especially in the plastic repair of challenging stenoses of the graft-vein anastomosis or cephalic arch.

Many issues related to endovascular interventions remain unresolved, which requires further research.

Key words: vascular access, hemodialysis, stenosis, angioplasty, arteriovenous fistula, vascular graft, stent.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

For citation: Kardanakhishvili Z.B., Zulkarnaev A.B. Open and endovascular surgery for stenosis of the peripheral regions of arteriovenous fistula. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 164–174. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-164-174>.

ВВЕДЕНИЕ

Количество больных хронической болезнью почек, получающих лечение диализом, из года в год увеличивается. При этом, по данным крупных регистров, если в Европе [1] и США [2] в прошлые годы отмечалась стагнация темпа прироста больных на гемодиализе (ГД), в России темп прироста постепенно увеличивается [3]. Вероятно, это обусловлено ростом обеспеченности

ГД. Поскольку артериовенозная фистула (АВФ) сопряжена с лучшей выживаемостью больных на ГД по сравнению с другими видами сосудистого доступа, актуальность профилактики и лечения стенотических поражений фистульной вены на фоне увеличивающейся распространенности диализ-потребной хронической болезни почек не вызывает сомнений.

Обеспечение больных на гемодиализе функциональной АВФ (т.е. АВФ, которая обеспечит

потребный для ГД дебит крови в экстракорпоральный контур) сопряжено с рядом объективных трудностей. Во-первых, на практике достаточно трудно прогнозировать время начала заместительной почечной терапии, а значит, и оптимальный срок формирования доступа. Это приводит к тому, что значительная доля больных начинает ГД с использованием центрального венозного катетера. Во-вторых, повсеместно отмечаются повышение среднего возраста диализных больных, а также увеличение среднего «диализного стажа», что обостряет проблему обеспечения пациентов постоянным сосудистым доступом. У больных, длительно получающих лечение программным ГД, «сосудистый ресурс» бывает, как правило, в значительной мере исчерпан. Таким образом, АВФ является оптимальным, но и наиболее требовательным к состоянию сосудистой сети доступом. Одной из проблем, ограничивающих использование сосудистого доступа и влияющей на его состоятельность, является венозный стеноз.

Этиопатогенетические аспекты стенозов центральных вен изучены лучше, чем факторы, ассоциированные со стенозами периферических отделов фистульных вен. Нам представляется, что в большинстве случаев такие стенозы остаются нераспознанными и клиническим их проявлением являются частые тромбозы сосудистого доступа. В результате создается новый сосудистый доступ на ипсилатеральной конечности. Известно, что стенотическое поражение фистульной вены сильно ассоциировано с повышенным риском тромбоза и утратой сосудистого доступа [4–6].

Частота стенозов при дистальной (радиоцефалической) АВФ несколько выше, чем при проксимальной (брахиоцефалической или брахиобазиллярной). Вероятно, это частично обусловлено меньшей объемной скоростью кровотока в дистальной АВФ, а также меньшим диаметром вен на предплечье [7]. Действительно, известно, что риск возрастает при уменьшении исходного диаметра вены и выраженной ригидности ее венозной стенки [8–10]. Клиническая манифестация такого стеноза наступает значительно раньше, чем при проксимальной АВФ. Также нужно принимать во внимание тот факт, что проксимальная АВФ имеет значительно более ограниченные возможности выполнения реконструктивных вмешательств. В результате рецидивирующий тромбоз быстро приводит к полной утрате сосудистого доступа на пораженной конечности. Помимо этого, доля проксимальных АВФ меньше, чем доля дистальных АВФ, что потенциально может

порождать смещение отбора при проведении исследований [11].

Риск стеноза артериовенозного анастомоза возрастает при предсуществующем атеросклеротическом поражении лучевой артерии, проявляющимся гиперплазией интимы [12]. Следует отметить, что, несмотря на различные возможные иницирующие факторы, морфологическим субстратом стенотического поражения фистульной вены (или артериовенозного анастомоза) в большинстве случаев является неointимальная гиперплазия [13].

Неointимальная гиперплазия развивается в результате активации и пролиферации нескольких типов клеток, что приводит к накоплению внеклеточного матрикса и утолщению стенки вены. К ним относятся воспалительные клетки (в основном макрофаги), а также гладкомышечные клетки сосудистой стенки – миофибробласты и фибробласты [14]. Уремические факторы, такие как гомоцистеин или эндогенные ингибиторы NO-синтазы (асимметричный диметиларгинин), могут оказывать непосредственное токсическое воздействие на эндотелий сосудов и способствовать развитию неointимальной гиперплазии и формированию тромбов [15]. Также у пациентов с терминальной стадией почечной недостаточности в дополнение к эндотелиальной дисфункции отмечается снижение эластичности вен в связи с накоплением коллагеновых волокон вместо гладкомышечных клеток [16, 17]. Турбулентный поток крови, постоянное механическое напряжение стенки вены также способствуют развитию стеноза [18, 19].

Реже причиной стеноза является постепенное нарастание массы пристеночных тромбов. Коагуляционный дисбаланс, вызванный активацией клеток крови, повышенной продукцией биологически активных молекул, метаболическими нарушениями и иными факторами, свойствен больным на гемодиализе. Тромбоциты, фиксированные на сосудистой стенке, высвобождают тромбоцитарный фактор роста, способствуя гиперплазии интимы. Это, в свою очередь, благоприятствует тромбозу сосудистого доступа [20, 21]. Однако надо полагать, в действительности во многих случаях природа процесса носит смешанный характер (неointимальная гиперплазия и прогрессирующий пристеночный тромбоз).

Компенсированный стеноз фистульной вены может достаточно долго протекать бессимптомно, пока его прогрессирование не осложнится развитием венозной гипертензии. Клинические проявления периферического стеноза, аналогич-

но стенозу центральных вен, многочисленны и разнообразны: болезненность и отек конечности, признаки трофической недостаточности конечности, увеличение частоты тромбозов сосудистого доступа, длительное кровотечение из мест пункции фистульной вены после удаления диализных игл, ее напряжение и выраженная пульсация сегмента дистальнее стеноза, снижение эффективности диализа, увеличение рециркуляции, развитие аневризм фистульной вены, спадение вены проксимальнее стеноза при поднятии руки трудности и др. [21, 22]. Стеноз периферических отделов, в отличие от стеноза центральных вен, может быть легко диагностирован при ультразвуковом исследовании. Тем не менее в нашей стране отсутствуют четкие клинические рекомендации по мониторингованию функции доступа, впрочем, как и условия для его повсеместного внедрения. Как правило, пациенты направляются для обследования при развитии выраженной дисфункции АВФ. Вместе с тем скрининг, направленный на раннюю диагностику стенозов, может значительно повысить срок функционирования доступа [23].

Очевидно, что повышенное давление в пристенотическом отделе способствует развитию и прогрессированию аневризматической трансформации фистульной вены [23]. Кроме этого, чем больше объемная скорость кровотока по АВФ, тем раньше появится клиническая симптоматика [24, 25].

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ СТЕНОЗОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ОТДЕЛОВ ФИСТУЛЬНОЙ ВЕНЫ

В течение первого года после формирования сосудистого доступа порядка 30% госпитализаций вызваны развившимися осложнениями. Наиболее частыми причинами дисфункции АВФ (и сосудистых протезов) являются венозные стенозы и тромбозы [26, 27].

Можно условно выделить четыре характерные локализации стеноза: артериовенозный или артериопротезный анастомоз, стеноз юкстаанастомотического сегмента фистульной вены, стеноз фистульной вены на протяжении («функционального» сегмента), стеноз «плечевой дуги» [5]. В зависимости от типа сформированной АВФ стенозические поражения могут возникать в любом месте участвующих в доступе сосудов – от артерии (артериовенозного или артериопротезного анастомоза) до центральной вены [28, 29]. Как мы упоминали выше, при дистальной АВФ стенозы встречаются несколько чаще, чем при проксимальных.

Наиболее часто стеноз развивается в юкстаанастомотическом сегменте фистульной вены (который является наиболее гемодинамически неблагоприятным сегментом), несколько реже – в функциональном сегменте и еще реже – в области анастомоза и «плечевой дуги». [18, 19, 30].

МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ СТЕНОЗОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ОТДЕЛОВ ФИСТУЛЬНОЙ ВЕНЫ

Показаниями к оперативному лечению являются в подавляющем большинстве случаев нарушение функции АВФ и гораздо реже – клиническая симптоматика венозной недостаточности [23].

Известны различные методы открытой реконструкции стенозированного участка фистульной вены. Наиболее популярными из них являются резекция стенозированного участка, протезирование синтетическим сосудистым протезом, протезирование или пластика стенки аутовеной, полное или частичное дренирование пристенотического сегмента вены и др. Выбор оперативного вмешательства, как правило, осуществляется на основе трех основных критериев: локализации и протяженности стеноза, состояния вен на данной конечности, предпочтения и личный опыт хирурга. Причем последний критерий является основополагающим, если возможно выполнение нескольких вариантов реконструкции.

В прошлые годы в России набирал популярность альтернативный метод пластики стеноза при помощи эндоваскулярных вмешательств. Впервые чрезкожная ангиопластика при дисфункции АВФ была применена в 1981 г. [31]. В отличие от стенозов центральных вен, где эндоваскулярные вмешательства являются золотым стандартом, при стенозе периферических вен это лишь адьювантный метод. Остановимся на данных методиках подробнее.

Открытые оперативные вмешательства прочно вошли в арсенал методов лечения стенозов периферических вен. В отношении целесообразности применения эндоваскулярных вмешательств единодушия среди исследователей нет. Есть свидетельства того, что открытые вмешательства предпочтительнее при восстановлении тромбированных АВФ, а при восстановлении проходимости сосудистых протезов результаты сопоставимы с эндоваскулярными методами [32]. В некоторых исследованиях авторы делают вывод, что эндоваскулярная ангиопластика может быть методом выбора в случае стеноза АВФ, а в случае неудачи следует прибегнуть к открытому оперативному вмешательству [33–35]. Другие

ученые считают, что открытые операции следует выполнять у ограниченного круга больных, например, при псевдоаневризмах или при стойкой рецидивирующей дисфункции АВФ после эндоваскулярных вмешательств [36]. Есть и сторонники мнения, что в случае рестеноза повторная эндоваскулярная баллонная ангиопластика имеет хорошие результаты [37]. В то же время некоторые исследователи пришли к выводу, что в случае периферических стенозов эндоваскулярные вмешательства являются альтернативой открытым, но не превосходят их по результатам [38]. В одном небольшом метаанализе было показано, что при превентивной коррекции периферических стенозов фистульной вены не эндоваскулярные, а открытые оперативные вмешательства являются методом выбора [39].

Одни авторы считают, что срок развития стеноза после формирования АВФ – важный фактор. Ранние стенозы имеют значительно больший риск рестеноза после баллонной ангиопластики [36, 40–43]. Другие авторы, напротив, считают, что эндоваскулярная ангиопластика наиболее эффективна при небольших сроках функционирования АВФ или при ее замедленном созревании, в то время как у больных с длительным сроком функционирования АВФ этот метод не повышает выживаемость доступа [44]. Таким образом, множество аспектов практического применения эндоваскулярных вмешательств при стенозах периферических вен остаются неизученными.

Технический успех эндоваскулярных вмешательств на периферических отделах фистульной вены достижим практически во всех случаях. Однако годовая проходимость колеблется в широких пределах (от 23 до 50%) и значительно зависит от локализации стеноза и его протяженности [18, 36, 45–47]. В связи с этим требуются повторные вмешательства. Существует мнение, что традиционная открытая пластика стенозов периферических фистульных вен сопровождается меньшим риском рестеноза, однако первичная проходимость сопоставима с результатами эндоваскулярных вмешательств [48].

Осложнения при эндоваскулярных вмешательствах встречаются крайне редко и достаточно легко (по сравнению с осложнениями при лечении стенозов центральных вен) поддаются лечению. Технический успех при этом достижим в подавляющем большинстве случаев, в то время как первичная проходимость доступа ниже (через 3 мес – 85%) [49].

Интересны крупные исследования, направленные на выявление преимуществ различных мето-

дов эндоваскулярных вмешательств. Применение режущих баллонов (по сравнению со стандартными) не дало возможности добиться значительного повышения вероятности технического успеха (89% против 86%) и первичной проходимости (84 и 55% против 70 и 46% через 6 и 12 мес соответственно) при лечении стенозов нативных вен, однако позволило значительно увеличить первичную проходимость (86 и 63% против 56 и 37% через 6 и 12 мес соответственно) при лечении стеноза протезовенозного анастомоза. Однако при лечении стеноза артериовенозного анастомоза первичная проходимость была практически аналогичной (70 и 30% против 75 и 33% через 6 и 12 мес соответственно) [51].

Интересны также исследования, демонстрирующие возможность эндоваскулярной ангиопластики под ультразвуковым, а не рентгенографическим контролем. Это делает эндоваскулярные вмешательства значительно доступнее и, возможно, безопаснее. Такие вмешательства также эффективны (технический успех достигается более чем в 90% случаев), однако имеют неутешительные отдаленные результаты: первичная проходимость 78,6; 60,2; 53,8 и 48,9%, а вторичная – 100; 100; 95,4 и 89% через 6, 12, 18 и 24 мес соответственно [52]. Несколько худшие результаты операций под ультразвуковым контролем, вероятно, обусловлены тем фактом, что возможности адекватной оценки состояния «фистульной» вены значительно ограничены по сравнению с традиционными рентгенангиохирургическими вмешательствами. При многоочаговом поражении стенозы, располагающиеся в зонах, недоступных ультразвуковому исследованию, могут оставаться нераспознанными. Подобные работы в настоящее время имеют характер разведочного исследования. На данном этапе можно рекомендовать ангиопластику под УЗИ-контролем только в случаях, когда выполнение традиционных вмешательств невозможно.

Было проведено рандомизированное исследование для сравнения эффективности и безопасности эндоваскулярной ангиопластики стенозов фистульных вен режущим баллоном и баллонным катетером высокого давления у пациентов после неэффективной ангиопластики стандартным баллонным катетером. Технический успех в обеих группах составил 100%. Первичная проходимость сосудистого доступа через 6 мес составила 66 и 40% для групп с применением режущего баллонного катетера и катетера с баллоном высокого давления соответственно. Вторичная проходимость через 6 мес составила 97 и 80% для вышеуказанных групп соответственно. Таким образом,

очевидно, режущие баллоны имеют некоторое преимущество по сравнению с баллонами высокого давления [53].

Роль факторов, влияющих на достижение технического и клинического (функционального) успеха эндоваскулярного лечения, остается относительно малоизученной. По некоторым данным, АВФ с венозными стенозами протяженностью более 2 см подвержены более высокому риску необходимости повторных вмешательств. Кроме того, этот риск также увеличивает наличие сахарного диабета [54]. В то же время непонятно, связано ли это с особенностями процедур или же диабетической васкулопатией.

Таким образом, эндоваскулярные вмешательства обеспечивают хорошую временную функциональную состоятельность сосудистого доступа и возможность использования его для ГД в ранние сроки послеоперационного периода. Для достижения долгосрочного клинического успеха необходимы множественные повторные вмешательства. Однако даже это в большинстве случаев позволяет добиться сохранения удовлетворительной функции сосудистого доступа более 2–3 лет. При этом результаты этих вмешательств несколько хуже, чем при лечении стенозов центральных вен. Вероятно, это вызвано более выраженными изменениями стенки вен в результате множественных пункций, а также тем, что чем ближе стеноз к артериовенозному анастомозу, тем меньшими адаптационно-компенсаторными возможностями располагает венозная сеть. В ряде случаев баллонная дилатация дополняется имплантацией стента [23, 55–57]. Есть подтверждения тому, что использование стентов сопряжено с большей выживаемостью сосудистого доступа по сравнению с традиционной ангиопластикой при лечении дисфункции сосудистых протезов, а также нативных АВФ [58–60].

Наиболее неблагоприятной локализацией стенозов является «плечевая дуга» головной вены (*cephalic arch*): в этом случае эндоваскулярные вмешательства часто сопровождаются быстро развивающимся рецидивом, что приводит к окончательной утрате доступа. Несмотря на то, что эндоваскулярные операции являются лечением первой линии, результаты этого метода неоднозначны. В 5% случаев баллонная ангиопластика оказывается неэффективной (при стенозах другой локализации технический успех, как правило, 100%), часто требуется использование баллонных катетеров высокого давления. Возможно, поэтому в данной локализации отмечается более высокая частота разрыва вены. Даже в случае успеха

годовая проходимость составляет всего 23% [18]. При данной локализации стеноза использование стентов и стент-графтов позволяет несколько улучшить результаты [61–63]. Тем не менее применение стентов ограничено анатомическими особенностями: расположение их затруднительно в месте слияния вен [64, 65].

Следует отметить, что использование стентов при стенозе периферических отделов фистульных вен – наиболее спорный вопрос лечения дисфункции сосудистого доступа. Очевидно, что это значительно повышает стоимость лечения. Тем не менее это, безусловно, оправдано в случае, если сосудистый ресурс по формированию нового доступа в значительной мере исчерпан. Кроме того, известно, что при стенозах протезовенозного анастомоза баллонная ангиопластика имеет худшие результаты по сравнению с открытой реконструкцией. При этом использование непокрытых металлических стентов (по данным рандомизированных контролируемых исследований) не повышает первичную проходимость [66]. В то же время доказано, что использование стент-графтов позволяет значительно снизить риск рестеноза по сравнению с баллонной ангиопластикой [67–70]. В связи с этим, надо полагать, такая тактика будет оптимальной (даже по сравнению с открытой реконструкцией), если сохранение данного доступа жизненно важно.

Таким образом, на основе накопленных на сегодняшний день данных, можно заключить, что применение стент-графтов предпочтительнее использования непокрытых стентов. Доказана эффективность стент-графтов при локализации стеноза в области «плечевой дуги» и протезовенозном анастомозе. Имеются множественные свидетельства в пользу того, что применение (различных вариантов) стентов позволяет несколько увеличить показатели проходимости сосудистого доступа по сравнению с изолированной ангиопластикой. В то же время необходимо отметить, что подобные работы характеризуются выраженной противоречивостью, что не позволяет сформулировать четкие клинические рекомендации. Все имеющиеся рекомендации имеют низкий уровень доказательности [23, 45]. Кроме того, стентирование нецелесообразно при локализации стеноза в функциональном отделе вены, так как расположение там стента исключает возможность использования его для пункций.

Главным вопросом использования эндоваскулярных вмешательств при дисфункции периферических отделов «фистульных» вен остается их сомнительное преимущество перед открытыми

операциями. Выполняемая в ходе эндоваскулярных вмешательств ангиография дает исчерпывающую информацию о состоянии всех отделов сосудистого доступа. Тем не менее показатели проходимости выше при открытых оперативных вмешательствах (в силу их большей радикальности). Традиционным открытым операциям, вероятно, следует отдать предпочтение при четко локализованном единичном стенозе. В случае рецидивирующих тромбозов или множественном поражении следует рассмотреть вопрос о проведении ангиографии и эндоваскулярной ангиопластики. Это позволит сформировать объективное представление о состоянии сосудистого доступа и устранить несколько причин дисфункции сосудистого доступа за одно вмешательство. Тем не менее, поскольку долгосрочные показатели проходимости после эндоваскулярных вмешательств нельзя признать удовлетворительными, следует рассмотреть вопрос о создании нового сосудистого доступа. При этом эндоваскулярные вмешательства могут обеспечить необходимый для этого запас времени. Множественные же эндоваскулярные вмешательства при поражении периферических отделов фистульной вены могут быть оправданы только у больных с исчерпанными возможностями по формированию нового сосудистого доступа, когда сохранение имеющегося доступа жизненно важно.

Катализатором развития эндоваскулярных методов лечения поражения фистульных вен является большой опыт при лечении различных поражений сосудов в общей популяции. Наличие же функционирующей артериовенозной фистулы приводит к наличию повышенных требований к состоянию сосудистого русла: эндоваскулярные вмешательства не всегда имеют превосходство над открытыми, а многие аспекты их практического применения остаются спорными.

Некоторые исследователи выступают за профилактическую коррекцию стеноза с субклиническим течением для повышения выживаемости доступа [44, 71–73]. Есть и противники данного подхода. Более поздний метаанализ показал неоднозначные результаты: авторы пришли к выводу, что упреждающая коррекция стеноза в функциональном доступе может снизить риск госпитализации и потребность в использовании центрального венозного катетера, но она не увеличивает долгосрочную проходимость и может увеличить количество вмешательств и инфекций. Авторы также отметили, что исследования, включенные в анализ, были весьма разнородными, что снижает его объективность, и к результатам необходимо

относиться критически [74]. Таким образом, вопрос об эффективности превентивной коррекции стенозов на настоящий момент не разрешен.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Резюмируя вышеизложенное, необходимо отметить, что развитие стенозов периферических отделов фистульных вен, нарушающих функционирование сосудистого доступа, является серьезным и частым явлением у пациентов на гемодиализе.

Ключом к сокращению распространенности стенозов как центральных, так и периферических вен является раннее выявление и лечение пациентов с хроническими заболеваниями почек, а также выбор оптимальной терапевтической стратегии, включающей помимо гемодиализа перитонеальный диализ и трансплантацию почки.

Наряду с хорошо зарекомендовавшими себя открытыми оперативными вмешательствами, в клиническую практику постепенно входят и эндоваскулярные методы разрешения стенотических поражений АВФ. Данные методы имеют высокие показатели технического успеха. Тем не менее в настоящее время нет единого мнения относительно многих аспектов применения эндоваскулярных вмешательств для коррекции дисфункции постоянного сосудистого доступа. Кроме того, не определена и тактика применения эндоваскулярных вмешательств в комплексе с традиционными открытыми хирургическими операциями. Вместе с тем комбинированные операции могут вобрать в себя все плюсы обоих методов и значительно повысить выживаемость сосудистого доступа. Вероятно, с накоплением опыта будет определено место эндоваскулярных вмешательств в комплексе методов коррекции стенозом периферических отделов фистульных вен.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. European Renal Association – European Dialysis and Transplant Association (ERA-EDTA) Registry Annual Report 2015. 2017. URL: <https://www.era-edta-reg.org/files/annualreports/pdf/AnnRep2015.pdf>
2. United States Renal Data System. 2016 USRDS annual data report. Vol. 2 – End-stage Renal Disease (ESRD) in the United States: 1 Incidence, Prevalence, Patient Characteristics, and Treatment Modalities 2016. URL: <https://www.usrds.org/2016/view/Default.aspx>
3. Томилина Н.А., Андрусев А.М., Перегудова Н.Г., Шинкарев М.Б. Заместительная терапия терминальной хронической почечной недостаточности в Российской Федерации в 2010–2015 гг. Отчет по данным обще-

- российского регистра заместительной почечной терапии Российского диализного общества, часть первая. *Нефрология и диализ*. 2017; 19 (4, приложение): 1–95. [Tomilina N.A., Andrushev A.M., Peregodova N.G., Shinkarev M.B. Renal replacement therapy for End Stage Renal Disease in the Russian Federation, 2010–2015. Russian National Renal Replacement Therapy Registry Report of Russian Public Organization of Nephrologists “Russian Dialysis Society”, Pt 1. *Nephrology and Dialysis*. 2017; 19 (4, Suppl.): 1–95. (in Russ.)]. DOI: 10.28996/1680-4422-2017-4suppl-1-95.
4. Mickley V. Central vein obstruction in vascular access. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2006; 32 (4): 439–444.
 5. Pirozzi N., Garcia-Medina J., Hanoy M. Stenosis complicating vascular access for hemodialysis: indications for treatment. *J. Vasc. Access.* 2014; 15 (2): 76–82. DOI: 10.5301/jva.5000194.
 6. Widmer M.K., Malik J. (eds): Patient Safety in Dialysis Access. Contrib Nephrol. Basel, Karger, 2015; 184: 1–270.
 7. Kim Y.O., Yang C.W., Yoon S.A., Chun K.A., Kim N.I., Park J.S., Kim B.S., Kim Y.S., Chang Y.S., Bang B.K. Access blood flow as a predictor of early failures of native arteriovenous fistulas in hemodialysis patients. *Am. J. Nephrol.* 2001; 21 (3): 221–225.
 8. van der Linden J., Lameris T.W., van den Meiracker A.H., de Smet A.A., Blankestijn P.J., van den Dorpel M.A. Forearm venous distensibility predicts successful arteriovenous fistula. *Am. J. Kidney Dis.* 2006; 47 (6): 1013–1019.
 9. Miller C.D., Robbin M.L., Allon M. Gender differences in outcomes of arteriovenous fistulas in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2003; 63 (1): 346–352.
 10. Obialo C.I., Tagoe A.T., Martin P.C., Asche-Crowe P.E. Adequacy and survival of autogenous arteriovenous fistula in African American hemodialysis patients. *ASAIO J.* 2003; 49 (4): 435–439.
 11. Checheriță I.A., Tuță L.A., David C., Peride I., Niculae A., Geavlete B.F., Pricop C., Ion D.A. An overview of permanent vascular access in hemodialyzed patients. *Rom. J. Morphol. Embryol.* 2015; 56 (1): 27–31.
 12. Kim Y.O., Song H.C., Yoon S.A., Yang C.W., Kim N.I., Choi Y.J., Lee E.J., Kim W.Y., Chang Y.S., Bang B.K. Preexisting intimal hyperplasia of radial artery is associated with early failure of radiocephalic arteriovenous fistula in hemodialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.* 2003; 41 (2): 422–428.
 13. Stolic R. Most important chronic complications of arteriovenous fistulas for hemodialysis. *Med. Princ. Pract.* 2013; 22 (3): 220–228. DOI: 10.1159/000343669.
 14. Brahmabhatt A., Misra S. The Biology of Hemodialysis Vascular Access Failure. *Semin. Intervent. Radiol.* 2016; 33 (1): 15–20. DOI: 10.1055/s-0036-1572355.
 15. Morris S.T., McMurray J.J., Rodger R.S., Jardine A.G. Impaired endothelium-dependent vasodilatation in uraemia. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2000; 15 (8): 1194–200.
 16. Koeman J.P., Wijnen J.A., Draaijer P., van Bortel L.M., Gladziwa U., Peltenburg H.G., Struyker-Boudier H.A., van Hooff J.P., Leunissen K.M. Compliance and reactivity of the peripheral venous system in chronic intermittent hemodialysis. *Kidney Int.* 1992; 41 (4): 1041–1048.
 17. Wali M.A., Eid R.A., Al-Homrany M.A. Smooth muscle changes in the cephalic vein of renal failure patients before use as an arteriovenous fistula (AVF). *J. Smooth Muscle Res.* 2002; 38 (3): 75–85.
 18. Quencer K.B., Arici M. Arteriovenous fistulas and their characteristic sites of stenosis. *Am. J. Roentgenol.* 2015; 205 (4): 726–734. DOI: 10.2214/AJR.15.14650.
 19. Alpers C.E., Imrey P.B., Hudkins K.L., Wietecha T.A., Radeva M., Allon M., Cheung A.K., Dember L.M., Roy-Chaudhury P., Shiu Y.T., Terry C.M., Farber A., Beck G.J., Feldman H.I., Kusek J.W., Himmelfarb J. Hemodialysis Fistula Maturation Study Group. Histopathology of Veins Obtained at Hemodialysis Arteriovenous Fistula Creation Surgery. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2017; 28 (10): 3076–3088. DOI: 10.1681/ASN.2016050598.
 20. Akman B., Afsar B., Ataç F.B., Ibis A., Arat Z., Sezer S., Ozdemir F.N., Haberal M. Predictors of vascular access thrombosis among patients on the cadaveric renal transplantation waiting list. *Transplant. Proc.* 2006; 38 (2): 413–415.
 21. Stolic R.V., Trajkovic G.Z., Peric V.M., Jovanovic A.N., Markovic S.R., Sovtic S.R., Subaric-Gorgieva G.Dj. The influence of atherosclerosis and plasma D-dimer concentration in patients with a functioning arteriovenous fistula for maintenance hemodialysis. *Int. Urol. Nephrol.* 2008; 40 (2): 503–508. DOI: 10.1007/s11255-007-9321-8.
 22. Miller L.M., MacRae J.M., Kiai M., Clark E., Dipchand C., Kappel J., Lok C., Luscombe R., Moist L., Oliver M., Pike P., Hiremath S.; Canadian Society of Nephrology Vascular Access Work Group. Hemodialysis tunneled catheter noninfectious complications. *Can. J. Kidney Health Dis.* 2016; (3): 2054358116669130. DOI: 10.1177/2054358116669130.
 23. Schmidli J., Widmer M.K., Basile C., de Donato G., Gallieni M., Gibbons C.P., Haage P., Hamilton G., Hedin U., Kamper L., Lazarides M.K., Lindsey B., Mestres G., Pegoraro M., Roy J., Setacci C., Shemesh D., Tordoir J.H.M., van Loon M., Esvs Guidelines Committee, Kolh P., de Borst G.J., Chakfe N., Debus S., Hinchliffe R., Kakkos S., Koncar I., Lindholt J., Naylor R., Vega de Ceniga M., Vermassen F., Verzini F., Esvs Guidelines Reviewers, Mohaupt M., Ricco J.B., Roca-Tey R. Editor’s Choice – Vascular Access: 2018 Clinical Practice Guidelines of the European Society for Vascular Surgery (ESVS). *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2018; 55 (6): 757–818. DOI: 10.1016/j.ejvs.2018.02.001.
 24. Trerotola S.O., Kothari S., Sammarco T.E., Chittams J.L. Central venous stenosis is more often symptomatic in hemodialysis patients with grafts compared with fistulas. *J. Vasc. Interv. Radiol.* 2015; 26 (2): 240–246. DOI: 10.1016/j.jvir.2014.10.048.
 25. Jennings W.C., Miller G.A., Coburn M.Z., Howard C.A., Lawless M.A. Vascular access flow reduction for arte-

- riovenous fistula salvage in symptomatic patients with central venous occlusion. *J. Vasc. Access.* 2012; 13 (2): 157–162. DOI: 10.5301/jva.5000020.
26. Metcalfe W., Khan I.H., Prescott G.J., Simpson K., Macleod A.M. Hospitalization in the first year of renal replacement therapy for end-stage renal disease. *QJM.* 2003; 96 (12): 899–909.
27. Santoro D., Benedetto F., Mondello P., Pipitò N., Barilla D., Spinelli F., Ricciardi C.A., Cernaro V., Buemi M. Vascular access for hemodialysis: current perspectives. *Int. J. Nephrol. Renovasc. Dis.* 2014; 7: 281–294. DOI: 10.2147/IJNRD.S46643.
28. Kian K., Asif A. Cephalic arch stenosis. *Semin. Dial.* 2008; 21 (1): 78–82.
29. Daoui R., Asif A. Cephalic arch stenosis: mechanisms and management strategies. *Semin. Nephrol.* 2012; 32 (6): 538–544. DOI: 10.1016/j.semnephrol.2012.10.004.
30. Badero O.J., Salifu M.O., Wasse H., Work J. Frequency of swing-segment stenosis in referred dialysis patients with angiographically documented lesions. *Am. J. Kidney Dis.* 2008; 51 (1): 93–98.
31. Lawrence P.F., Miller F.J. Jr., Mineaud E. Balloon catheter dilatation in patients with failing arteriovenous fistulas. *Surgery.* 1981; 89 (4): 439–442.
32. Tordoir J.H.M., Bode A.S., Peppelenbosch N., van der Sande F.M., de Haan M.W. Surgical or endovascular repair of thrombosed dialysis vascular access: Is there any evidence? *Journal of Vascular Surgery.* 2009; 50 (4): 953–956. DOI: 10.016/j.jvs.2009.06.058.
33. Napoli M., Prudenzano R., Russo F., Antonaci A.L., Aprile M., Buongiorno E. Juxta-anastomotic stenosis of native arteriovenous fistulas: surgical treatment versus percutaneous transluminal angioplasty. *The Journal of Vascular Access.* 2010; 11 (4): 346–351. DOI: 10.5301/JVA.2010.5968.
34. Long B., Brichart N., Lermusiaux P., Turmel-Rodrigues L., Artru B., Boutin J.M., Pengloan J., Bertrand P., Bruyère F. Management of perianastomotic stenosis of direct wrist autogenous radial-cephalic arteriovenous accesses for dialysis. *Journal of Vascular Surgery.* 2011; 53 (1): 108–114. DOI: 10.1016/j.jvs.2010.08.007.
35. Kwon H., Choi J.Y., Ko H.K., Kim M.J., Kim H., Park H., Han Y., Ko G.Y., Kwon T.W., Cho Y.P. Comparison of surgical and endovascular salvage procedures for juxta-Anastomotic stenosis in autogenous wrist radiocephalic arteriovenous fistula. *Annals of Vascular Surgery.* 2014; 28 (8): 1840–1846. DOI: 10.1016/j.avsg.2014.06.060.
36. Bountouris I., Kristmundsson T., Dias N., Zdanowski Z., Malina M. Is Repeat PTA of a Failing Hemodialysis Fistula Durable? *Int. J. Vasc. Med.* 2014; (2014): 369687. DOI: 10.1155/2014/369687.
37. Ayez N., Fioole B., Aarts R.A., van den Dorpel M.A., Akkersdijk G.P., Dinkelman M.K., de Smet A.A. Secondary interventions in patients with autologous arteriovenous fistulas strongly improve patency rates. *Journal of Vascular Surgery.* 2011; 54 (4): 1095–1099. DOI: 10.1016/j.jvs.2011.04.023.
38. Ljungström K.-G., Troëng T., Björck M. Time-trends in Vascular Access Surgery in Sweden 1987–2006. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery.* 2008; 36 (5): 592–596. DOI: 10.1016/j.ejvs.2008.07.014.
39. Argyriou C., Schoretsanitis N., Georgakarakos E.I., Georgiadis G.S., Lazarides M.K. Preemptive open surgical vs. endovascular repair for juxta-anastomotic stenoses of autogenous AV fistulae: a meta-analysis. *J. Vasc. Access.* 2015; 16 (6): 454–458. DOI: 10.5301/jva.5000444.
40. Heye S., Maleux G., Vaninbrouckx J., Claes K., Kuypers D., Oyen R. Factors influencing technical success and outcome of percutaneous balloon angioplasty in de novo native hemodialysis arteriovenous fistulas. *Eur. J. Radiol.* 2012; 81 (9): 2298–2303. DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.09.004.
41. Caeiro F., Carvalho D., Cruz J., Ribeiro Santos J., Nolasco F. Efficacy of percutaneous transluminal angioplasty on dysfunctional fistulae because of inflow stenosis. *J. Vasc. Access.* 2013; 14 (3): 231–238. DOI: 10.5301/jva.5000129.
42. Neuen B.L., Gunnarsson R., Baer R.A., Tosenovsky P., Green S.J., Golledge J., Mantha M.L. Factors associated with patency following angioplasty of hemodialysis fistulae. *J. Vasc. Interv. Radiol.* 2014; 25 (9): 1419–1426. DOI: 10.1016/j.jvir.2014.05.020.
43. Neuen B.L., Gunnarsson R., Webster A.C., Baer R.A., Golledge J., Mantha M.L. Predictors of patency after balloon angioplasty in hemodialysis fistulas: a systematic review. *J. Vasc. Interv. Radiol.* 2014; 25 (6): 917–924. DOI: 10.1016/j.jvir.2014.02.010.
44. Chan K.E., Pflederer T.A., Steele D.J., Lilly M.P., Iki-zler T.A., Maddux F.W., Hakim R.M. Access survival amongst hemodialysis patients referred for preventive angiography and percutaneous transluminal angioplasty. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2011; 6 (11): 2669–2680. DOI: 10.2215/CJN.02860311.
45. Greenberg J.I., Suliman A., Angle N. Endovascular dialysis interventions in the era of DOQI. *Ann. Vasc. Surg.* 2008; 22 (5): 657–662. DOI: 10.1016/j.avsg.2008.03.006.
46. Flu H., Breslau P.J., Krol-van Straaten J.M., Hamming J.F., Lardenoye J.W. The effect of implementation of an optimized care protocol on the outcome of arteriovenous hemodialysis access surgery. *J. Vasc. Surg.* 2008; 48 (3): 659–668. DOI: 10.1016/j.jvs.2008.04.002.
47. Miquelin D.G., Reis L.F., da Silva A.A., de Godoy J.M. Percutaneous transluminal angioplasty in the treatment of stenosis of arteriovenous fistulae for hemodialysis. *Int. Arch. Med.* 2008; 1 (1): 16. DOI: 10.1186/1755-7682-1-16.
48. Tessitore N., Mansueto G., Lipari G., Bedogna V., Tardivo S., Baggio E., Cenzi D., Carbognin G., Poli A., Lupo A. Endovascular versus surgical preemptive repair of forearm arteriovenous fistula juxta-anastomotic stenosis: analysis of data collected prospectively from 1999 to 2004. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2006; 1 (3): 448–454.

49. Kipiani V.K., Parkosadze G.L., Gogorishvili I.R., Uru-shadze O.P., Kipiani K.B., Kipshidze N.N. Endovascular treatment of stenosis of autogenous arteriovenous access for hemodialysis. *Georgian Med. News.* 2009; (166): 13–17.
50. Oderich G.S., Treiman G.S., Schneider P., Bhirangi K. Stent placement for treatment of central and peripheral venous obstruction: a long-term multi-institutional experience. *J. Vasc. Surg.* 2000; 32 (4): 760–769.
51. Saleh H.M., Gabr A.K., Tawfik M.M., Abouellail H. Prospective, randomized study of cutting balloon angioplasty versus conventional balloon angioplasty for the treatment of hemodialysis access stenoses. *J. Vasc. Surg.* 2014; 60 (3): 735–740. DOI: 10.1016/j.jvs.2014.04.002.
52. Kumar S., Mahajan N., Patil S.S., Singh N., Dasgupta S., Tejvath S., Singh S., Kenwar D.B., Sharma A., Minz M. Ultrasound-guided angioplasty for treatment of peripheral stenosis of arteriovenous fistula – a single-center experience. *J. Vasc. Access.* 2017; 18 (1): 52–56. DOI: 10.5301/jva.5000626.
53. Aftab S.A., Tay K.H., Irani F.G., Gong Lo R.H., Gogna A., Haaland B., Tan S.G., Chng S.P., Pasupathy S., Choong H.L., Tan B.S. Randomized clinical trial of cutting balloon angioplasty versus high-pressure balloon angioplasty in hemodialysis arteriovenous fistula stenoses resistant to conventional balloon angioplasty. *J. Vasc. Interv. Radiol.* 2014; 25 (2): 190–198. DOI: 10.1016/j.jvir.2013.10.020.
54. Romann A., Beaulieu M.C., Rhéaume P., Clement J., Sidhu R., Kiaii M. Risk factors associated with arteriovenous fistula failure after first radiologic intervention. *J. Vasc. Access.* 2016; 17 (2): 167–174. DOI: 10.5301/jva.5000459.
55. Saeed F., Kousar N., Sinnakirouchenan R., Ramalingam V.S., Johnson P.B., Holley J.L. Blood Loss through AV Fistula: A Case Report and Literature Review. *Int. J. Nephrol.* 2011; 2011: 350870. DOI: 10.4061/2011/350870.
56. Van Tricht I., De Wachter D., Tordoir J., Verdonck P. Hemodynamics and complications encountered with arteriovenous fistulas and grafts as vascular access for hemodialysis: a review. *Ann. Biomed. Eng.* 2005; 33 (9): 1142–1157.
57. Trerotola S.O., Stavropoulos S.W., Shlansky-Goldberg R., Tuite C.M., Kobrin S., Rudnick M.R. Hemodialysis-related venous stenosis: treatment with ultra-high-pressure angioplasty balloons. *Radiology.* 2004; 231 (1): 259–262.
58. Kouvelos G.N., Spanos K., Antoniou G.A., Vassilopoulos I., Karathanos C., Matsagkas M.I., Giannoukas A.D. Balloon Angioplasty Versus Stenting for the Treatment of Failing Arteriovenous Grafts: A Meta-Analysis. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2018; 55 (2): 249–256. DOI: 10.1016/j.ejvs.2017.11.011.
59. Trerotola S.O., Lawson J., Roy-Chaudhury P., Saad T.F. Lutonix AV Clinical Trial Investigators. Drug Coated Balloon Angioplasty in Failing AV Fistulas: A Randomized Controlled Trial. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2018; 13 (8): 1215–1224. DOI: 10.2215/CJN.14231217.
60. Fu N., Joachim E., Yevzlin A.S., Shin J.I., Astor B.C., Chan M.R. A Meta-analysis of Stent Placement vs. Angioplasty for Dialysis Vascular Access Stenosis. *Semin. Dial.* 2015; 28 (3): 311–317. DOI: 10.1111/sdi.12314.
61. Shemesh D., Goldin I., Zaghal I., Berlowitz D., Raveh D., Olsha O. Angioplasty with stent graft versus bare stent for recurrent cephalic arch stenosis in autogenous arteriovenous access for hemodialysis: a prospective randomized clinical trial. *J. Vasc. Surg.* 2008; 48 (6): 1524–1531, e1–2. DOI: 10.1016/j.jvs.2008.07.071.
62. Anaya-Ayala J.E., Smolock C.J., Colvard B.D., Naoum J.J., Bismuth J., Lumsden A.B., Davies M.G., Peden E.K. Efficacy of covered stent placement for central venous occlusive disease in hemodialysis patients. *J. Vasc. Surg.* 2011; 54 (3): 754–759. DOI: 10.1016/j.jvs.2011.03.260.
63. Kundu S., Modabber M., You J.M., Tam P., Nagai G., Ting R. Use of PTFE stent grafts for hemodialysis-related central venous occlusions: intermediate-term results. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* 2011; 34 (5): 949–957. DOI: 10.1007/s00270-010-0019-4.
64. Turmel-Rodrigues L., Bourquelot P., Raynaud A., Sapoval M. Primary stent placement in hemodialysis-related central venous stenoses: the dangers of a potential “radiologic dictatorship”. *Radiology.* 2000; 217 (2): 600–602.
65. Verstandig A.G., Berelowitz D., Zaghal I., Goldin I., Olsha O., Shamieh B., Shraibman V., Shemesh D. Stent grafts for central venous occlusive disease in patients with ipsilateral hemodialysis access. *J. Vasc. Interv. Radiol.* 2013; 24 (9): 1280–1287; quiz 1288. DOI: 10.1016/j.jvir.2013.04.016.
66. Abreo K., Sequeira A. Role of stents in hemodialysis vascular access. *J. Vasc. Access.* 2018; 19 (4): 341–345. DOI: 10.1177/1129729818761280.
67. Haskal Z.J., Trerotola S., Dolmatch B., Schuman E., Altman S., Mietling S., Berman S., McLennan G., Trimmer C., Ross J., Vesely T. Stent graft versus balloon angioplasty for failing dialysis-access grafts. *N. Engl. J. Med.* 2010; 362 (6): 494–503. DOI: 10.1056/NEJMoa0902045.
68. Haskal Z.J., Saad T.F., Hoggard J.G., Cooper R.I., Lipkowitz G.S., Gerges A., Ross J.R., Pflederer T.A., Mietling S.W. Prospective, Randomized, Concurrently-Controlled Study of a Stent Graft versus Balloon Angioplasty for Treatment of Arteriovenous Access Graft Stenosis: 2-Year Results of the RENOVA Study. *J. Vasc. Interv. Radiol.* 2016; 27 (8): 1105–1114. e3. DOI: 10.1016/j.jvir.2016.05.019.
69. Vesely T., DaVanzo W., Behrend T., Dwyer A., Aruny J. Balloon angioplasty versus Viabahn stent graft for treatment of failing or thrombosed prosthetic hemodialysis grafts. *J. Vasc. Surg.* 2016; 64 (5): 1400–1410. e1. DOI: 10.1016/j.jvs.2016.04.035.
70. Falk A., Maya I.D., Yevzlin A.S.; RESCUE Investigators. A Prospective, Randomized Study of an Expanded Polytetrafluoroethylene Stent Graft versus Balloon Angioplasty for In-Stent Restenosis in Arteriovenous Grafts

- and Fistulae: Two-Year Results of the RESCUE Study. *J. Vasc. Interv. Radiol.* 2016; 27 (10): 1465–1476. DOI: 10.1016/j.jvir.2016.06.014.
71. Tessitore N., Mansueto G., Bedogna V., Lipari G., Poli A., Gammaro L., Baggio E., Morana G., Loschiavo C., Laudon A., Oldrizzi L., Maschio G. A prospective controlled trial on effect of percutaneous transluminal angioplasty on functioning arteriovenous fistulae survival. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2003; 14 (6): 1623–1627.
72. Tessitore N., Bedogna V., Poli A., Lipari G., Pertile P., Baggio E., Contro A., Criscenti P., Mansueto G., Luo A. Should current criteria for detecting and repairing arteriovenous fistula stenosis be reconsidered? Interim analysis of a randomized controlled trial. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2014; 29 (1): 179–187. DOI: 10.1093/ndt/gft421.
73. Malik J., Slavikova M., Svobodova J., Tuka V. Regular ultrasonographic screening significantly prolongs patency of PTFE grafts. *Kidney Int.* 2005; 67 (4): 1554–1558.
74. Ravani P., Quinn R.R., Oliver M.J., Karsanji D.J., James M.T., MacRae J.M., Palmer S.C., Strippoli G.F. Pre-emptive correction for haemodialysis arteriovenous access stenosis. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016; (1): CD010709. DOI: 10.1002/14651858.CD010709.pub2.

Сведения об авторах

Карданахшвили Зураб Бесикиевиц, аспирант, кафедры трансплантологии, нефрологии и искусственных органов, МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, г. Москва.

Зулькарнаев Алексей Батыргараевич, д-р мед. наук, гл. науч. сотрудник, хирургическое отделение трансплантологии и диализа, МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, г. Москва. ORCID iD 0000-0001-5405-7887.

(✉) Зулькарнаев Алексей Батыргараевич, e-mail: 7059899@gmail.com.

Authors information

Kardanakhishvili Zurab B., Postgraduate Student, Department of Transplantology, Nephrology and Artificial Organs, Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow, Russian Federation.

Zulkarnaev Alexey B., DM, Principal Researcher, Surgical Department of Transplantation and Dialysis, Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-5405-7887.

(✉) Zulkarnaev Alexey B., e-mail: 7059899@gmail.com.

Поступила в редакцию 11.12.2018
Подписана в печать 11.06.2019

Received 11.12.2018
Accepted 11.06.2019

История развития криохирургии в Сибири

Мерзликин Н.В.¹, Комкова Т.Б.¹, Цхай В.Ф.¹, Сало В.Н.¹,
Навасардян В.Г.², Нороева Т.А.¹, Саруева А.П.¹

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

² Городская клиническая больница № 3 им. Б.И. Альперовича
Россия, 634045, г. Томск, ул. Нахимова, 3

РЕЗЮМЕ

В лекции освещается значение трудов профессора Бориса Ильича Альперовича и его учеников в создании уникальных криохирургических инструментов и разработке современных криохирургических операций на печени и поджелудочной железе. Используются документы, подтверждающие приоритет авторов в создании криоаппаратуры и методов криохирургического лечения заболеваний печени и поджелудочной железы.

Ключевые слова: криохирургия, криодеструктор, криоскальпель, печень, поджелудочная железа.

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Для цитирования: Мерзликин Н.В., Комкова Т.Б., Цхай В.Ф., Сало В.Н., Навасардян В.Г., Нороева Т.А., Саруева А.П. История развития криохирургии в Сибири. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 175–182. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-175-182>.

The history of the development of cryosurgery in Siberia

Merzlikin N.V.¹, Komkova T.B.¹, Tskhay V.F.¹, Salo V.N.¹,
Navasardyan V.G.², Noroeva T.A.¹, Sarueva A.P.¹

¹ Siberian State Medical University (SSMU)
2, Moscow Trakt, 634050, Tomsk, Russian Federation

² City Clinical Hospital № 3 named B.I. Alperovich
3, Nakhimov Str., 634045, Tomsk, Russian Federation

ABSTRACT

The purpose of this work was the need to highlight the significance of the works of Professor Boris I. Alperovich and his students in creating unique cryosurgical instruments and the development of modern cryosurgical operations on the liver and pancreas. The article used documents confirming the priority of the authors in the creation of cryotherapy equipment and methods of cryosurgical treatment of diseases of the liver and pancreas

Key words: cryosurgery, cryodestruction, cryoscalpel, liver, pancreas.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Source of financing. The authors state that there is no funding.

For citation: Merzlikin N.V., Komkova T.B., Tskhay V.F., Salo V.N., Navasardyan V.G., Noroeva T.A., Sarueva A.P. The history of the development of cryosurgery in Siberia. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 175–182. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-175-182>.

ВВЕДЕНИЕ

22 сентября 2019 г. исполнилось 92 года со дня рождения выдающегося хирурга, лауреата Государственной премии РФ, премии Правительства РФ, заслуженного врача РФ, доктора медицинских наук, профессора Бориса Ильича Альперовича (рис. 1).



Рис. 1. Профессор Борис Ильич Альперович

Fig. 1. Professor Boris I. Alperovich

Вся его жизнь была посвящена служению людям. И работая врачом районной больницы, и в качестве заведующего кафедрой, будучи известным хирургом в России и за рубежом, все свои силы, знания, опыт Б.И. Альперович отдавал пациентам. За 65 лет активной хирургической деятельности Борисом Ильичом были прооперированы сотни больных, которым мастерство хирурга Альперовича позволило восстановить здоровье, а некоторым спасти жизнь.

В своей трудовой деятельности Борис Ильич всегда руководствовался словами патриарха Тихона, которые ранее были обращены к В.Ф. Войно-Ясенецкому: «Медицину не оставляй, так как это дело богоугодное». Именно это изречение, подчеркивая, что работа хирурга – это «самая грязная работа и самое чистое дело», Б.И. Альперович адресовал своим ученикам – молодым хирургам.

Неоценим вклад Бориса Ильича в развитии абдоминальной хирургии, в частности хирургии печени и поджелудочной железы. Клинический материал Б.И. Альперовича, включающий результаты оперативного лечения сотен пациентов, до настоящего времени является одним из самых значительных и информативных в мире. Опыт хирургического лечения больных с очаговыми поражениями печени, оригинальные методики доступа при операциях на печени и непосредственно техника оперативного вмешательства являются руководством к практической деятельности как для молодых начинающих хирургов, так и для опытных специалистов, занимающихся хирургической гепатологией.

Особое место в научной и практической деятельности профессора Б.И. Альперовича в течение многих лет занимали разработка и внедрение в клиническую практику оригинальных, щадящих и в то же время эффективных методов криохирургического лечения заболеваний печени и поджелудочной железы. Именно благодаря работам Бориса Ильича и его учеников практическая хирургия имеет в настоящее время оригинальную криохирургическую аппаратуру, позволяющую осуществлять радикальные операции с применением сверхнизких температур при очаговом поражении печени и заболеваниях поджелудочной железы.

РАБОТЫ ПО СОЗДАНИЮ ПЕРВОГО КРИОДЕСТРУКТОРА

Как отмечал сам Б.И. Альперович, впервые идея работы с холодом и создания криоскальпеля возникла в 1971 г. после посещения XXXI Международного конгресса хирургов. На

одном из заседаний форума немецкий профессор Курт Штюкке представил фильм и доклад о криохирургии печени, а именно о применении криодеструкции узла альвеококка с помощью криодеструктора. Реализовать задуманное можно было только при помощи грамотных инженеров. Над созданием первой криохирургической аппаратуры для проведения операций на паренхиматозных органах начал работать инженер Сибирского физико-технического института (СФТИ) им. В.Д. Кузнецова (г. Томск) Геннадий Иванович Тюльков. Результаты экспериментов с применением первого криодеструктора, которые проводила ученица Б.И. Альперовича Люция Михайловна Парамонова, доказали чрезвычайную эффективность криовоздействия.

Разработанная оригинальная конструкция криодеструктора обеспечивала создание в рабочей части аппарата температуры -180 – (-196) °С, что позволяло достичь глубокой деструкции патологического очага без грубого разрушения окружающих тканей. Локально в зоне очага развивался асептический некроз с последующим замещением соединительной тканью. Очаг крионекроза соответствовал зоне замораживания и практически не распространялся на прилежащие участки. При создании криоаппаратуры для операций на печени и поджелудочной железе необходимо было учитывать анатомические особенности этих органов: глубину расположения, обильную васкуляризацию, наличие «опасных зон».

Для хирургических операций на печени было выбрано два направления при создании криоинструментов – для разрушения патологических очагов в органе и проведения резекций органа. Подача криоагента (жидкого азота) осуществлялась из криоустановки, принцип работы которой основан на подаче жидкого азота (температура $-195,8$ °С) из сосуда Дьюара под давлением 1,5 атм по гибкому азотопроводу к криоинstrumentу, а газожидкостная смесь выводилась наружу через второй азотопровод.

Разработанная оригинальная конструкция системы позволяла не только обеспечить температуру рабочей части криоинструмента в пределах -180 – (-196) °С, что крайне необходимо при работе с такими интенсивно васкуляризованными органами, как печень, но и использовать во время операции криодеструктор или криоскальпель в зависимости от интраоперационных находок.

В дальнейшем совместно с сотрудниками СФТИ им. В.Д. Кузнецова Б.И. Альперович и Л.М. Парамонова разработали криоскальпель. Однако в результате экспериментальных исследований

было установлено, что температура режущей части инструмента не опускалась ниже -80 °С, что не позволяло получить гемостатический эффект. Требовалось разработать такую конструкцию криоинструмента, которая оказывала бы гемостатическое действие при работе на печени и в то же время была удобна в работе. Результатом совместного творчества с инженерами СФТИ им. В.Д. Кузнецова стало создание криоультразвукового скальпеля.

СОЗДАНИЕ КРИОУЛЬТРАЗВУКОВОГО СКАЛЬПЕЛЯ

Особенностью работы криоультразвукового скальпеля является сочетание действия холодаагента (жидкого азота), обеспечивающего температуру режущей части в момент работы -110 °С, и ультразвуковых колебаний, которые включаются после выхода инструмента на рабочую температуру. Такая конструкция криоинструмента дает возможность получить эффект резания тканей в сочетании с гемостазом на капиллярном уровне, а ультразвуковые колебания позволяют избежать прилипания инструмента к паренхиме печени.

Положительные результаты апробации криоаппаратуры оригинальной конструкции и гистологических исследований сделали возможным применение новой технологии в клинической практике. Первая криорезекция левой доли печени по поводу посттравматической кисты была осуществлена 14 июня 1977 г., а 13 сентября 1978 г. у больного с осложненным альвеококком печени впервые была проведена криодеструкция полости паразита изнутри при температуре -196 °С и экспозиции 2,5 мин.

В 1980 г. было получено первое свидетельство (патент) на изобретение криоультразвукового скальпеля в России (Криоультразвуковой скальпель. Патент РФ № 825056 от 1980 г. Авторы: Б.И. Альперович, Л.М. Парамонова, Г.И. Тюльков, А.И. Парамонов), а в 1988 г. – первый зарубежный патент США. Этому предшествовала большая кропотливая работа в клинике и научных лабораториях, а также проведение показательных операций в г. Москве и США. В последующем на конструкцию этого криоинструмента получены патенты России, Канады, Великобритании, Польши, Венгрии, Италии, Швеции, Японии и ряда других стран.

Дальнейшая работа ученых была направлена на усовершенствование криоультразвукового скальпеля. Одним из значительных недостатков этого инструмента была громоздкая конструкция ручки, в которой располагался магнитостриктор

ультразвуковых колебаний. Кроме того, прикосновение лезвия скальпеля к печени вызывало образование ледяной корки на режущей кромке. В результате требовались дополнительные усилия для рассечения ткани печени путем увеличения ультразвуковых колебаний, что приводило к повышению теплопритока.

С целью ликвидации указанных недостатков авторы разделили воздействие ультразвука и холода – в пространстве и последовательно во времени. В новом криоультразвуковом скальпеле режущая часть изолирована от низкотемпературной. При движении режущей части рассекаемые ткани сначала подвергаются ультразвуковому воздействию, а затем действию низких температур. В результате на режущей кромке не образуется ледяная корка, уменьшается эффект прилипания ткани печени к лезвию, снижается на 25% кровопотеря, что доказано учеником Б.И. Альперовича Вадимом Николаевичем Сало с использованием гравиметрического метода и по электропроводности крови.

РАЗРАБОТКА КРИОВИБРОСКАЛЬПЕЛЯ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ В ОПЕРАЦИЯХ НА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ

В дальнейшем был создан криовиброскальпель, в котором ультразвуковые колебания не приводят к нагреванию инструмента. Особенностью работы криовиброскальпеля является включение источника колебаний после выхода лезвия на рабочую температуру.

Первый патент на конструкцию криовиброскальпеля был получен коллективом авторов в 1993 г. (Криовиброскальпель. Патент РФ № 1731190 от 23.03.1993 г. Авторы: Б.И. Альперович, А.М. Парамонова, А.И. Парамонов). В этом же году авторами криовиброскальпеля получен патент США (Криовиброскальпель. Патент США № 1731190. Авторы: Б.И. Альперович, А.М. Парамонова, А.И. Парамонов). Всего же на оригинальные конструкции криоаппаратуры коллектив авторов получил 24 российских патента и 21 зарубежный, в том числе США, Японии, Венгрии, Великобритании, Мексики, ФРГ, Канады, Италии, Польши и других стран.

С 1980 г. начались исследования по изучению влияния сверхнизких температур на ткань поджелудочной железы. Будучи в то время клиническим ординатором, в настоящее время заведующий кафедрой хирургических болезней с курсом травматологии и ортопедии СибГМУ, доктор медицинских наук, заслуженный врач РФ, лауреат

премии Правительства РФ Николай Васильевич Мерзликин в результате проведения ряда экспериментов доказал высокую эффективность применения криодеструкции поджелудочной железы при остром деструктивном панкреатите. Развитие асептического некроза в зоне замораживания при сохранении структуры сосудов, протоков, островкового аппарата, снижение при этом активности панкреатических ферментов прерывают воспалительный процесс в железе. После детального изучения результатов эксперимента, во время которого применялись разные параметры криовоздействия, а также на основании гистологического исследования биопсийного материала были определены наиболее оптимальные критерии временного и температурного воздействия.

Обнадеживающие результаты экспериментальных исследований позволили применить криодеструкцию поджелудочной железы при остром деструктивном панкреатите в клинических условиях. Первая такая операция проведена в марте 1982 г. Новый метод лечения способствовал снижению летальности при деструктивных формах острого панкреатита до 11,8%. В 1984 г. на этот способ оперативного вмешательства было получено авторское свидетельство на изобретение (Способ лечения острого деструктивного панкреатита. Свидетельство на изобретение РФ № 1113096 от 15.05.1984 г. Авторы: Б.И. Альперович, Н.В. Мерзликин, Г.И. Тюльков).

Параллельно Татьяной Борисовной Комковой проводилась экспериментальная работа по применению криодеструкции с целью купирования болевого синдрома при хронических заболеваниях поджелудочной железы. В результате исследования биопсийного материала было доказано, что под воздействием сверхнизких температур интрамуральные нервные окончания подвергаются дегенеративным и деструктивным изменениям, что дает возможность снизить интенсивность или полностью купировать болевой синдром. Были также обоснованы наиболее оптимальные параметры криовоздействия, которые позволили бы осуществить промораживание паренхимы поджелудочной железы на всю ее толщу с целью холодовой денервации.

Разработанный метод был успешно внедрен в клиническую практику при хроническом болевом, псевдоопухолевом панкреатитах и опухолях поджелудочной железы. В 1997 г. получено свидетельство на изобретение на способ лечения хронического панкреатита (Способ лечения хронического панкреатита. Патент РФ № 1344332 от 07.09.1987 г. Авторы: Б.И. Альперович с соавт.).

КРИОДЕСТРУКЦИЯ ПРИ ОРГАНОСОХРАНЯЮЩИХ И ПАЛЛИАТИВНЫХ ОПЕРАЦИЯХ НА ПЕЧЕНИ И ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ

Создание оригинальной криохирургической аппаратуры позволило разработать технику новых органосохраняющих и паллиативных операций при различной патологии печени и поджелудочной железы. Особо необходимо отметить использование криовоздействия при альвеококкозе печени. При возможности выполнения радикальной операции (резекция печени) криодеструкция культи по линии резекции осуществляется с целью профилактики рецидива заболевания. К сожалению, в большинстве случаев скрытое течение болезни приводит к тому, что на операционный стол пациенты попадают уже с массивным поражением паренхимы печени, вовлечением в процесс магистральных сосудистых и протоковых структур. Радикальные резекционные вмешательства, большие и предельно большие, с реконструкцией элементов ворот печени, нижней полой вены у них редко выполнимы. В этих случаях дополнение заведомо паллиативного вмешательства криодеструкцией позволяет добиться гибели большей части паразита и надеяться на клиническое выздоровление либо замедление прогрессирования процесса. В послеоперационном периоде рекомендуется длительная антипаразитарная терапия.

В настоящее время криооперации при альвеококкозе проводятся в следующих вариантах:

- резекция печени с помощью криовиброскальпеля и криоультразвукового скальпеля с последующей криодеструкцией ее культи;
- паллиативная резекция печени с криодеструкцией оставленной в зоне ворот пластинки паразитарной ткани толщиной 0,3–0,5 см;
- циторедукция паразитарного узла с марсупиализацией полости распада и криодеструкцией остающихся отделов паразитарной ткани;
- желчеотводящая операция с криодеструкцией зоны операционного воздействия;
- криодеструкция паразитарных узлов как самостоятельная операция.

При злокачественных новообразованиях печени резекция органа криоскальпелем с дополнительной криодеструкцией плоскости резекции значительно повышает абластичность операции за счет прямого воздействия на раковые клетки, критическая температура для которых составляет -60°C . Кроме того, возможна криодеструкция метастатических опухолей, замедляющая развитие их, уменьшающая интоксикацию.

Применение криоскальпеля при резекции печени по поводу гемангиом значительно уменьшает кровотечение из-за холода, ультразвука, вибрации. Криодеструкция гемангиом может быть использована как самостоятельный вид хирургического лечения.

Криодеструкция культи печени по линии резекции предупреждает рецидивы заболевания. При множественной локализации гемангиом резекцию больших новообразований можно сочетать с замораживанием остающихся мелких узлов. Обработка холодом при температуре -196°C изнутри фиброзной капсулы эхинококковых кист после эхинококкэктомии надежно предупреждает рецидив заболевания, поскольку зародышевые элементы погибают уже при температуре -80°C .

При описторхозных кистах, истинных непаразитарных кистах печени и поджелудочной железы криодеструкция внутренней эпителиальной выстилки позволяет достигнуть радикализма вмешательств. Нашло применение холода и при хронических гепатитах, циррозах печени класса А и В. Криовоздействие из нескольких точек паренхимы органа приводит к стимуляции регенеративных процессов, прерывает течение патологического процесса.

Все эти перечисленные вмешательства в клинике осуществляются из разрезов, предложенных Б.И. Альперовичем, Н.В. Мерзликиным и Л.М. Парамоновой, дающих хороший доступ к печени (рис. 2).

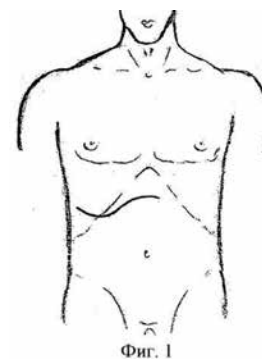


Рис. 2. Доступ Мерзликина – Парамоновой
Fig. 2. Access Merzlikin – Paramonova

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НИКЕЛИДА ТИТАНА В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ КРИОВОЗДЕЙСТВИЙ

Развитие и все более широкое использование в клинической практике эндоскопической техники оперативной терапии определило необходимость создания криоинструментов для проведения эндоскопических операций. Учениками и последователями Бориса Ильича Альперовича

были разработаны и внедрены в клиническую практику оригинальные крионаконечники из никелида титана, позволяющие осуществить криовоздействие на патологический очаг.

Разработанные конструкции дают возможность создать температуру рабочей части инструмента во время оперативного вмешательства -196°C , что является необходимым условием успешности при операциях на печени. Подтверждением приоритета работы коллектива в создании криоаппаратуры для эндоскопической хирургии явилось получение в 2011 г. патента на эндоскопический криоаппликатор.

Результаты экспериментальных исследований и клиническое применение оригинальной криохирургической аппаратуры показали, что наибольший интерес для получения максимального терапевтического эффекта при эндоскопических криооперациях вызывают пористо-проницаемый никелид титана и сплавы на его основе. Ряд уникальных свойств, таких как биологическая инертность, низкая теплопроводность, высокая теплоемкость, способность аккумулировать большое количество охлаждающей жидкости в пуровом пространстве, прогнозируемо менять свойства в зависимости от температуры и ряд других делают этот материал весьма перспективным для его использования в хирургии в качестве автономных криоинструментов.

На основе пористого и микропористого (диаметр пор от 500 нм до 500 мкм) никелида титана в НИИ медицинских материалов г. Томска под руководством В.Э. Гюнтера разработаны криоматериалы, криозонды, аккумулирующие холодагент внутри пористой структуры рабочего элемента с высокими емкостными свойствами и низкой теплопроводностью. Криоаппликаторы и криозонды обладают большой теплоемкостью, малой теплопроводностью и создают условия мгновенного воздействия на поверхность любой биологической ткани. Пористые рабочие элементы криоаппликаторов имеют различную форму и различную функциональную направленность, позволяющую использовать их в различных областях хирургии.

Криоинструменты из никелида титана, используемые в клинической практике с 2007 г., обладают рядом достоинств. Они могут быть подготовлены к работе в течение 1–2 мин, не требуют сложного ухода, замораживающий эффект при их применении не уступает традиционным методам криовоздействия, дают возможность использования при лапароскопических операциях и вмешательствах из минидоступа.

Специально для выполнения криовоздействия при лапароскопических операциях, а также для облегчения манипуляций в труднодоступных зонах печени при открытых вмешательствах был разработан и испытан эндоскопический криоаппликатор (Эндоскопический криоаппликатор. Патент на изобретение № 2462208 от 07.09.2011 г. Авторы: Н.В. Мерзликин, М.А. Максимов). В настоящее время он широко используется для гемостаза из ложа желчного пузыря при лапароскопических холецистэктомиях, фенестрации мелких кист и деструкции мелких гемангиом, обнаруженных во время операции, обработки стенок абсцессов печени. В 2013 г. за разработку криохирургических методов лечения заболеваний печени и поджелудочной железы Б.И. Альперович и Н.В. Мерзликин удостоены премии Правительства Российской Федерации в области науки и техники.

ЗНАЧЕНИЕ КРИОХИРУРГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ХИРУРГИИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ПЕЧЕНИ

Обобщая сказанное, можно еще раз остановиться на преимуществах криохирургического воздействия, благодаря чему оно прочно вошло в арсенал хирургии:

- Метод позволяет полностью разрушить заданный объем как на поверхности тела, так и в глубине органа.
- Очаг криодеструкции четко ограничен от окружающих тканей и обладает «биологической инертностью», вызывая лишь минимальную перифокальную реакцию.
- Снижение температуры ткани, в первую очередь нервной, позволяет временно блокировать нервную проводимость.
- Благодаря раннему разрушению чувствительных нервных окончаний, метод малоболезненный и, как правило, не требует предварительного обезболивания, что важно для ослабленных больных, амбулаторного применения и сокращения времени операции.
- Гемостатический эффект метода заключается в возможности бескровно производить разрезы в зоне замораживания, а также предупреждать диссеминацию злокачественных клеток.
- Возможна аутоиммунная реакция организма против выживших или рецидивных злокачественных клеток.
- Метод можно сочетать с лучевой терапией и обычными хирургическими воздействиями.
- Криодеструкция не вызывает грубых рубцовых процессов в очаге.

- Возможно проведение многократных повторных циклов воздействия.

- Криохирургический метод безопасен, прост в использовании.

Серьезных интра- и послеоперационных осложнений, связанных с применением криодеструкции, не отмечено. В редких случаях установлены короткие (3–5 дней) периоды гипертермии, которые обусловлены крионекрозом ткани.

Таким образом, экспериментальные исследования и результаты клинического применения криохирургических операций убедительно показали эффективность предлагаемых методов хирургического лечения ряда заболеваний печени и поджелудочной железы.

Коллектив учеников Бориса Ильича Альперовича под руководством Николая Васильевича Мерзликина в настоящее время не только активно применяет оригинальные криохирургические методики в лечении больных, но и продолжает плодотворную работу над созданием новых криохирургических инструментов и методик, которые позволят вернуть здоровье и продлить жизнь многим пациентам.

Список трудов

Альперович Б.И. Хирургия печени (избранные главы). Томск, 1983: 352.

Альперович Б.И., Парамонова Л.М., Мерзликин Н.В. Криохирurgia печени и поджелудочной железы. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1985.

Альперович Б.И., Бражникова Н.А., Ли А.Б. Хирургия осложнений описторхоза. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1990: 224.

Альперович Б.И., Мерзликин Н.В. Резекции печени при повторных операциях. Томск, 1992: 214.

Хирургия печени и желчных путей; под ред. Б.И. Альперовича. Томск: Сибирский гос. мед. университет, 1997: 608.

Альперович Б.И., Вишневский В.А., Шабунин А.В. Доброкачественные опухоли печени. Томск: Изд-во «Красное Знамя», 1998: 306.

Основы криохирургии печени и поджелудочной железы; под ред. Б.И. Альперовича. Томск: Печатная мануфактура, 2006: 232.

Альперович Б.И. Хирургия печени. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010: 352.

Альперович Б.И., Бражникова Н.А., Цхай В.Ф., Мерзликин Н.В. и др. Хирургические аспекты осложненного и сопутствующего хронического описторхоза. Томск: ТМЛ-Пресс, 2010: 360.

Руководство по хирургии очаговых паразитар-

ных заболеваний печени; под ред. Н.В. Мерзликина. Томск: Печатная мануфактура, 2014: 468.

Альперович Б.И., Мерзликин Н.В., Комкова Т.Б. и др.; под ред. Б.И. Альперовича. Криохирургические операции при заболеваниях печени и поджелудочной железы: руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015: 240.

Мерзликин Н.В., Бражникова Н.А., Цхай В.Ф. и др. Панкреатиты. Томск: ТМЛ-Пресс, 2011: 464.

Мерзликин Н.В., Бражникова Н.А., Цхай В.Ф. и др.; под ред. Н.В. Мерзликина. Панкреатит. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014: 528.

Альперович Б.И., Парамонова Л.М., Сало В.Н. Криоультразвуковые операции на печени. *Вестник хирургии*. 1990; 8: 124–126.

Альперович Б.И. Cryosurgery of live alveococcus. Basics of Cryosurgery. Wien – New York: Springer, 2001: 145–150.

Криохирургическое лечение хронических гепатитов и циррозов печени. *Сибирский журнал гастроэнтерологии и гепатологии*. 2003; 16–17: 122–124.

Альперович Б.И., Мерзликин Н.В., Сало В.Н. Применение низких температур в лечении кист печени. *Анналы хирургической гепатологии*. 2004; 9 (2): 70.

Альперович Б.И., Орлов А.В., Киселева Ю.В. Криодеструкция как метод лечения хронического гепатита и цирроза печени (экспериментальное исследование). *Анналы хирургической гепатологии*. 2005; 10 (3): 26–30.

Альперович Б.И., Мерзликин Н.В., Сало В.Н. Криохирurgia опухолей и паразитарных заболеваний печени. *Сибирский онкологический журнал*. 2006; 1: 36–39.

Комкова Т.Б., Альперович Б.И., Мерзликин Н.В. Криохирургическое лечение хронического болевого панкреатита: современные аспекты. *Бюллетень сибирской медицины*. 2012; 11 (4): 111–115.

Альперович Б.И. Криохирurgia заболеваний печени. *Бюллетень сибирской медицины*. 2006; 5 (1): 9–16.

Альперович Б.И., Зайцев И.С. Паллиативные резекции печени с применением криодеструкции у больных, повторно оперированных по поводу альвеококкоза. *Бюллетень сибирской медицины*. 2014; 13 (3): 25–31.

Мерзликин Н.В., Альперович Б.И., Сало В.Н., Клиновицкий И.Ю., Зайцев И.С., Лызко И.А., Саенко Д.С. Опыт использования низких температур в хирургии печени. *Высокотехнологическая медицина*. 2014; 1 (1): 35–39.

Сведения об авторах

Мерзликин Николай Васильевич, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой хирургических болезней с курсом травматологии и ортопедии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-5978-3685.

Комкова Татьяна Борисовна, д-р мед. наук, профессор, кафедра общей хирургии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0003-1622-2356.

Цхай Валентина Федоровна, д-р мед. наук, профессор, кафедра хирургических болезней с курсом травматологии и ортопедии, СибГМУ, г. Томск.

Сало Вадим Николаевич, д-р мед. наук, профессор, кафедра общей хирургии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-1933-927.

Навасардян Вреж Грачович, ординатор, отделение плановой хирургии, Городская клиническая больница № 3 им. Б.И. Альперовича, г. Томск.

Нороева Туяна Алексеевна, клинический ординатор, кафедра хирургических болезней с курсом травматологии и ортопедии, СибГМУ, г. Томск.

Саруева Анастасия Павловна, клинический ординатор, кафедра хирургических болезней с курсом травматологии и ортопедии, СибГМУ, г. Томск.

(✉) **Комкова Татьяна Борисовна**, e-mail: Komtat@sibmail.com.

Поступила в редакцию 22.04.2019

Подписана в печать 11.06.2019

Authors information

Merzlikin Nikolai V., DM, Professor, Chief of the Department of Surgical Diseases with a Course of Traumatology and Orthopedics, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-5978-3685.

Komkova Tatyana B., DM, Professor, Department of General, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-1622-2356.

Tskhay Valentina F., DM, Professor, Department of Surgical Diseases with a Course of Traumatology and Orthopedics, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Salo Vadim N., DM, Professor, Department of Surgical Diseases with a Course of Traumatology and Orthopedics, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-1933-927x.

Navasardyan Vrezh G., Ordinator, Department of Planned Surgery, City Clinical Hospital № 3 named B.I. Alperovich, Tomsk, Russian Federation.

Noroeva Tuyana A., Resident, Department of Surgical Diseases with a course of Traumatology and Orthopedics, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Sarueva Anastasia P., Resident, Department of Surgical Diseases with a course of Traumatology and Orthopedics, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

(✉) **Komkova Tatyana B.**, e-mail: Komtat@sibmail.com.

Received 22.04.2019

Accepted 11.06.2019

Бронхиальная астма и ожирение у детей: что мы знаем?

Новик Г.А.¹, Халева Е.Г.¹, Макарова С.Г.^{2,3}, Жданова М.В.¹

¹ Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет (СПбГПМУ)
Россия, 194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2

² Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей (НМЦЗД)
Россия, 119991, г. Москва, Ломоносовский проспект, 2/1

³ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова
(РНИМУ им. Н.И. Пирогова)
Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1

РЕЗЮМЕ

Результаты большого количества исследований указывают на взаимосвязь ожирения и бронхиальной астмы у детей. В обзоре рассмотрены механизмы развития «тучной астмы»: анатомические изменения дыхательных путей, системное воспаление, продукция адипокинов, нарушение метаболизма глюкозы и инсулина, генетические и эпигенетические факторы, изменения в микробиоме дыхательных путей и (или) кишечника. Показано, что пациенты с «тучной астмой» отличаются более тяжелым течением болезни, низким качеством жизни и снижением ответа на противоастматическую терапию. Снижение массы тела у детей с астмой может привести к улучшению самочувствия пациентов, но данные об эффективности терапевтических вмешательств у таких детей ограничены.

Ключевые слова: дети, подростки, бронхиальная астма, ожирение, физическая активность, питание.

Конфликт интересов. Новик Г.А. читал лекции для компаний Novartis, MSD, Nestle, Nutricia Advance, Friso. Макарова С.Г. является научным консультантом компании Nutricia. Халева Е.Г. и Жданова М.В. декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Для цитирования: Новик Г.А., Халева Е.Г., Макарова С.Г., Жданова М.В. Бронхиальная астма и ожирение у детей: что мы знаем?. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 183–191. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-183-191>.

Asthma and obesity in children: what do we know?

Novik G.A.¹, Khaleva E.G.¹, Makarova S.G.^{2,3}, Zhdanova M.V.¹

¹ St. Petersburg State Pediatric Medical University
2, Litovskaya Str., Saint-Petersburg, 194100, Russian Federation

² *National Medical Research Center for Children's Health (NMRCCH)
2/1, Lomonosov Av., Moscow, 119991, Russian Federation*

³ *Pirogov Russian National Research Medical University (RNRMU)
1, Ostrovitianov Str., Moscow, 117997, Russian Federation*

ABSTRACT

The results of a large number of studies indicate the relationship of obesity and bronchial asthma in children. The review highlights the mechanisms of development of the so-called obese asthma: morphological changes in the respiratory tract, systemic inflammation, adipokine production, impaired glucose and insulin metabolism, genetic and epigenetic factors, changes in the microbiome of the respiratory tract and (or) intestines. The relationship of asthma and obesity can have both a genetic basis and can occur under the influence of a complex of pathogenic factors, and they can be especially important at the "early programming" stage. Obesity increases the risk of asthma development, and in patients with existing asthma due to a number of mechanisms it increases the severity or makes it difficult to achieve control of asthma. Studies showed that patients with obese asthma are distinguished by a more severe course of the disease, poor quality of life and a decreased response to therapy for asthma. Weight loss in children with asthma can lead to an improved well-being of patients, but data on the effectiveness of therapeutic interventions in these children is limited. Comorbidity of asthma and obesity is a complex multifactorial phenotype in children, which requires further study. Being overweight or obese needs to be taken into account as part of asthma treatment in this category of patients.

Key words: children, adolescents, bronchial asthma, obesity, physical activity, nutrition.

Conflict of interest. Novik G.A. lectured for Novartis, MSD, Nestle, Nutricia Advance and Friso. Makarova S.G. is a scientific advisor to Nutricia. Haleva E.G. and Zhdanova M.V. declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

For citation: Novik G.A., Khaleva E.G., Makarova S.G., Zhdanova M.V. Asthma and obesity in children: what do we know?. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 183–191. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-183-191>.

ВВЕДЕНИЕ

Результаты эпидемиологических исследований свидетельствуют о росте распространенности бронхиальной астмы (БА) в мире. Согласно отчету Глобальной сети астмы (The Global Asthma Network), в настоящее время около 334 млн человек страдают данным заболеванием, 14% из них – дети [1]. По данным III фазы международного исследования БА и аллергии детского возраста (International Study of Asthma and Allergies in Childhood, ISAAC), распространенность симптомов БА у детей дошкольного возраста составила 11,1%; у детей 6–7 лет – 11,6%; среди подростков 13–14 лет – 13,2–13,7% [2]. В российском исследовании, проведенном в 2008–2009 гг. в двух клинических центрах (г. Москва и г. Томск), согласно опроснику GA2LEN (Global Allergy and Asthma European Network – Глобальная сеть по аллергии и астме в Европе), было показано, что среди подростков 15–17 лет установленный диагноз имели 7,1%, симптомы БА встречались у 19,9% [3]. Из

числа последних диагнозов БА был верифицирован у каждого четвертого (5,1%) подростка, что почти в 2 раза превышает данные официальной статистики распространенности БА [3]. Эти данные показывают важность своевременной диагностики астмы, а также контроль факторов, которые повышают риск формирования и тяжелого течения БА [4].

Целью настоящего обзора является анализ результатов исследований, посвященных коморбидности астмы и ожирения у детей, или «тучной астме» (obese asthma). Также мы приводим анализ научных данных, подтверждающих связь между ожирением и астмой, и механизмов, которые могут привести к сочетанию этой патологии.

БРОНХИАЛЬНАЯ АСТМА И ОЖИРЕНИЕ КАК СОЧЕТАННАЯ ПАТОЛОГИЯ У ДЕТЕЙ

Связь между избыточной массой тела и БА, по всей видимости, имеет двусторонний характер. Так, в отечественном исследовании определяли

показатели физического развития 279 подростков в дискретные периоды жизни (10, 14 и 17 лет): 120 подростков основной группы (детей с БА) сравнивали с 159 подростками без хронических заболеваний органов дыхания аналогичного возраста [5]. Было показано, что, по сравнению с контрольной группой, среди пациентов с БА (в 10 лет для девушек и в 17 лет для юношей) чаще встречались избыточная масса тела и ожирение [5]. В другом исследовании при обследовании 46 детей с ожирением в возрасте от 7 до 16 лет оценивали спирограмму и силу респираторной мускулатуры по параметрам максимального инспираторного давления на уровне ротовой полости (MIP), максимального экспираторного давления на уровне ротовой полости (MEP) и назального инспираторного давления в тесте на дыхание (sniff-тест). Было показано, что у детей с ожирением и наличием жалоб на одышку отмечалась дисфункция дыхательной мускулатуры, у 44% имелось снижение силы дыхательной мускулатуры (до 80% от норматива) по показателю MIP и 38% – по MEP. Авторы пришли к выводу, что мониторинг состояния функции внешнего дыхания и оценка силы дыхательной мускулатуры у детей с ожирением способствуют раннему выявлению у них нарушений функции дыхательной системы [6].

Еще в одном исследовании оценивалась эффективность лечебной программы по ведению детей с бронхиальной астмой на фоне сопутствующего ожирения, в течение которой проводился подбор противовоспалительной терапии и диеты для снижения массы тела, а также обучение в астма-школе. Реабилитационная программа была проведена 76 детям, и через год у 67% из них отмечалась нормализация массы тела и прирост показателей функции внешнего дыхания (в частности, ОФВ₁), который составил в среднем 28% в сравнении с 20% в контрольной группе, где применялась лишь одна противовоспалительная терапия.

Таким образом, результаты проведенного исследования показали высокую эффективность реабилитационной программы, направленной, в том числе, на снижение массы тела у детей с БА и ожирением на фоне базисной терапии [7]. Недавно был опубликован метаанализ, в который были включены результаты шести проспективных когортных исследований влияния массы тела на риск развития астмы. Данный метаанализ показал, что у детей с ожирением существует в 2 раза выше риск развития астмы по сравнению с детьми с нормальной массой тела. Это свидетельствует о том, что ожирение является одним из факторов риска развития астмы у детей [8].

Сочетание астмы с ожирением у ребенка приводит к утяжелению течения заболевания. Так, среди детей с астмой ожирение приводит к учащению ее симптомов, ухудшению контроля [9–11], более частым или тяжелым обострениям [12–14], уменьшению ответа на ингаляционные кортикостероиды [15] и более низкому качеству жизни [16]. При анализе 100 тыс. госпитализаций во время обострения астмы у детей, наличие ожирения было ассоциировано с более высокой частотой применения искусственной вентиляции легких и длительным периодом пребывания в стационаре [13].

В метаанализе 14 исследований, охватывающих более 108 тыс. участников (матери и их дети), ожирение у матерей, а также избыточная масса тела у 21–31% матерей во время беременности были связаны с более высоким (на 16%) риском развития астмы у их детей [17]. Аналогичные результаты были представлены в исследовании, в котором приняли участие 13 тыс. матерей с избыточной массой тела (ожирением) до беременности. Избыточная масса тела (ожирение) привела к увеличению вероятности возникновения астмы у детей на 19–34% [18]. В этом исследовании было показано, что у мальчиков чаще возникала неатопическая астма, девочек – atopическая.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Получены данные о возможной генетической предрасположенности к коморбидности астмы и ожирения. Так, в большом исследовании, включавшем более 23 тыс. детей, только DENND1B (домен DENN, содержащий 1B) был связан как с индексом массы тела, так и с астмой [19]. Исследования также показали взаимосвязь между ожирением и генами, влияющими на астму, включая ген, контролирующий трансмембранную передачу сигнала – *PRKCA* (протеинкиназа C альфа), и ген *ADRB3* (адренергический рецептор бета 3), расположенный главным образом в жировой ткани и участвующий в регуляции липолиза в адипоцитах [20, 21].

Сочетание астмы с ожирением также может быть вызвано и эпигенетическими механизмами. Недавнее исследование выявило значительные изменения метилирования ДНК в мононуклеарных клетках периферической крови у детей с ожирением и астмой [22]. Немаловажно значение может иметь фактор питания – в исследовании на мышах, а также с участием людей было показано, что активность гена *CHI3L1* (хитиназа 3-подобный белок 1 – один из белков, участвующих

в воспалении) может быть индуцирована диетой с высоким содержанием жиров, что влияет на центральное ожирение и симптомы астмы [23].

ДИЕТА И ПИЩЕВЫЕ ВЕЩЕСТВА

Питание имеет немаловажное значение как в развитии бронхиальной астмы, так и ожирения, причем ключевое значение, возможно, имеет именно «раннее программирование» – комплекс факторов, влияющий на развитие ребенка в первые месяцы жизни [24–26]. Дети, находящиеся на грудном вскармливании [27, 28], а в дальнейшем – на «средиземноморской» диете [29, 30], отличаются более низким риском развития как ожирения, так и астмы. В одном исследовании было показано, что диета, богатая сладкими и молочными продуктами, была связана с повышенным риском развития астмы (с более высоким уровнем интерлейкина 17F в сыворотке), тогда как частое потребление овощей и злаков было связано с более низким риском формирования астмы [31]. Есть данные, что немаловажную роль во влиянии пищевых привычек на развитие как астмы, так и ожирения может иметь влияние на иммунную систему поздних продуктов гликозилирования, образующихся при реакции белков и углеводов под действием высоких температур. При этом ключевое значение имеет количество их, поступающих с пищей [32–34]. У пациентов с астмой употребление продуктов с высоким содержанием жира может привести к нейтрофильному воспалению дыхательных путей и снижению бронходилатационного эффекта лекарственных средств [35]. Снижение обеспеченности витамином D может иметь значение в формировании как ожирения, так и астмы [36, 37]. По данным L.A. Lautenbacher и соавт., недостаточная обеспеченность витамином D коррелирует с низкими функциональными показателями легких у детей с астмой и ожирением, но не у детей с нормальной массой тела [38]. Известно также о влиянии достаточной обеспеченности омега-3 жирными кислотами на иммунные функции, что позволяет им оказывать как профилактическое действие в отношении астмы, так и повышать эффективность ее комплексной терапии [39–41].

ВОСПАЛЕНИЕ

На сегодняшний день недостаточно сведений о влиянии ожирения на атопическое воспаление, но в публикации, основанной на данных Национального исследования состояния здоровья и питания в США (NHANES), ожирение ассоциировалось только с астмой у подростков без эо-

зинофильного воспаления дыхательных путей. Однако ожирение было также связано и с повышением тяжести астмы у детей с астмой и эозинофильным воспалением дыхательных путей [42]. Эти результаты показывают, что ожирение предрасполагает к неатопической астме, в также утяжеляет течение заболевания у детей с атопической астмой.

МИКРОБИОМ

Состояние микробиоты является одним из ключевых факторов здоровья человека. Особенно важно ее влияние в периоде «раннего программирования», в том числе и показана его роль на самых ранних этапах онтогенеза в формировании аллергической патологии у ребенка в дальнейшем [43–45]. Воздействие антибиотиков в раннем возрасте ассоциируется с астмой и ожирением [46, 47]. Изменения в микробиоме носа или дыхательных путей также были описаны при астме [48]. Аналогичным образом изменения в микробиоме кишечника влияют на патогенез ожирения и атопических заболеваний (в том числе астмы) [49–51]. Было показано, что пробиотические добавки снижают риск развития атопии, но не астмы [52]. Несколько факторов, связанных с астмой, включая проживание в городской среде, диета, кесарево сечение или частое использование антибиотиков, могут быть связаны с микробиомом и у некоторых детей – с ожирением. Однако для совершенствования терапевтических подходов у детей с ожирением и астмой с учетом их микробиома необходимы дальнейшие исследования в этой области [53].

ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СИНДРОМ

Инсулинорезистентность и метаболический синдром были ассоциированы со снижением функциональных показателей легких у подростков с астмой или без, но эффект был более выражен среди пациентов с астмой (ОФВ1 / ФЖЕЛ на 10% ниже, чем у здоровых подростков) [54]. Позднее было показано, что ожирение связано с гиперчувствительностью дыхательных путей у детей с астмой и инсулинорезистентностью, но не у пациентов с астмой и без инсулинорезистентности [55]. Потенциальные механизмы влияния резистентности к инсулину на развитие и течение астмы включают дисбаланс Th1–Th2 иммунного ответа, повышенную аллергическую сенсibilизацию, оксидативный стресс, дисфункцию гладких мышц дыхательных путей, пролиферацию фибробластов и повреждение эпителия дыхательных путей [56–60].

Кроме того, иммуномодулирующие эффекты ожирения, опосредованные через адипокины, включая лептин, также лежат в основе астмы у детей с ожирением [61, 62]. Не у всех детей с ожирением развивается астма, но инсулинорезистентность и дислипидемия могут играть определенную роль в более высокой предрасположенности к астме у детей с избыточной массой тела и ожирением. Так, в нескольких исследованиях была показана ассоциация дислипидемии и астмы вне зависимости от наличия ожирения [63–65]. В настоящее время очевидно, что фенотип пациентов с астмой и ожирением, или «тучная астма», требует дальнейшего изучения для оптимизации профилактических и терапевтических подходов [66].

ФИЗИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Снижение физической активности является одним из ведущих факторов, приводящих к избыточной массе тела и ожирения у детей [67, 68]. Во многом это связано с увеличением использования электронных гаджетов, просмотра телевидения и видеоигр, что привело к сокращению времени для игр на открытом воздухе [54, 69, 70]. Показано, что количество часов, проведенных за просмотром телевизора и компьютерными играми, напрямую коррелирует с заболеваемостью и распространенностью астмы среди детей [71–73]. В результате сидячий образ жизни и снижение физической активности приводят к ожирению и тем самым предрасполагают к астме у детей [74, 75].

ЛЕЧЕНИЕ ОЖИРЕНИЯ У ДЕТЕЙ С АСТМОЙ

В исследовании с участием 28 детей с ожирением и астмой, снижение массы тела на фоне диетотерапии привело к улучшению контроля над астмой и снижению уровня С-реактивного белка [76]. Аналогичным образом в исследовании, в которое было включено 20 детей с астмой и избыточной массой тела (ожирением), снижение массы тела за счет использования диеты сопровождалось уменьшением эпизодов бронхоспазма, вызванного физической нагрузкой, при этом снижение z-score индекса массы тела имело значимую корреляцию ($r = 0,53$) с уменьшением процентного снижения ОФВ1 у детей на фоне нагрузки [77].

В рандомизированном контролируемом исследовании (РКИ) детей с астмой и ожирением (43 ребенка основной группы и 44 – контрольной группы) у детей основной группы использовались диетотерапия и дополнительные физические упражнения, в отличие от детей контрольной

группы. Уровень контроля астмы, качество жизни, форсированная жизненная емкость легких к окончанию исследования были выше в основной группе [78]. В другом РКИ 51 подросток с астмой получал нормокалорийную диету, которая привела к снижению индекса массы тела, улучшению качества жизни и снижению частоты обострений астмы [79]. Несмотря на то, что эти результаты многообещающие, необходимы более крупные РКИ для дальнейшего изучения влияния потери массы тела на течение астмы у детей с избыточной массой тела и ожирением.

Таким образом, взаимосвязь «ожирение – астма» и «астма – ожирение» осуществляется с участием целого ряда патогенетических механизмов, действие которых становится более понятным, если рассматривать обе патологии с позиций «раннего программирования». На рисунке приведены основные причинно-следственные связи между ожирением и астмой, а также механизмы, лежащие в их основе.

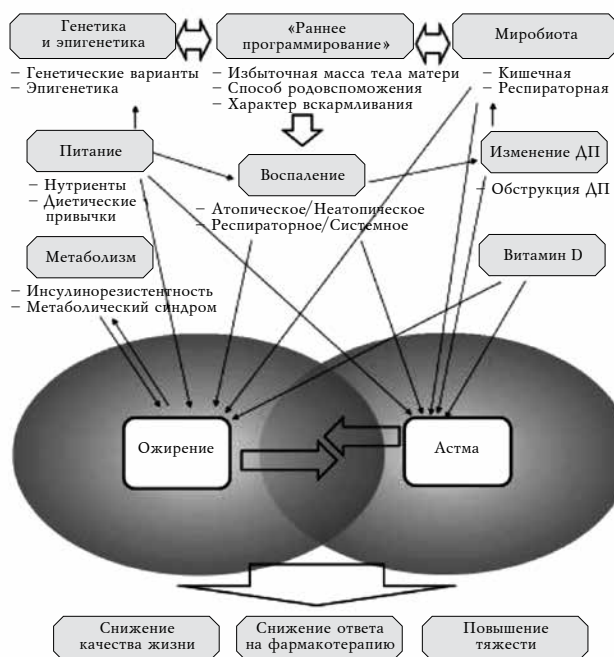


Рисунок. Причинно-следственные связи между ожирением и астмой и факторы патогенеза. ДП – дыхательные пути, НЖК – ненасыщенные жирные кислоты (Новик Г.А. и др., 2018)

Figure. Cause-effect relations between obesity and asthma and pathogenesis factors. RT – respiratory tract, UFC – unsaturated fatty acids (Novik G.A. et al., 2018)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Взаимосвязь астмы и ожирения может иметь как генетическую основу, так и возникать под воздействием комплекса патогенетических фак-

торов, при этом существенное значение они могут иметь на этапе «раннего программирования». Ожирение увеличивает риск развития астмы, а при уже имеющейся астме усиливает тяжесть течения или затрудняет достижение контроля астмы, что осуществляется с участием целого ряда механизмов. Коморбидность астмы и ожирения представляет собой сложный многофакторный фенотип у детей, который требует дальнейшего изучения. Важно, чтобы наличие избыточной массы тела или ожирения было принято во внимание как часть лечения астмы у этой категории пациентов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. The Global Asthma Report 2014. URL: <http://www.globalasthmareport.org/burden/burden.php>.
2. Pearce N., Ant-Khaled N., Beasley R., Mallol J., Keil U., Mitchell E. et al. Worldwide trends in the prevalence of asthma symptoms: phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Thorax*. 2007; 62 (9): 758–766.
3. Намазова-Баранова Л.С., Огородова Л.М., Томилова А.Ю., Деев И.А., Алексеева А.А., Вишнева Е.А., Громов И.А., Евдокимова Т.А., Камалтынова Е.М., Коломеев И.А., Торшхоева Р.М. Распространенность астмаподобных симптомов и диагностированной астмы в популяции подростков. *Педиатрическая фармакология*. 2009; 6 (3): 59–55. [Namazova-Baranova L.S., Ogorodova L.M., Tomilova A.Yu., Deev I.A., Alekseeva A.A., Vishneva E.A., Gromov I.A., Evdokimova T.A., Kamaltynova E.M., Kolomeets I.L., Torshkhoeva R.M. Prevalence of asthma-like symptoms and diagnosed asthma in the population of adolescents. *Pediatric Pharmacology*. 2009; 6 (3): 59–65 (in Russ.)].
4. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Хаитов Р.М., Ильина Н.И., Курбачева О.М., Новик Г.А., Петровский Ф.И., Вишнева Е.А., Алексеева А.А., Селимзянова Л.Р. Клинические рекомендации. Бронхиальная астма у детей. М., 2016: 65. [Baranov A.A., Namazova-Baranova L.S., Haitov R.M., Il'ina N.I., Kurbacheva O.M., Novik G.A., Petrovskij F.I., Vishneva E.A., Alekseeva A.A., Selimzyanova L.R. Clinical guidelines: asthma in children. Moscow, 2016: 65 (in Russ.)].
5. Трунцова Е.С. Физическое развитие подростков с бронхиальной астмой. *Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке*. 2016; 18 (5): 35–40. [Truntsova E.S. Anthropometric measurements of adolescents with asthma. *Journal of Scientific Articles Health and Millennium Education*. 2016; 18 (5): 35–40 (in Russ.)].
6. Фурман Е.Г., Ярулина А.М., Софронова Л.В. Состояние функции внешнего дыхания и дыхательной мускулатуры у детей с ожирением. *Педиатрическая фармакология*. 2015; 12 (2): 143–147. [Furman E.G., Yarulina A.M., Sofronova L.V. Lung function and respiratory muscle strength in obese in children. *Pediatric Pharmacology*. 2015; 12 (2): 143–147 (in Russ.)]. DOI: 10.15690/pf.v12i2/1276.
7. Уразова С.Н., Галимгожина Н.И., Карпова Р.К., Иванова Н.Д., Шакинова Г.К., Смаилова К.И. Лечебная программа по ведению детей с бронхиальной астмой и ожирением. *Медицинский журнал Западного Казахстана*. 2012; 3 (35): 251. [Urazova S.N., Galimgozhina N.I., Karpova R.K., Ivanova N.D., Shakenova G.K., Smailova K.I. Treatment algorithm for the management of children with asthma and obesity. *Medical Journal of West Kazakhstan*. 2012; 3 (35): 251 (in Russ.)].
8. Chen Y.C., Dong G.H., Lin K.C., Lee Y.L. Gender difference of childhood overweight and obesity in predicting the risk of incident asthma: a systematic review and meta-analysis. *Obes. Rev.* 2013; 14 (3): 222–231. DOI: 10.1111/j.1467-789X.2012.01055.x.
9. Forno E., Celedyn J.C. The effect of obesity, weight gain, and weight loss on asthma inception and control. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2017 Apr.; 17 (2): 123–130. DOI: 10.1097/ACI.0000000000000339.
10. Borrell L.N., Nguyen E.A., Roth L.A. et al. Childhood obesity and asthma control in the GALA II and SAGE II studies. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2013; 187 (7): 697–702. DOI: 10.1164/rccm.201211-2116OC.
11. Ahmadizar F., Vijverberg S.J., Arets H.G. et al. Childhood obesity in relation to poor asthma control and exacerbation: a meta-analysis. *Eur. Respir. J.* 2016; 48 (4): 1063–1073. DOI: 10.1183/13993003.00766-2016.
12. Denlinger L.C., Phillips B.R., Ramratnam S. et al. Inflammatory and comorbid features of patients with severe asthma and frequent exacerbations. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2017; 195 (3): 302–313. DOI: 10.1164/rccm.201602-0419OC.
13. Okubo Y., Nochioka K., Hataya H. et al. Burden of obesity on pediatric in patients with acute asthma exacerbation in the United States. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* 2016; 4: 1227–1231. DOI: 10.1016/j.jaip.2016.06.004.
14. Aragona E., El-Magbri E., Wang J. et al. Impact of obesity on clinical outcomes in urban children hospitalized for status asthmaticus. *Hosp. Pediatr.* 2016; 6 (4): 211–218. DOI: 10.1542/hpeds.2015-0094.
15. Forno E., Lescher R., Strunk R. et al. Decreased response to inhaled steroids in overweight and obese asthmatic children. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011; 127 (3): 741–749. DOI: 10.1016/j.jaci.2010.12.010.
16. van Gent R., van der Ent C.K., Rovers M.M. et al. Excessive body weight is associated with additional loss of quality of life in children with asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2007; 119 (3): 591–596. DOI: 10.1016/j.jaci.2006.11.007.
17. Forno E., Young O.M., Kumar R. et al. Maternal obesity in pregnancy, gestational weight gain, and risk of childhood asthma. *Pediatrics*. 2014; 134 (2): e535–546. DOI: 10.1542/peds.2014-0439.
18. Dumas O., Varraso R., Gillman M.W. et al. Longitudinal study of maternal body mass index, gestational weight

- gain, and offspring asthma. *Allergy*. 2016; 71 (9): 1295–1304. DOI: 10.1111/all.12876.
19. Melen E., Granell R., Kogevinas M. et al. Genome-wide association study of body mass index in 23 000 individuals with and without asthma. *Clin. Exp. Allergy*. 2013; 43 (4): 463–474. DOI: 10.1111/cea.12054.
 20. Murphy A., Tantisira K.G., Soto-Quiros M.E. et al. PRK-CA: a positional candidate gene for body mass index and asthma. *Am. J. Hum. Genet.* 2009; 85 (1): 87–96. DOI: 10.1016/j.ajhg.2009.06.011.
 21. Kuo N.W., Tung K.Y., Tsai C.H. et al. Beta3-Adrenergic receptor gene modifies the association between childhood obesity and asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2014; 134 (3): 731–733. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.03.018.
 22. Rastogi D., Suzuki M., Grealley J.M. Differential epigenome-wide DNA methylation patterns in childhood obesity-associated asthma. *Sci. Rep.* 2013; 3: 2164. DOI: 10.1038/srep02164.
 23. Ahangari F., Sood A., Ma B. et al. Chitinase 3-like-1 regulates both visceral fat accumulation and asthma-like Th2 inflammation. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2015; 191 (7): 746–757. DOI: 10.1164/rccm.201405-0796OC.
 24. Нетребенко О.К., Украинцев С.Е. Что может грудное молоко и чего не могут смеси: от ингредиентов к пониманию долгосрочных эффектов. *Педиатрия. Журнал имени Г.Н. Спеланского*. 2017; 96 (3): 151–158. [Netrebko O.K., Ukraintsev S.E. What breast milk can and what mixtures cannot: from ingredients to understanding long-term effects. *Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky*. 2017; 96 (3): 144–151 (in Russ.)]. DOI: 10.24110/0031-403X-2017-96-3-144-151.
 25. Langley-Evans S.C. Nutrition in early life and the programming of adult disease: a review. *J. Hum. Nutr. Diet.* 2015; 1: 1–14. DOI: 10.1111/jhn.12212.
 26. Vickers M.H. Early life nutrition, epigenetics and programming of later life disease. *Nutrients*. 2014; 6 (6): 2165–2178. DOI: 10.3390/nu6062165.
 27. Dogaru C.M., Nyffenegger D., Pescatore A.M. et al. Breastfeeding and childhood asthma: systematic review and meta-analysis. *Am. J. Epidemiol.* 2014; 179 (10): 1153–1167. DOI: 10.1093/aje/kwu072.
 28. Yan J., Liu L., Zhu Y. et al. The association between breastfeeding and childhood obesity: a meta-analysis. *BMC Public Health*. 2014; 14: 1267. DOI: 10.1186/1471-2458-14-1267.
 29. Rice J.L., Romero K.M., Galvez Davila R.M. et al. Association between adherence to the Mediterranean diet and asthma in peruvian children. *Lung*. 2015; 193: 893–899. DOI: 10.1007/s00408-015-9792-9.
 30. Lv N., Xiao L., Ma J. Dietary pattern and asthma: a systematic review and metaanalysis. *J. Asthma Allergy*. 2014; 7: 105–121. DOI: 10.2147/JAA.S49960.
 31. Han Y.Y., Forno E., Brehm J. et al. Diet, interleukin-17, and childhood asthma in Puerto Ricans. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2015; 115: 288–293. e1. DOI: 10.1016/j.anai.2015.07.020.
 32. Dumitriu I.E. et al. Release of high mobility group ox 1 by dendritic cells controls T cell activation via the receptor for advanced glycation end products. *The Journal of Immunology*. 2005; 174 (2): 7506–7515.
 33. Milutinovic P.S. et al. The receptor for advanced glycation end products is a central mediator of asthma pathogenesis. *Am. J. Pathol.* 2012; 181 (4): 1215–1225. DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.06.031.
 34. De Christopher L.R., Uribarri J., Tucker K.L. Intakes of apple juice, fruit drinks and soda are associated with prevalent asthma in US children aged 2–9 years. *Public Health Nutrition*. 2016; 19 (1): 123–130. DOI: 10.1017/S1368980015000865.
 35. Wood L.G., Garg M.L., Gibson P.G. A high-fat challenge increases airway inflammation and impairs bronchodilator recovery in asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2011; 127 (5): 1133–1140. DOI: 10.1016/j.jaci.2011.01.036.
 36. Vo P., Bair-Merritt M., Camargo C.A. The potential role of vitamin D in the link between obesity and asthma severity/control in children. *Expert Rev. Respir. Med.* 2015; 9 (3): 309–325. DOI: 10.1586/17476348.2015.1042457.
 37. Hornsby E., Pfeffer P.E., Laranjo N., Cruikshank W., Tuzova M., Litonjua A.A., Weiss S.T., Carey V.J., O'Connor G., Hawrylowicz C. Vitamin D supplementation during pregnancy: Effect on the neonatal immune system in a randomized controlled trial. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2018; 141 (1): 269–278. e1. DOI: 10.1016/j.jaci.2017.02.039.
 38. Lautenbacher L.A., Jariwala S.P., Markowitz M.E., Rastogi D. Vitamin D and pulmonary function in obese asthmatic children. *Pediatr. Pulmonol.* 2016; 51 (12): 1276–1283. DOI: 10.1002/ppul.23485.
 39. Макарова С.Г., Вишнева Е.А. Длинноцепочечные полинасыщенные жирные кислоты классов ω -3 и ω -6 как эссенциальный нутриент в разные периоды детства. *Педиатрическая фармакология*. 2013; 10 (4): 80–88. [Makarova S.G., Vishneva E.A., Long-chain polyunsaturated fatty acids of ω -3 and ω -6 classes as an essential nutrient in different periods of childhood. *Pediatric Pharmacology*. 2013; 10 (4): 80–88 (in Russ.)].
 40. Garcia-Marcos L., Castro-Rodriguez J.A., Weinmayr G., Panagiotakos D.B., Priftis K.N., Nagel G. Influence of Mediterranean diet on asthma in children: a systematic review and meta-analysis. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2013; 24 (4): 330–338. DOI: 10.1111/pai.12071.
 41. D'Vaz N., Meldrum S.J., Dunstan J.A. et al. Fish oil supplementation in early infancy modulates developing infant immune responses. *Clin. Exp. Allergy*. 2012; 42 (8): 1206–1216. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2012.04031.x.
 42. Han Y.Y., Forno E., Celedon J.C. Adiposity, fractional exhaled nitric oxide, and asthma in U.S. children. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2014; 190 (1): 32–39. DOI: 10.1164/rccm.201403-0565OC.
 43. Vuillermier P.J., Macia L., Nanan R., Tang M.L., Collier F., Brix S. The maternal microbiome during pregnancy and

- allergic disease in the offspring. *Semin. Immunopathol.* 2017; 39 (6): 669–675. DOI: 10.1007/s00281-017-0652-y.
44. Gatford K.L., Wooldridge A.L., Kind K.L., Bischof R., Clifton V.L. Pre-birth origins of allergy and asthma. *J. Reprod. Immunol.* 2017; 123: 88–93. DOI: 10.1016/j.jri.2017.07.002.
 45. Vuillermier P.J., Macia L., Nanan R., Tang M.L., Collier F., Brix S. The maternal microbiome during pregnancy and allergic disease in the offspring. *Semin. Immunopathol.* 2017; 39 (6): 669–675. DOI: 10.1007/s00281-017-0652-y.
 46. Pitter G., Ludvigsson J.F., Romor P. et al. Antibiotic exposure in the first year of life and later treated asthma, a population based birth cohort study of 143,000 children. *Eur. J. Epidemiol.* 2016; 31 (1): 85–94. DOI: 10.1007/s10654-015-0038-1.
 47. Bailey L.C., Forrest C.B., Zhang P. et al. Association of antibiotics in infancy with early childhood obesity. *JAMA Pediatr.* 2014; 168 (11): 1063–1069. DOI: 10.1001/jamapediatrics.2014.1539.
 48. Depner M., Ege M.J., Cox M.J. et al. Bacterial microbiota of the upper respiratory tract and childhood asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2017; 139 (3): 826–834. DOI: 10.1016/j.jaci.2016.05.050.
 49. Khan M.J., Gerasimidis K., Edwards C.A., Shaikh M.G. Role of gut microbiota in the aetiology of obesity: proposed mechanisms and review of the literature. *J. Obesity.* 2016; 2016: 7353642. DOI:10.1155/2016/7353642.
 50. Forno E., Onderdonk A.B., McCracken J. et al. Diversity of the gut microbiota and eczema in early life. *Clin. Mol. Allergy.* 2008; 6: 11. DOI: 10.1186/1476-7961-6-11.
 51. Fujimura K.E., Sitarik A.R., Havstad S. et al. Neonatal gut microbiota associates with childhood multisensitized atopy and T cell differentiation. *Nat. Med.* 2016; 22 (10): 1187–1191. DOI: 10.1038/nm.4176.
 52. Elazab N., Mendy A., Gasana J. et al. Probiotic administration in early life, atopy, and asthma: a meta-analysis of clinical trials. *Pediatrics.* 2013; 132 (2): e666–676. DOI: 10.1542/peds.2013-0246.
 53. Shore S.A., Cho Y. Obesity and asthma: microbiome-metabolome interactions. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2016; 54 (5): 609–617. DOI: 10.1165/rcmb.2016-0052PS.
 54. Forno E., Han Y.Y., Muzumdar R.H., Celedon J.C. Insulin resistance, metabolic syndrome, and lung function in US adolescents with and without asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2015; 136 (2): 304–311. DOI: 10.1016/j.jaci.2015.01.010.
 55. Karampatakis N., Karampatakis T., Galli-Tsinopoulou A. et al. Impaired glucose metabolism and bronchial hyper-responsiveness in obese prepubertal asthmatic children. *Pediatr. Pulmonol.* 2017; 52 (2): 160–166. DOI: 10.1002/ppul.23516.
 56. Rastogi D., Fraser S., Oh J. et al. Inflammation, metabolic dysregulation, and pulmonary function among obese urban adolescents with asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2015; 191 (2): 149–160. DOI: 10.1164/rccm.201409-1587OC.
 57. Sanchez Jimenez J., Herrero Espinet F.J., Mengibar Garrido J.M. et al. Asthma and insulin resistance in obese children and adolescents. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2014; 25 (7): 699–705. DOI: 10.1111/pai.12294.
 58. Singh V.P., Aggarwal R., Singh S. et al. Metabolic syndrome is associated with increased oxo-nitrative stress and asthma-like changes in lungs. *PLoS One.* 2015; 10 (6): e0129850. DOI: 10.1371/journal.pone.0129850.
 59. Dekkers B.G., Schaafsma D., Tran T. et al. Insulin-induced laminin expression promotes a hypercontractile airway smooth muscle phenotype. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2009; 41 (4): 494–504. DOI: 10.1165/rcmb.2008-0251OC.
 60. Agrawal A., Mabalirajan U., Ahmad T., Ghosh B. Emerging interface between metabolic syndrome and asthma. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2011; 44 (3): 270–275. DOI: 10.1165/rcmb.2010-0141TR.
 61. Guler N., Kirerleri E., Ones U., Tamay Z., Salmayenli N., Darendeliler F. Leptin: does it have any role in childhood asthma? *J. Allergy Clin. Immunol.* 2004; 114 (2): 254–259. DOI: 10.1016/j.jaci.2004.03.053.
 62. Mai X.M., Büttcher M.F., Leijon I. Leptin and asthma in overweight children at 12 years of age. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2004; 15 (6): 523–530. DOI: 10.1111/j.1399-3038.2004.00195.x.
 63. Cottrell L., Neal W.A., Ice C. et al. Metabolic abnormalities in children with asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011; 183 (4): 441–448. DOI: 10.1164/rccm.201004-0603OC.
 64. Del-Rio-Navarro B.E., Castro-Rodriguez J.A., Garibay Nieto N. et al. Higher metabolic syndrome in obese asthmatic compared to obese nonasthmatic adolescent males. *J. Asthma.* 2010; 47 (5): 501–506. DOI: 10.3109/02770901003702808.
 65. Chen Y.C., Tung K.Y., Tsai C.H. et al. Lipid profiles in children with and without asthma: interaction of asthma and obesity on hyperlipidemia. *Diabetes Metab. Syndr.* 2013; 7: 20–25. DOI: 10.1016/j.dsx.2013.02.026.
 66. Vijayakanthi N., Grealley J.M., Rastogi D. Pediatric obesity-related Asthma: The role of metabolic Dysregulation. *Pediatrics.* 2016; 137 (5): e20150812. DOI: 10.1542/peds.2015-0812.
 67. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. Geneva, World Health Organization, 2000 (WHO Technical Report Series, No. 894. URL: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_894.pdf).
 68. Lobstein T. et al. for the IASO International Obesity Task Force. Obesity in children and young people: a crisis in public health. *Obesity Reviews*, 2004; 5 (Suppl. 1): 4–104.
 69. Ghavamzadeh S., Khalkhali H.R., Alizadeh M. TV viewing, independent of physical activity and obesogenic foods, increases overweight and obesity in adolescents. *J. Health Popul. Nutr.* 2013; 31 (3): 334–342.
 70. Cox R., Skouteris H., Rutherford L., Fuller-Tyszkiewicz M., Dell'Aquila D., Hardy L.L. Television viewing,

- television content, food intake, physical activity and body mass index: a cross-sectional study of preschool children aged 2–6 years. *Health Promot. J. Austr.* 2012; 23 (1): 58–62.
71. Ghavamzadeh S., Khalkhali H.R., Alizadeh M. TV viewing, independent of physical activity and obesogenic foods, increases overweight and obesity in adolescents. *J. Health Popul. Nutr.* 2013; 31 (3): 334–342.
 72. Corbo G.M., Forastiere F., De Sario M. et al. Sidria-2 Collaborative Group. Wheeze and asthma in children: associations with body mass index, sports, television viewing, and diet. *Epidemiology.* 2008; 19 (5): 747–755. DOI: 10.1097/EDE.0b013e3181776213.
 73. Sherriff A., Maitra A., Ness A.R. et al. Association of duration of television viewing in early childhood with the subsequent development of asthma. *Thorax.* 2009; 64 (4): 321–325. DOI: 10.1136/thx.2008.104406.
 74. Rasmussen F., Lambrechtsen J., Siersted H.C., Hansen H.S., Hansen N.C. Low physical fitness in childhood is associated with the development of asthma in young adulthood: the Odense schoolchild study. *Eur. Respir. J.* 2000; 16 (5): 866–870.
 75. Vlaski E., Stavric K., Seckova L., Kimovska M., Isjanovska R. Influence of physical activity and television-watching time on asthma and allergic rhinitis among young adolescents: preventive or aggravating? *Allergol. Immunopathol. (Madr.)*. 2008; 36 (5): 247–253.
 76. Jensen M.E., Gibson P.G., Collins C.E. et al. Diet-induced weight loss in obese children with asthma: a randomized controlled trial. *Clin. Exp. Allergy.* 2013; 43 (7): 775–784. DOI: 10.1111/cea.12115.
 77. Van Leeuwen J.C., Hoogstrate M., Duiverman E.J., Thio B.J. Effects of dietary induced weight loss on exercise-induced bronchoconstriction in overweight and obese children. *Pediatr. Pulmonol.* 2014; 49 (2): 1155–1161. DOI: 10.1002/ppul.22932.
 78. Willeboordse M., Kant K.D., Tan F.E. et al. A multifactorial weight reduction programme for children with overweight and asthma: a randomized controlled trial. *PLoS One.* 2016; 11 (6): e0157158. DOI: 10.1371/journal.pone.0157158.
 79. Luna-Pech J.A., Torres-Mendoza B.M., Luna-Pech J.A. et al. Normocaloric diet improves asthma-related quality of life in obese pubertal adolescents. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2014; 163 (4): 252–258. DOI: 10.1159/000360398.

Сведения об авторах

Новик Геннадий Айзикович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой педиатрии им. проф. И.М. Воронцова, СПбГПМУ; гл. внештатный детский специалист по профилактической медицине Минздрава России по СЗФО, г. Санкт-Петербург. ORCID iD 0000-0002-7571-5460.

Халева Екатерина Геннадьевна, аспирант, кафедры педиатрии им. проф. И.М. Воронцова, СПбГПМУ, г. Санкт-Петербург. ORCID iD 0000-0002-2220-7745.

Макарова Светлана Геннадиевна, д-р мед. наук, зав. отделом профилактической педиатрии, НМИЦЗД; профессор, кафедра факультетской педиатрии, РНИМУ им. Н.И. Пирогова; гл. внештатный детский специалист по профилактической медицине Минздрава России по ЦФО, г. Москва. ORCID iD 0000-0002-3056-403X.

Жданова Марина Владимировна, канд. мед. наук, доцент, зав. учебной частью, кафедра педиатрии им. профессора И.М. Воронцова, СПбГПМУ, г. Санкт-Петербург. ORCID iD 0000-0001-7035-0100.

(✉) **Новик Геннадий Айзикович**, e-mail: ga_novik@mail.ru.

Authors information

Novik Gennady A., DM, Professor, Head of the Department of Pediatrics, SPSPMU, Saint-Petersburg, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-7571-5460.

Khaleva Ekaterina G., PhD Student, Department of Pediatrics, SPSPMU, Saint-Petersburg, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-2220-7745.

Makarova Svetlana G., DM, Professor, Head of the Department of Preventive Pediatrics, NMRCC; RNRMU, Moscow, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-3056-403X.

Zhdanova Marina V., PhD, Associate Professor, SPSPMU, Saint-Petersburg, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-7035-0100.

(✉) **Novik Gennady A.**, e-mail: ga_novik@mail.ru.

Received 12.12.2018

Accepted 11.06.2019

Поступила в редакцию 12.12.2018

Подписана в печать 11.06.2019

Осложнения и рецидивы после аллопластики больших и гигантских грыж пищеводного отверстия диафрагмы

Розенфельд И.И.

Тверской государственный медицинский университет (ТГМУ)

Россия, 170100, г. Тверь, ул. Советская, 4

РЕЗЮМЕ

В обзоре литературы представлен контент-анализ хирургического лечения больших и гигантских грыж пищеводного отверстия диафрагмы, а также поднята проблема осложнений при использовании основных методов герниопластики. Аллопластика пищеводного отверстия диафрагмы остается большой и нерешенной хирургической проблемой, о чем свидетельствуют проанализированные литературные источники, в основном обзоры и клинические рекомендации.

Во-первых, аллопластика способна вызвать послеоперационные осложнения с частотой до 20%, особенно при использовании жестких полипропиленовых и композитных политетрафторэтиленовых сетчатых имплантатов при циркулярной параззофагеальной фиксации. Современные биологические сетки в настоящее время показывают высокую частоту анатомических рецидивов, поэтому большинство специалистов продолжают использовать синтетические имплантаты, из которых наиболее перспективными являются облегченные, сетчатые, частично рассасывающиеся конструкции.

Во-вторых, до сих пор не разработаны четкие показания к аллопластике, например, в зависимости от размера грыж пищеводного отверстия диафрагмы, что является основным фактором риска рецидива.

В-третьих, до сих пор не понятно, какой показатель необходимо использовать для оценки размеров грыж пищеводного отверстия диафрагмы и, следовательно, четко не определено, какие грыжи считаются малыми, какие – большими, а какие – гигантскими, несмотря на то, что данные термины постоянно фигурируют в медицинской литературе.

В-четвертых, не определена оптимальная методика аллопластики при больших и особенно при гигантских грыжах, которая препятствовала бы анатомическим рецидивам и в то же время не вызвала бы послеоперационных осложнений.

Необходимо наметить следующие пути решения этих проблемных вопросов: разработать эффективные и в то же время безопасные методики аллопластики больших и гигантских грыж; определить четкие показания к аллопластике пищеводного отверстия диафрагмы в зависимости от размеров грыж; создать соответствующую прикладную классификацию грыж пищеводного отверстия диафрагмы.

Ключевые слова: аллопластика, большие грыжи пищеводного отверстия диафрагмы, гигантские грыжи пищеводного отверстия диафрагмы, полипропиленовые имплантаты, политетрафторэтиленовые имплантаты, облегченные имплантаты, биологические бесклеточные дермальные имплантаты.

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Автор заявляет об отсутствии финансирования.

Для цитирования: Розенфельд И.И. Осложнения и рецидивы после аллопластики больших и гигантских грыж пищеводного отверстия диафрагмы. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 192–202. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-192-202>.

УДК 617-089.844

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-192-202>

Complications and relapses after alloplasty of large and giant hernia of the esophageal aperture of the diaphragm

Rosenfeld I.I.

Tver State Medical University

4, Sovetskaya Str., Tver, 170100, Russian Federation

ABSTRACT

The review of the literature presents the content analysis of surgical treatment of large and giant hernia of the esophageal aperture of the diaphragm as well as the analyses of complications when using the main methods of hernioplasty. Alloplasty of the esophageal aperture of the diaphragm remains a large and unresolved surgical problem, as evidenced by the analyzed literature sources, mainly reviews and clinical recommendations.

Firstly, alloplasty can cause postoperative complications with a frequency of up to 20%, especially when using rigid polypropylene and composite polytetrafluoroethylene mesh implants with circular paraesophageal fixation. Modern biological nets now show high incidence of anatomical relapses, so most specialists continue to use synthetic implants, of which the most promising ones are lightweight, mesh, partially absorbable structures.

Secondly, clear indications for alloplasty have not been developed, for example, according to the size of the hernia of the esophageal opening in the diaphragm, which is the main risk factor for relapses.

Thirdly, it is still not clear what indicator should be used to estimate the size of hernia of the esophageal aperture of the diaphragm and, therefore, it is not clearly defined which hernias are considered small, which are large and which are giant, despite the fact that the three terms constantly appear in the medical literature.

Fourthly, the optimal technique for alloplasty has not been determined with large and especially giant hernias, which would prevent anatomical relapses, and at the same time would not cause postoperative complications.

It is necessary to outline the following ways to solve these problems: to develop effective and at the same time safe methods of alloplasty of large and giant hernias; to determine clear indications for alloplasty of the esophageal opening of the diaphragm, depending on the size of hernias; to create an appropriate, applied classification of hernias of the esophageal aperture of the diaphragm.

Key words: alloplastic, large hernia of the esophageal aperture of the diaphragm, giant hernia of the esophageal aperture of the diaphragm, polypropylene implants, polytetrafluoroethylene implants, lightweight implants, biological cell – free dermal implants.

Conflict of interest. The author declares no conflict of interest.

Source of financing. The author states that there is no funding for the study.

For citation: Rosenfeld I.I. Complications and relapses after alloplasty of large and giant hernia of the esophageal aperture of the diaphragm. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 192–202. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-192-202>.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема эффективности методов пластики больших и гигантских грыж пищеводного отверстия диафрагмы основывается на принципах повышения качества жизни пациентов. Появляются новые техники операций. Наряду с констатацией уменьшения частоты анатомических рецидивов при аллопластике пищеводного отверстия диафрагмы, в последнее время в литературе встречается все больше данных о ее осложнениях. Несмотря на то, что частота этих осложнений является невысокой, сами осложнения бывают тяжелыми и нередко требуют повторных и инвалидизирующих реконструктивных операций.

Данное исследование основано на глубинном контент-анализе проспективных рандомизированных исследований из хирургической практики пациентов с большими и гигантскими грыжами пищеводного отверстия диафрагмы.

Широкое применение аллопластики для лечения больных с большими и гигантскими грыжами пищеводного отверстия диафрагмы привело к

формированию несистематизированных результатов, а значит, к несформированной системе выбора метода при подборе лечения и определения возможных рисков на стадии планирования лечения. Как известно, плановая операция при грыжах пищеводного отверстия диафрагмы на 45% снижает риск рецидивов, поэтому основной упор в данном исследовании сделан на плановое лечение. Это должно стать основой в лапароскопической антирефлюксной хирургии при гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, так как причинами отказа антирефлюксной процедуры являются рецидивы грыж пищеводного отверстия диафрагмы.

В российской практике рандомизированные результаты пластики с использованием имплантов с данными по рецидивам и отклонениям не публикуются. Однако вопрос выбора вида имплантата и методики его установки крайне важен. Мировая хирургическая практика анализа рецидивов при выборе имплантата у пациентов с большими грыжами пищеводного отверстия диафрагмы представлена в таблице.

Таблица
Table

Мировая хирургическая практика анализа рецидивов при выборе имплантата у пациентов с большими грыжами пищеводного отверстия диафрагмы										
World surgical practice in the analysis of relapses when choosing an implant in patients with large hernia of the esophageal aperture of the diaphragm										
Тип имплантата Type of implant	Авторы Authors	Количество респондентов Number of respondents	Количество операций Number of operations	Количество исследований Number of studies	Время послеоперационного наблюдения Duration of post-operative follow-up	Рецидив, % Relapse, %	Дисфагия, % Dysphagia, %	Аппрозия, % Aprosis, %	Стриктуры, % Strictures, %	Реоперация Reoperation
Полипропиленовые имплантаты Polypropylene implants	Furnée и соавт. Furnée et al.	–	924	26	–	1,9	–	–	–	–
	Granderath и соавт. Granderath et al.	–	50	–	1 год 1 year	8,0	4,0	–	–	2
	Frantzides и соавт. Frantzides et al.	264	5 489	–	–	0,8	–	–	–	–
	Soricelli и соавт. Soricelli et al.	–	–	–	–	2,4	–	–	–	5
	Antoniou и соавт. Antoniou et al.	1 445	45	23	1 год 1 year	22,7	–	–	–	–
Политетрафторэтиленовые имплантаты Polytetrafluoro-ethylene implants	Antoniou и соавт. Antoniou et al.	–	–	–	–	5,7	–	–	–	–
	Staropoulos и соавт. Staropoulos et al.	45	–	–	–	2,2	–	–	–	–
	Targarona и соавт. Targarona et al.	–	–	–	–	31,0	62,0	–	–	–
	Zhang и соавт. Zhang et al.	–	21	–	16 мес 16 months	4,7	38,0	–	–	–

Окончание таблицы
End of table

Тип имплантата Type of implant	Авторы Authors	Количество респон- дентов Number of respondents	Количество операций Number of operations	Количество исследо- ваний Number of studies	Время послеопе- рационного наблюдения Duration of post-oper- ative follow-up	Рецидив, % Relapse, %	Дисфагия, % Dysphagia, %	Аппрозия, % Arrosion, %	Стриктуры, % Strictures, %	Реоперация Reoperation
	Stadlhuber и соавт. Stadlhuber et al.	28	–	–	17 мес 17 months	18,0	5,0	17,0	6,0	–
	Chilintseva и соавт. Chilintseva et al.	–	58	–	2 года 2 years	40,0	22,1	–	3,4	–
	Griffith и соавт. Griffith et al.	–	15	–	12 мес 12 months	22,0	–	13,1	–	1
	Priego и соавт. Priego et al.	–	93	–	76 мес 76 months	9,0	–	–	–	5
			50	–	62 мес 62 months	–	4,0	0,0	0,0	–
Облегченные имплантаты Lightweight implants	Авторское исследование Original research	192	192	–	28 мес 28 months	4,9	2,1	0,0	0,0	–
	Geißler и соавт. Geißler et al.	–	138	–	–	–	1,4	–	–	–
	Hazebroek и соавт. Hazebroek et al.	–	18	–	26 мес 26 months		0,0	0,0	0,0	–
Рассасывающиеся имплантаты Biodegradable implants	Gebhart и соавт. Gebhart et al.	–	92	–	30 мес 30 months	18,5	–	–	–	–
Биологические бесклеточные дермальные имплантаты Biological acellular dermal implants	Chang и соавт. Chang et.al.	–	221	–	14 мес 14 months	3,6	–	–	–	–
	Alicuben и соавт. Alicuben et.al.	–	82	–	5 мес 5 months	4,3	–	–	–	–
	Bell и соавт. Bell et al.	–	54 LHEAD	–	18 мес 18 months	7,1	1,8	0,0	0,0	3
			67 GHEAD	–	18 мес 18 months	8,8	4,3	0,0	0,0	–
	Diaz и соавт. Diaz et al.	–	46	–	1 год 1 year	7,7	13,0	–	–	–
	Huddy и соавт. Huddy et al.	–	152	–		17,1	–	–	–	–
	Jacobs и соавт. Jacobs et al.	–	92	–		20,0	–	–	–	–
	Asti и соавт. Asti et al.	–	41	–	2 года 2 years	9,7	–	–	–	–
	Schmidt и соавт. Schmidt et al.	–	38	–	1 год 1 year	16,0	–	–	–	–
	Oelschlager и соавт. Oelschlager et al.	–	72	–	58 мес 58 months	54,0	–	–	–	–
	Jones и соавт. Jones et al.	–	209	–	25 мес 25 months	21,0	–	–	–	–
					5 лет 5 years	39,0	–	–	–	–
	Lidor и соавт. Lidor et al.	–	111	–	43 мес 43 months	27,0	–	–	–	–
	Latzko и соавт. Latzko et al.	–	94	–	23 мес 23 months	21,0	–	–	–	5
	Ward и соавт. Ward et al.	–	44	–	17 мес 17 months	18,0	–	–	–	–

Примечания. БГПОД – большая грыжа пищеводного отверстия диафрагмы; ГГПОД – гигантская грыжа пищеводного отверстия диафрагмы.

Note. Dash – data not stated. LHEAD – large hernia of the esophageal aperture of the diaphragm; GHEAD – giant hernia of the esophageal aperture of the diaphragm.

ПОЛИПРОПИЛЕНОВЫЕ ИМПЛАНТАТЫ

Полипропиленовые имплантаты (например, Prolene и Ethicon имеют наибольшую прочность и поэтому обеспечивают формирование плотного надежного рубца. Вторым их преимуществом является дешевизна.

Опрос Frantzides и соавт. 264 респондентов и анализ 5 486 операций показали, что 1 111 имплантатов в своей практике применяют 25,6% хирургов, а частота анатомических рецидивов при использовании полипропиленовых сетчатых имплантатов была 0,8%, что составило 5,2% от всех рецидивов при использовании любых видов сеток [1]. В обзоре Furnée и соавт. в 26 исследованиях и 924 операциях их применили в 23,1% случаев [2]. Обзор Antoniou и соавт. в 23 исследованиях и опрос 1 445 пациентов показали, что частота анатомических рецидивов при использовании полипропиленовых сетчатых имплантатов составила 22,7% [3]. В проспективном рандомизированном исследовании Granderath и соавт. на 50 пациентах в группе пластики полипропиленовой сеткой и послеоперационным наблюдением в среднем 1 год анатомические рецидивы отмечены в 8,0% случаев [4]. В исследовании Soricelli и соавт. частота анатомических рецидивов после onlay аллопластики полипропиленовым имплантатом составила 1,8%, после inlay аллопластики – 2,4% [5].

Недостатком полипропиленовых имплантатов является их чрезмерная жесткость. При близком расположении к пищеводу они могут вызвать выраженный периэзофагеальный фиброз, что приводит к длительной (более 3 мес) дисфагии без развития стриктуры, или к развитию рубцовой стриктуры, или к аррозии пищевода с миграцией сетки в его просвет. Каждое из этих осложнений может сопровождаться инфицированием имплантата вплоть до абсцедирования [3].

Вторым недостатком полипропиленовых имплантатов является возможность их уменьшения со временем в объеме на 15,0–20,0%, так называемое сморщивание сетки, которое при фиксации вокруг пищевода увеличивает возможность указанных осложнений. Так, в обзоре Antoniou и соавт. частота дисфагий при использовании полипропиленовых сеток составила 21,7% [3]. В проспективном рандомизированном исследовании Granderath и соавт. частота дисфагии через 1 год после операции составила 4,0% [6].

ПОЛИТЕТРАФТОРЭТИЛЕНОВЫЕ ИМПЛАНТАТЫ

Политетрафторэтиленовые имплантаты, например DualMesh и Gore, являются композитными,

т.е. состоят из двух компонентов – полипропилена или полиэстера и слоя политетрафторэтилена. Политетрафторэтилен является антиадгезивным материалом, который служит для профилактики рубцевания при контакте имплантата с внутренними органами. Эти имплантаты были созданы для лапароскопической интраперитонеальной пластики вентральных грыж, кроме того, рядом авторов они были применены в пластике больших и гигантских грыж пищеводного отверстия диафрагмы, причем с методикой «onlay».

В опросе Frantzides и соавт. композитные политетрафторэтиленовые имплантаты применяют 30,7% хирургов [1]. В обзоре Furnee и соавт. их использовали в 23,1% случаев [2]. В обзоре Antoniou и соавт. частота анатомических рецидивов при применении композитных политетрафторэтиленовых сеток составила 5,7% [3]. У Frantzides и соавт. в среднем через 2,5 года анатомических рецидивов не было [7]. В исследовании Staropoulos и соавт. на 45 пациентах частота анатомических рецидивов составила 2,2% [8]. Так, данные литературы свидетельствуют о сравнимой с полипропиленовыми сетками частоте анатомических рецидивов.

Однако политетрафторэтиленовые имплантаты все же достаточно жесткие и имеют большую толщину, чем полипропиленовые, что также может приводить к послеоперационным осложнениям. Иными словами, при пластике пищеводного отверстия диафрагмы предполагаемое преимущество композитных политетрафторэтиленовых имплантатов оказалась недостатком. В обзоре Antoniou и соавт. частота дисфагии при использовании композитных политетрафторэтиленовых сеток составила 15,5–34,3%, т.е. оказалась выше, чем при использовании полипропиленовых сеток [3]. Аналогично в опросе Frantzides и соавт. частота рубцовых стриктур пищевода при использовании композитных политетрафторэтиленовых сеток составила 0,3%, а аррозия пищевода – 0,5% [1]. В исследовании Targazona и соавт., где использовалась композитная политетрафторэтиленовая сетка, фиксированная вокруг пищевода, частота дисфагии составила 62,0%, половина пациентов была прооперирована повторно [9]. В исследовании Zhang и соавт., которое включило 21 пациента с гигантскими грыжами пищеводного отверстия диафрагмы с inlay-пластикой композитным политетрафторэтиленовым имплантатом с мягким передним краем V-образной формы Grurasoft и Bard (США), послеоперационное наблюдение в среднем через 16 мес, частота анатомических рецидивов была 4,7%, ча-

стота дисфагии – 38,0% [10]. В обзоре литературы этих же авторов, опубликованной в Китае, по использованию такой пластики на 213 пациентах, частота анатомических рецидивов составила 1,9%, а дисфагии – от 0,0 до 24,0%.

Также в ряде публикаций представлены случаи послеоперационных осложнений при использовании композитных политетрафторэтиленовых сеток. Так, например, Stadlhuber и соавт. опубликовали 28 случаев с использованием политетрафторэтиленовых сеток. В 17% случаев наблюдалась аррозия, в 6% – стриктуры, в 5% – перизофагальный фиброз с развитием длительной дисфагии [11]. Осложнения наступили в среднем через 17 мес, 40,0% осложнений возникли через 2 и более года после операции; шесть пациентов нуждались в эзофагэктомии, два – в проксимальной резекции желудка, один – в гастрэктомии, еще один – в эндоскопическом удалении сетки, которая мигрировала. После этих операций умерли два больных [11]. Авторы сделали вывод, что как политетрафторэтиленовые, так и полипропиленовые сетки имеют одинаковую вероятность развития осложнений.

В исследовании Chilintseva и соавт. на 58 пациентах с пластикой политетрафторэтиленовыми сетками DualMesh и Crurasoft (США), и полипропиленовыми сетками, послеоперационным наблюдением в среднем через 6–16 мес, было выявлено два случая стриктур пищевода, которые потребовали повторных операций, и развитие длительной дисфагии без стриктур в 22,1% случаев [12]. В работе Griffith и соавт. у трех из 15 пациентов развились осложнения. В двух случаях возникла аррозия пищевода с миграцией имплантата, а в одном случае – тяжелый перизофагальный фиброз с абсцессом, после чего выполнено удаление конструкции [13]. В исследованиях Hazebroek и соавт., Carpelan-Holmstrom и соавт., Perez Lara и соавт., Liang и соавт., а также Acin-Gandara и соавт. было опубликовано по одному случаю аррозии пищевода композитным политетрафторэтиленовым сетчатым имплантатом, в том числе через 2 года после операции [14].

В то же время в ряде работ осложнений композитных политетрафторэтиленовых сеток обнаружено не было, что, скорее всего, связано с особенностями их постановки, а возможно, коротким периодом оценки результатов. Так, у Frantzides и соавт. осложнений не было [7]. В исследовании Priego и соавт. на 50 пациентах с гигантскими грыжами пищеводного отверстия диафрагмы с пластикой имплантатом Grurasoft (США), с послеоперационным наблюдением в среднем через

62 мес, отмечалась длительная дисфагия у 4,0% пациентов при отсутствии стриктур и аррозии. При этом частота анатомических рецидивов составила 4,0% [14]. Однако в более позднем исследовании этих же авторов на 93 пациентах и послеоперационным наблюдением в среднем через 76 мес, частота анатомических рецидивов составила 9,0%, частота реопераций – 5,4%, сетка была удалена в трех случаях [15].

ОБЛЕГЧЕННЫЕ И РАССАСЫВАЮЩИЕСЯ ИМПЛАНТАТЫ

Облегченные имплантаты и имплантаты, которые рассасываются, в настоящее время являются наиболее перспективными. Облегченные имплантаты могут быть сделаны из полипропилена, полиэстера или иного волокна, которое не рассасывается, со специальным переплетом и широкими ячейками. Например, полиэстеровые сетки Mersilene и Ethicon (США).

Частично рассасывающиеся имплантаты являются композитными, т.е. состоят из рассасывающихся и нерассасывающихся волокон. Например, Ultrapro и Ethicon (США), которые состоят на 50% из полипропилена и на 50% из полиглекапрона. Такие сетки можно считать оптимальными, поскольку они обладают не только высокой прочностью за счет свойств используемого полимера, но и имеют облегченную структуру – тонкие и мягкие волокна с крупными ячейками. Кроме того, они частично рассасываются, способствуя формированию негрубого соединительнотканного рубца и не вызывая аррозии тканей.

Как показывает наш опыт использования облегченных сетчатых частично рассасывающихся имплантатов Ultrapro, оптимальное соотношение эффективности и безопасности обеспечивается не только самим имплантатом, но и способом его фиксации. Наше ретроспективное исследование по оригинальной методике sublay-пластики облегченным сетчатым частично рассасывающимся имплантатом Ultrapro включало 192 пациента. Послеоперационное наблюдение производилось в среднем через 28 мес (10–47 мес), частота симптоматических анатомических рецидивов при больших грыжах пищеводного отверстия диафрагмы была 4,9%. Частота длительной дисфагии составила всего 2,1%, а рубцовых стриктур и аррозий пищевода не наблюдалось.

В исследовании Geißler и соавт. на 138 пациентах с пластикой облегченной сеткой и 148 пациентах с крурорафией частота симптоматических анатомических рецидивов достоверно отличалась в пользу аллопластики (1,4 и 7,4%), данные о по-

слеоперационных осложнениях в доступном резюме отсутствовали [16].

В исследовании Kanellos и соавт., включавшим 26 пациентов с пластикой облегченной полипропиленовой сеткой и послеоперационным наблюдением в среднем через 34 мес, анатомических рецидивов не было, однако частота дисфагии составила 11,0% [17].

В исследовании Hazebroek и соавт. на 18 пациентах с onlay-пластикой облегченным полипропиленовым имплантатом, послеоперационным наблюдением в среднем через 26 мес, случаев дисфагии, стриктур и аррозии обнаружено не было, малый рецидив до 2 см имел место в одном случае [18].

Синтетические сетки, которые полностью рассасываются, например, полилактиновые Vicril и Ethicon (США), абсолютно лишены возможности осложнений, но рецидивы за счет полного рассасывания отмечаются чаще. Так, в исследовании Gebhart и соавт. на 92 пациентах, с послеоперационным наблюдением в среднем через 30 мес, анатомический рецидив наступил в 18,5% случаев, послеоперационных осложнений не было [19].

В исследовании Powell и соавт. на 70 пациентах анатомических рецидивов и послеоперационных осложнений не было [20]. В исследовании Zehetner и соавт. на 21 пациенте, с послеоперационным наблюдением в среднем через 14 мес, частота анатомических рецидивов составила 9,5%. Послеоперационных осложнений не было [21].

БИОЛОГИЧЕСКИЕ БЕСКЛЕТОЧНЫЕ ДЕРМАЛЬНЫЕ ИМПЛАНТАТЫ

Биологические бесклеточные дермальные имплантаты, например Allograft и LifeCell (США), имеют все три преимущества описанных выше сеток в плане профилактики послеоперационных осложнений: антиадгезивность, мягкую структуру и возможность рассасывания. В настоящее время такие имплантаты набирают популярность, особенно в США.

В литературе данные об эффективности этих имплантатов очень отличаются и в целом недостаточны для окончательных выводов.

Методика постановки имплантатов во всех литературных источниках одна – onlay-пластика, усиленная задней крурорафией. В исследовании Chang и соавт. на 221 пациенте, с послеоперационным наблюдением в среднем через 14 мес, зафиксировано восемь рецидивов (3,6%), послеоперационные осложнения четко не охарактеризованы и их количество обозначено как минимальное [22]. В российской практике данные

результаты имеют нечеткую репрезентативность, так как достоверные результаты не получены.

В исследовании Alicuben и соавт. на 82 пациентах, с послеоперационным наблюдением в среднем через 5 мес, было зафиксировано три рецидива (4,3%), послеоперационных осложнений не было [23].

В исследовании Bell и соавт. на 54 пациентах с большими грыжами пищевого отверстия диафрагмы диаметром менее 5 см и на 67 пациентах с гигантскими грыжами большого диаметра, с послеоперационным наблюдением в среднем через 18 мес, частота анатомических рецидивов была 7,1 и 8,8% соответственно. Частота дисфагии – 1,8 и 4,3% соответственно. Стриктур и аррозий пищевода не было. Было отмечено три реоперации по поводу инфицирования имплантата с его удалением [24].

В исследовании Diaz и соавт. на 46 пациентах, с послеоперационным наблюдением в среднем через 1 год, частота анатомических рецидивов составила 7,7%, а дисфагии – 13,0% [24].

В обзоре Huddy и соавт. было выполнено 152 пластики биологическими и 214 пластик синтетическими имплантатами, частота рецидивов была достоверно выше при использовании биологических сетей – 17,1 и 12,6% соответственно [25].

В исследовании Jacobs и соавт. на 92 пациентах с аллопластикой и 59 пациентах с крурорафией, с послеоперационным наблюдением в среднем через 3 года, частота анатомических рецидивов достоверно отличалась в пользу пластики биологическим имплантатом – 20,0 и 3,2% соответственно, послеоперационных осложнений в обеих группах не наблюдалось [26].

В исследовании Asti и соавт. на 41 пациенте с аллопластикой и 43 пациентах с крурорафией, с послеоперационным наблюдением в среднем через 2 года, частота анатомических рецидивов достоверно отличалась в пользу аллопластики – 9,7 и 18,6% соответственно, послеоперационных осложнений не отмечалось [27].

В исследовании Schmidt и соавт. на 38 пациентах с аллопластикой и 32 пациентах с крурорафией, с послеоперационным наблюдением в среднем через 1 год, частота анатомических рецидивов достоверно отличалась в пользу аллопластики – 16,0 и 0,0% соответственно. В исследовании принимали участие только пациенты с грыжами пищевого отверстия диафрагмы малых размеров диаметром до 5 см [1].

Однако имеются данные о недостаточной эффективности биологических имплантатов в профилактике рецидивов. Так, в исследовании Oelschlager

и соавт. на 72 пациентах, с послеоперационным наблюдением в среднем через 58 мес, достоверных различий в частоте анатомических рецидивов после onlay пластики биологической сеткой Surgisis и Cook, по сравнению с крурорафией получено не было – 54,0 и 59,0% соответственно, послеоперационных осложнений в обеих группах не было [28].

В исследовании Lidor и соавт. на 111 пациентах, с послеоперационным наблюдением в среднем через 43 мес, частота анатомических рецидивов была 27,0% [29]. В исследовании Latzko и соавт. на 94 пациентах, с послеоперационным наблюдением в среднем через 23 мес, частота анатомических рецидивов была 21,0%, а реоперации были выполнены пяти больным [30].

В исследовании Ward и соавт. на 44 пациентах, с послеоперационным наблюдением в среднем через 17 мес, частота анатомических рецидивов была 18,0%, данные о послеоперационных осложнениях в статье расплывчатые [31].

В обзоре Antoniou и соавт. был сделан вывод о большей эффективности биологических сеток относительно крурорафии, но меньшей эффективности по сравнению с синтетическими сетками, и, в целом о том, что биологические сетки требуют дальнейшего изучения [32]. Представим сводные данные об исследованиях авторов со средним сроком наблюдения в 1 год по осложнениям и рецидивам после пластики различными видами сетчатых имплантатов (рис.).

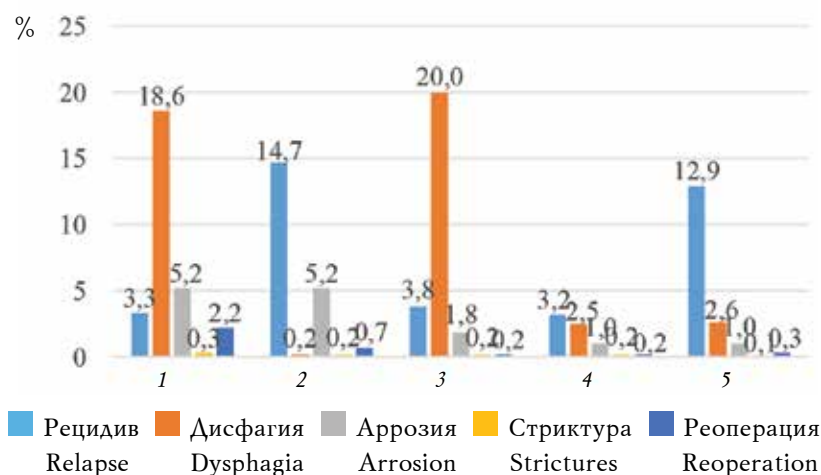


Рисунок. Осложнения и рецидивы после пластики различными видами сетчатых имплантатов, %: 1 – полипропиленовых; 2 – политетрафторэтиленовых; 3 – облегченных; 4 – рассасывающихся; 5 – биологических

Figure. Complications and relapses after plastic surgery with various types of reticular implants, %: 1 – polypropylene; 2 – polytetrafluoroethylene; 3 – lightweight; 4 – biodegradable; 5 – biological

Как следует из рисунка, сетчатые имплантаты способны вызвать ряд серьезных осложнений. В то же время понятно, что решить проблему рецидивов грыж пищеводного отверстия диафрагмы можно с помощью аллопластики. Следовательно, должны быть разработаны четкие показания к аллопластике пищеводного отверстия диафрагмы.

Аллопластика пищеводного отверстия диафрагмы может быть выполнена по четырем основным методикам. Наиболее распространенная методика – onlay – усиление задней крурорафии, т.е. подшивка сетки прямоугольной, треугольной или V-образной формы к обеим ножкам диафрагмы после их сшивания позади пищевода.

В обзоре Furnée и соавт., которые выполнили 924 операции, эта методика использована в 90,0% случаев [2].

В опросе Frantzides и соавт. методика использована в 87,0% пластик [1]. Преимуществом являются лучшие результаты в плане профилактики рецидива, поскольку методика наиболее биомеханически физиологическая, недостатками – контакт переднего края сетки с пищеводом с развитием послеоперационных осложнений, особенно если используется жесткий полипропиленовый имплантат, а также невозможность пластики дефекта впереди пищевода.

Вторая распространенная методика – inlay – ненапряжная пластика, при которой имплантат треугольной формы устанавливается позади пищевода между ножками диафрагмы без их сшивания. Ее преимуществом является возможность пластики гигантских грыжевых дефектов, где невозможно надежно сшить атрофические и распо-

ложенные на большом расстоянии друг от друга ножки диафрагмы. Недостатками данной пластики являются еще большая, чем при первой методике, возможность непосредственного контакта переднего края сетки с пищеводом с развитием послеоперационных осложнений, особенно если используется жесткий полипропиленовый или политетрафторэтиленовый имплантат, и высокая вероятность рецидива за счет менее прочной однослойной пластики, а также пролабирование переднего свободного края имплантата [33]. Поэтому в клинических рекомендациях SAGES по лечению грыж пищеводного отверстия диафрагмы указано, что данную методику применять нельзя.

Третья методика является модификацией первой и заключается в onlay-усилении крурорафии цельной сеткой квадратной или округлой формы с разрезом в виде замочной скважины вокруг пищевода или отдельно сшитых между собой полукруглых участках впереди и сзади от пищевода. Преимуществом является возможность пластики дефекта не только позади пищевода, но и впереди его, недостатком – большая частота послеоперационных осложнений из-за циркулярного столкновения имплантата с пищеводом, что усиливается сморщиванием сетки, особенно при использовании жестких полипропиленовых имплантатов [2]. Так, в исследовании Targarona и соавт., где использовалась такая методика, частота дисфагии составила 62,0% [9].

Последней оперативной техникой является разработанная методика sublay – усиление задней крурорафии, или двухслойной аллопластики, при которой имплантат треугольной формы подшивается позади пищевода к ножкам диафрагмы с обеих сторон, затем ножки сшиваются между собой, полностью изолируя сетку от контакта с пищеводом [34]. Имея опыт применения этой методики с использованием облегченных сетчатых частично рассасывающихся имплантатов Ultrapro, можно охарактеризовать ее как наиболее безопасную за счет отсутствия контакта сетки с пищеводом, и в то же время эффективную в плане профилактики анатомических рецидивов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Аллопластика пищеводного отверстия диафрагмы остается большой и нерешенной хирургической проблемой, о чем свидетельствуют проанализированные литературные источники, в основном обзоры и клинические рекомендации.

Во-первых, аллопластика способна вызвать послеоперационные осложнения с частотой до 20,0% – длительную дисфагию, стриктуры и ар-

розии пищевода, особенно при использовании жестких полипропиленовых и композитных политетрафторэтиленовых сетчатых имплантатов и при методике их циркулярной параззофагальной фиксации. Современные биологические сетки в настоящее время показывают высокую частоту анатомических рецидивов, поэтому большинство специалистов продолжает использовать синтетические имплантаты, из которых наиболее перспективными являются облегченные сетчатые частично рассасывающиеся конструкции.

Во-вторых, до сих пор не разработаны четкие показания к аллопластике, например, в зависимости от размера грыж, который является основным фактором риска рецидива.

В-третьих, до сих пор не определено, каким показателем надо пользоваться для оценки размеров грыж и, следовательно, четко не определено, какие грыжи пищеводного отверстия диафрагмы считаются малыми, какие – большими, а какие – гигантскими, хотя все три термина постоянно используются в медицинской литературе.

В-четвертых, не определена оптимальная методика аллопластики при больших и особенно при гигантских грыжах пищеводного отверстия диафрагмы, которая препятствовала бы развитию анатомических рецидивов и в то же время не вызвала бы послеоперационные осложнения.

Необходимо наметить следующие пути решения этих проблемных вопросов:

1. Разработка эффективных и в то же время безопасных методик аллопластики больших и гигантских грыж пищеводного отверстия диафрагмы.
2. Разработка четких показаний к аллопластике пищеводного отверстия диафрагмы в зависимости от размера грыж.
3. Создание соответствующей прикладной классификации грыж пищеводного отверстия диафрагмы.

Эти задачи могут быть реализованы путем тщательного ретроспективного сравнительного анализа большого клинического материала и проведения проспективного репрезентативного исследования.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Frantzides C.T., Carlson M.A., Loizides S. et al. Hiatal hernia repair with mesh: a survey of «SAGES» members. *Surgical Endoscopy*. 2010; 24 (5): 1017–1024. DOI: 10.1007/s00464-009-0718-6.
2. Furnée E., Hazebroek E. Mesh in laparoscopic large hiatal hernia repair: a systematic review of the literature. *Surgical Endoscopy*. 2013; 27 (11): 3998–4008. DOI: 10.1007/s00464-013-3036-y.

3. Antoniou S.A., Koch O.O., Antoniou G.A. et al. Mesh-reinforced hiatal hernia repair: a review on the effect on postoperative dysphagia and recurrence. *Langenbeck's Archives of Surgery*. 2012; 397 (1): 19–27. DOI: 10.1007/s00423-011-0829-0.
4. Granderath F.A., Schweiger U.M., Kamolz T. et al. Laparoscopic Nissen fundoplication with prosthetic hiatal closure reduces postoperative intrathoracic wrap herniation: preliminary results of a prospective randomized functional and clinical study. *Archives of Surgery*. 2005; 140 (1): 40–48. DOI: 10.1001/archsurg.140.1.40.
5. Soricelli E., Basso N., Genco A. et al. Long-term results of hiatal hernia mesh repair and antireflux laparoscopic surgery. *Surgical Endoscopy*. 2009; 23 (11): 2499–2504. DOI: 10.1007/s00464-009-0425-3.
6. Granderath F.A., Schweiger U.M., Pointner R. Laparoscopic antireflux surgery: Tailoring the hiatal closure to the size of hiatal surface area. *Surgical Endoscopy*. 2007; 21 (4): 542–548. DOI: 10.1007/s00464-006-9041-7.
7. Frantzides C.T., Madan A.K., Carlson M.A., Stavropoulos G.P. A prospective, randomized trial of laparoscopic polytetrafluoroethylene (PTFE) patch repair vs simple cruroplasty for large hiatal hernia. *Archives of Surgery*. 2002; 137 (6): 649–652. DOI: 10.1001/archsurg.137.6.649.
8. Staropoulos G., Flessas I.I., Mariolis-Sapsakos T. et al. Laparoscopic repair of giant paraesophageal hernia with synthetic mesh: 45 consecutive cases. *The American Surgeon*. 2012; 78 (4): 432–435. DOI: 10.17797/c2kvm64ru5.
9. Targarona E.M., Grisales S., Uyanik O. et al. Long-term outcome and quality of life after laparoscopic treatment of large paraesophageal hernia. *World Journal of Surgery*. 2013; 37 (8): 1878–1882. DOI: 10.1007/s00268-013-2047-0.
10. Zhang W., Tang W., Shan C.-X. et al. Dual-sided composite mesh repair of hiatal hernia: Our experience and a review of the Chinese literature. *World Journal of Gastroenterology*. 2013; 19 (33): 5528–5533. DOI: 10.3748/wjg.v19.i33.5528.
11. Stadlhuber R.J., Sherif A.E., Mittal S.K., Fitzgibbons R.J. Jr. Mesh complications after prosthetic reinforcement of hiatal closure: a 28-case series. *Surgical Endoscopy*. 2009; 23 (6): 1219–1226. DOI: 10.1007/s00464-008-0205-5.
12. Chilintseva N., Brigand C., Meyer C., Rohr S. Laparoscopic prosthetic hiatal reinforcement for large hiatal hernia repair. *Journal of Visceral Surgery*. 2012; 149 (3): 215–220. DOI: 10.1016/j.jvisurg.2012.01.006.
13. Griffith P.S., Valenti V., Qurashi K., Martinez-Isla A. Rejection of Goretex mesh used in prosthetic cruroplasty: a case series. *International Journal of Surgery*. 2008; 6 (2): 106–109. DOI: 10.1016/j.ijssu.2007.12.004.
14. Priego P., Ruiz-Tovar J., Perez de Oteyza J. Long-term results of giant hiatal hernia mesh repair and antireflux laparoscopic surgery for gastroesophageal reflux disease. *Journal of Laparoendoscopic and Advanced Surgical Techniques, Part A*. 2012; 22 (2): 139–141. DOI: 10.1089/lap.2011.0340.
15. Priego P., Peres de Oteyza J., Galindo J. et al. Long-term results and complications related to CrurasoftT mesh repair for paraesophageal hiatal hernias. *Hernia*. 2017; 21 (2): 291–298. DOI: 10.1007/s10029-016-1486-6.
16. Geißler B., Birk E., Anthuber M. Report of 12 years experience in the surgical treatment of 286 paraesophageal hernias. *Chirurg*. 2016; 87 (3): 233–240. DOI: 10.1007/s00104-015-0066-0.
17. Kanellos D., Moesta K.T., Schug-Pass C. et al. Hiato-plasty reinforcement by means of a lightweight titanized polypropylene mesh fixed with fibrin glue. *Zentralblatt für Chirurgie*. 2011; 136 (3): 244–248. DOI: 10.1055/s-0030-1247261.
18. Hazebroek E.J., Ng A., Yong D.H.K., Berry H. Evaluation of lightweight titanium-coated polypropylene mesh (TiMesh) for laparoscopic repair of large hiatal hernias. *Surgical Endoscopy*. 2008; 22 (11): 2428–2432. DOI: 10.1007/s00464-008-0070-2.
19. Gebhart A., Vu S., Armstrong C. et al. Initial outcomes of laparoscopic paraesophageal hiatal hernia repair with mesh. *The American Surgeon*. 2013; 79 (10): 1017–1021.
20. Powell B.S., Wandrey D., Voeller G.R. A technique for placement of a bioabsorbable prosthesis with fibrin glue fixation for reinforcement of the crural closure during hiatal hernia repair. *Hernia*. 2013; 17 (1): 81–84. DOI: 10.1007/s10029-012-0915-4.
21. Zehetner J., Lipham J. C., Ayazi S. et al. A simplified technique for intrathoracic stomach repair: laparoscopic fundoplication with Vicryl mesh and BioGlue crural reinforcement. *Surgical Endoscopy*. 2010; 24 (3): 675–679. DOI: 10.1007/s00464-009-0662-5.
22. Chang C.G., Thackeray L. Laparoscopic hiatal hernia repair in 221 patients: outcomes and experience. *Journal of the Society of Laparoendoscopic Surgeons*. 2016; 20 (1): e2015.00104. DOI: 10.4293/jsls.2015.00104.
23. Alicuben E.T., Worrell S.G., De Meester S.R. Impact of crural relaxing incisions, Collis gastroplasty, and non-cross-linked human dermal mesh crural reinforcement on early hiatal hernia recurrence rates. *Journal of the American College of Surgeons*. 2014; 219 (5): 988–992. DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2014.07.937.
24. Bell R.C.W., Fearon J., Freeman K.D. Allograft dermal matrix hiato-plasty during laparoscopic primary fundoplication, paraesophageal hernia repair, and reoperation for failed hiatal hernia repair. *Surgical Endoscopy*. 2013; 27 (6): 1997–2004. DOI: 10.1007/s00464-012-2700-y.
25. Huddy J.R., Markar S.R., Ni M.Z. et al. Laparoscopic repair of hiatus hernia: Does mesh type influence outcome? A meta-analysis and European survey study. *Surgical Endoscopy*. 2016; 30 (12): 5209–5221. DOI: 10.1007/s00464-016-4900-3.
26. Jacobs M., Gomez E., Plasencia G., Lopez-Penalver C. Use of Surgisis mesh in laparoscopic repair of hiatal hernias. *Surgical Laparoscopy, Endoscopy and Percutaneous*

- ous Techniques*. 2007; 17 (5): 365–368. DOI: 10.1097/sle.0b013e318123fc49.
27. Asti E., Lovece A., Bonavina L. et al. Laparoscopic management of large hiatus hernia: five-year cohort study and comparison of mesh-augmented versus standard crura repair. *Surgical Endoscopy*. 2016; 30 (12): 5404–5409. DOI: 10.1007/s00464-016-4897-7.
 28. Oelschlager B.K., Pellegrini C.A., Hunter J.G. et al. Biologic prosthesis to prevent recurrence after laparoscopic paraesophageal hernia repair: long-term follow-up from a multicenter, prospective, randomized trial. *Journal of the American College of Surgeons*. 2011; 213 (4): 461–468. DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2011.05.017.
 29. Lidor A.O., Steele K.E., Stem M. et al. Long-term quality of life and risk factors for recurrence after laparoscopic repair of paraesophageal hernia. *Journal of the American Medical Association Surgery*. 2015; 150 (5): 424–431. DOI: 10.1001/jamasurg.2015.25.
 30. Latzko M., Borao F., Squillaro A. et al. Laparoscopic repair of paraesophageal hernias. *Journal of the Society of Laparoendoscopic Surgeons*. 2014; 18 (3): e2014.00009.
 31. Ward K.C., Costello K.P., Baalman S. et al. Effect of acellular human dermis buttress on laparoscopic hiatal hernia repair. *Surgical Endoscopy*. 2015; 29 (8): 2291–2297. DOI: 10.1007/s00464-014-3946-3.
 32. Antoniou S.A., Pointner R., Granderath F.A. et al. The use of biological meshes in diaphragmatic defects – an evidence based review of the literature. *Frontiers in Surgery*. 2015; 2 (10): 56–64. DOI: 10.3389/fsurg.2015.00056.
 33. Kohn G.P., Price R.R., De Meester S.R., Zehetner J. Guidelines for the management of hiatal hernia. *Surgical Endoscopy*. 2013; 27 (12): 4409–4428. DOI: 10.1007/s00464-013-3173-3.
 34. Grubnik V.V., Malynovskyy A.V. Laparoscopic repair of hiatal hernias: new classification supported by long-term results. *Surgical Endoscopy*. 2013; 27 (11): 4337–4346. DOI: 10.1007/s00464-013-3069-2.

Сведения об авторе:

Розенфельд Игорь Игоревич, канд. мед. наук, доцент, кафедра патологической физиологии, ТГМУ, г. Тверь. ORCID iD0000-0002-0702-676x.

(✉) Розенфельд Игорь Игоревич, e-mail: iiggo@mail.ru.

Author information

Rosenfeld Igor I., PhD, Associate Professor, Department of Pathological Physiology, Tver State Medical University, Tver, Russian Federation. ORCID iD0000-0002-0702-676x.

(✉) Rosenfeld Igor I., e-mail: iiggo@mail.ru.

Поступила в редакцию 28.03.2018
Подписана в печать 11.06.2019

Received 28.03.2018
Accepted 11.06.2019

Экспериментальные модели дерматологических заболеваний

Сергеева О.Н., Аксененко М.Б., Фефелова Ю.А., Сергеева Е.Ю., Рукша Т.Г.

Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого (КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого)

Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

РЕЗЮМЕ

В статье представлен анализ экспериментальных моделей атопического дерматита, псориаза, кожных проявлений аутоиммунных системных заболеваний соединительной ткани, буллезных дерматозов. Описаны экспериментальные модели, отражающие различные стадии и типы атопического дерматита, позволяющие исследовать патогенез заболевания. Атопический дерматит может развиваться спонтанно, у мышей инбредной линии Nc/Nga существуют модели атопического дерматита, вызываемые введением аллергенов, моноклональных IgE либо при эпитактантной сенсibilизации, когда имитируется дисфункция дермального барьера. Генетически модифицированные модели атопического дерматита – трансгенные и нокаутные мыши – удобны для изучения стадийности заболевания, роли цитокинов, антигенпрезентирующих клеток и Т-лимфоцитов в патогенезе. Показано, что модели псориаза, полученные методами генной инженерии, наиболее удобны для исследования роли специфических факторов или определенного вида клеток в развитии заболевания. У трансгенных мышей происходит повышение экспрессии молекул адгезии, цитокинов, факторов транскрипции и медиаторов воспаления как в кератиноцитах, так и в клетках иммунной системы, что позволяет выявить их роль в патогенезе псориаза. Описаны варианты моделей кожных проявлений системных аутоиммунных заболеваний соединительной ткани, буллезных дерматозов с генетическими изменениями и без применения генетических модификаций. Каждая модель отражает те или иные особенности патогенеза и клинической картины, комплексное их использование позволит наиболее эффективно исследовать механизмы развития атопического дерматита, псориаза, поражений кожи при системных аутоиммунных заболеваниях соединительной ткани, буллезных дерматозах, способствуя созданию современных эффективных методов лечения.

Ключевые слова: животные модели, атопический дерматит, псориаз, системные аутоиммунные заболевания соединительной ткани, буллезные дерматозы.

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

Для цитирования: Сергеева О.Н., Аксененко М.Б., Фефелова Ю.А., Сергеева Е.Ю., Рукша Т.Г. Экспериментальные модели дерматологических заболеваний. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 203–213. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-203-213>.

Experimental models of dermatological diseases

Sergeeva O.N., Aksenenko M.B., Fefelova Yu.F., Sergeeva E.Yu., Ruksha T.G.

Krasnoyarsk State Medical University n.a. prof. V.F. Voyno-Yasenetsky (KrasSMU n.a. prof. V.F. Voyno-Yasenetsky) 1, P. Zheleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

✉ Сергеева Ольга Николаевна, e-mail: On_210@mail.ru.

ABSTRACT

This review presents analysis of experimental models of atopic dermatitis, psoriasis, skin symptoms of autoimmune systemic connective tissue diseases, and blistering skin diseases. Presented in the review are experimental models of atopic dermatitis which reproduce various stages and types of disease that allows the investigation of disease pathogenesis. Atopic dermatitis can develop spontaneously in Nc/Nga mice. There are atopic dermatitis models initiated by monoclonal IgE injection or epicutaneous sensitization under dermal barrier dysfunction imitation. Genetically modified atopic dermatitis models - transgenic and knockout mice - are convenient for investigation of disease stages, cytokines, antigen-presenting cells and T-cells influence. We show that the psoriasis models created by genetic engineering methods are the most convenient for investigation of the role of particular cell types and specific factors in the disease development. Up-regulation of adhesion molecules, cytokines, transcription factors, inflammation mediators in both keratinocytes and immune cells of transgenic mice reveals their influence on psoriasis pathogenesis. There are descriptions of skin symptom models of autoimmune systemic connective tissue diseases and blistering skin disease models with and without genetic modifications. Each model demonstrates some peculiarities of pathogenesis and disease symptoms, whereas combined use of the models will allow to study the mechanisms of development of atopic dermatitis, psoriasis, blistering skin diseases and skin lesions under autoimmune systemic connective tissue diseases, that will contribute to the development of modern effective methods of treatment.

Key words: animal models, atopic dermatitis, psoriasis, autoimmune systemic connective tissue diseases, blistering skin diseases.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

For citation: Sergeeva O.N., Aksenenko M.B., Fefelova Yu.F., Sergeeva E.Yu., Ruksha T.G. Experimental models of dermatological diseases. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 203–213. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-203-213>.

ВВЕДЕНИЕ

Для лучшего понимания вопросов патогенеза кожных заболеваний и, в частности, роли ангиогенеза, а также разработки новых фармакологических подходов к лечению различных дерматозов в последние годы все чаще прибегают к биомоделированию [1].

Существуют мышинные модели дерматологических болезней в результате спонтанных мутаций, например, у мышей, гомозиготных по мутантному аллелю *Scd1ab/Scd1ab*, спонтанно развиваются псориазоподобные изменения кожи. К генетически модифицированным моделям относятся трансгенные и нокаутные мыши. В геном трансгенных животных интегрирована дополнительная генетическая информация, а у нокаутных мышей заблокирована экспрессия одного или нескольких генов. Иногда картина заболевания воспроизводится путем введения определенных веществ или при трансплантации клеток [2]. Так, при пассивной сенсibilизации мышей воспроизводится модель атопического дерматита (АтД), позволяющая изучать реакции как гуморального, так и клеточного иммунитета при этом заболевании. Используются методы, позволяющие ими-

тировать дисфункцию дермального барьера, что приводит к появлению симптомов атопического дерматита. При аутоиммунных заболеваниях используются модели, в которых иммунизация сочетается с физическим воздействием, например, ультрафиолетовым облучением, что приводит к фотосенсибилизации. Кроме того, при моделировании кожных проявлений аутоиммунных болезней используются иммунодефицитные, в частности бестимусные, мыши [3].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА

Атопический дерматит представляет собой хроническое, рецидивирующее воспалительное кожное заболевание. Изучение патофизиологии атопического дерматита сконцентрировано на иммунных нарушениях и снижении функции эпидермального барьера [4]. Существуют спонтанно развивающиеся модели АтД, вызванные действием аллергенов, и генетически модифицированные модели.

К спонтанно развивающимся моделям атопического дерматита относятся мыши инбредной линии Nc/Nga, они выведены путем близкородственного скрещивания в 1957 г. в Японии и явля-

ются, по сути, первой моделью АтД. Спонтанные нарушения возникают на коже данных животных независимо от воздействий факторов внешней среды. АтД-подобные изменения на коже наблюдаются именно при содержании животных в условиях обычного вивария, а не в SPF (specific pathogen free) блоке, в котором используются высокоэффективные современные барьерные технологии. При гистологическом исследовании кожи у них отмечаются выраженная эозинофильная и мононуклеарная инфильтрация, гиперкератоз, гиперплазия и спонгиоз. Другие линии мышей, таких как DS-Ng, рассматриваются в качестве альтернативной модели АтД. Кроме того, у животных также имеется интенсивная колонизация кожи *S. aureus*. Последнее позволяет рассматривать мышей данной линии в качестве хорошей модели *S. aureus*-ассоциированного АтД [5].

Существуют модели атопического дерматита, вызываемые аллергенами, например, модель пассивной сенсибилизации. Данная модель демонстрирует IgE-опосредованную воспалительную реакцию кожи, которая моделируется путем внутривенной инъекции мышинных моноклональных IgE. Через несколько минут после инъекции на коже животного визуализируется воспалительная реакция. Эту модель можно использовать для изучения аллергических реакций, развитие которых опосредовано эффектом IgE-сенсибилизированных тучных клеток на ткань. Реакция сохраняется в течение 24–48 ч, что может быть, в свою очередь, использовано для исследования антиген-специфического запуска сенсибилизированных Т-лимфоцитов [6].

При создании модели эпикутанной сенсибилизации на кожу неоднократно наносятся различные аллергены путем использования специальной ленты для отделения рогового слоя эпидермиса. В качестве аллергенов используют овальбумин, клещей домашней пыли и различные гаптены. При снятии данной ленты имитируется дисфункция дермального барьера, что позволяет аллергену лучше контактировать с кожными покровами. У животных, сенсибилизированных подобным способом, с одной стороны, в ткани определяются следующие изменения: большое количество CD4⁺ Т-лимфоцитов, эозинофильная инфильтрация кожи, повышенная экспрессия Th2, а также гиперэкспрессия цитокинов (IL-4, IL-13, IL-5, IFN γ) [7]. С другой стороны, животные, которые были сенсибилизированы рекомбинантным аллергеном клещей домашней пыли, имели аналогичные изменения: эпидермальную гиперплазию и спонгиоз, инфильтрацию дермы CD4⁺, CD8⁺-положи-

тельными клетками, а также локальное и системное повышение экспрессии Th2. Известно, что повышение уровня цитокинов, вырабатываемых Th2, является характерным признаком ранних повреждений кожи при АтД [8, 9]. Использование оксазолон и тринитрохлорбензола в качестве гаптенных для воссоздания данной модели приводит к формированию Th1-опосредованного воспаления. При повторном применении оксазолон индуцируется как Th1, так и Th2-опосредованное воспаление, характерное для поздних повреждений. Особенности хронического воспаления кожи при АтД являются гиперплазия эпидермиса, а также снижение экспрессии белков, участвующих в дифференцировке клеток кожи, включая филаггрин, лорикрин, инволюкрин [10].

К генетически модифицированным мышинным моделям атопического дерматита относится модель мышей с шелушащимся хвостом. Эти мыши имеют генотип (FLGft), у животных не экспрессируется филаггрин в роговом слое эпидермиса. У данной линии не образуется нормальный кератогиалин F и отсутствует протеолитическая обработка филаггрина. У мышей FLGft наблюдаются экзематозные поражения кожи, имитирующие атопический дерматит человека. Формирование патологических изменений происходит через 28 нед после воздействия на организм животного патогенного фактора внешней среды и сопровождается прогрессирующим увеличением в сыворотке крови IgE и IgG1. В коже животных наблюдаются явления эпидермальной гиперплазии, усиленная инфильтрация CD4⁺-положительными клетками, повышенная экспрессия IL-17, IL-6, IL-23. При этом в возрасте 32 нед наблюдается также повышение экспрессии мРНК IL-4, вырабатываемого Th2, что является признаком ранней стадии заболевания [11].

Спонтанное развитие АтД с умеренной эпидермальной гиперплазией, гиперкератозом и паракератозом, лихенификациями и кожным зудом происходит у аполипопротеин C1-трансгенных мышей, изначально предназначенных для моделирования гиперлипидемии [12].

Наиболее точное воспроизведение АтД выявлено у NC/Tnd линии мышей. Данный вид животных представляет собой инбредный штамм, происходящий из линии NC/Nga. Эта модель развивается у 6–8-недельных животных, без дополнительной коррекции воздушного режима в помещении. Содержание церамида в коже таких мышей значительно снижается, что позволяет говорить о наличии трансэпидермальной потери воды у животных в результате АтД [13].

К трансгенным моделям АтД относятся трансгенные мыши по IL-4. У мышей данной модели спонтанно развивается АтД в возрасте 4 мес. Помимо высыпаний и кожного зуда, у животных наблюдается повышенная экспрессия IL-4. Эта модель оптимальна для изучения стадийности течения заболевания [14]. Существуют трансгенные мыши по химотрипсину рогового слоя кожи. Повышенная экспрессия химотрипсина рогового слоя у мышей приводила к развитию АтД-подобного поражения кожи. Особенностью трансгенных мышей по IL-13 является то, что данные мыши имеют повышенную экспрессию IL-13, при этом сывороточная концентрация IgE в отличие от других экспериментальных моделей у животных снижена [15].

Модель NOA (Naruto Research Institute Otsuka Atrichia) характеризовалась появлением изъязвлений на коже мышей, увеличением количества тучных клеток в дерме, а также увеличением экспрессии IgE. При помощи этой модели изучаются отдельные кожные морфологические элементы при АтД.

Модель TSLP (The cytokine thymic stromal lymphopoietin) представляет собой трансгенную модель, формируемую у мышей. На коже животных через 2–3 нед после лечения доксициклином формируется эритема. Картина заболевания постепенно прогрессирует, и спустя 3–4 нед полностью трансформируется в клиническую картину АтД. На коже животных виден умеренный ксероз, появляются эрозии, которые впоследствии покрываются корками. При проведении гистологического исследования наблюдаются изменения аналогичные тем, которые определяются у человека при АтД. Кроме того, у животных отмечается повышение активности IL-4, IL-5 и TNF α . В сыворотке крови повышаются IgE и IgG1 и снижается IgG2a [16]. Каспаза-1 и IL-18 трансгенные мыши демонстрируют повышение экспрессии гена, предшественника каспазы-1 человека в эпидермальных кератиноцитах. У мышей данной линии наблюдаются увеличение экспрессии в сыворотке крови IgE и IgG1, а также умеренный кожный зуд вокруг глаз и ушей. При гистологическом исследовании в коже выявляются акантоз, папилломатоз, паракератоз, внутриклеточный отек дермы с наличием плотной лимфоцитарной и нейтрофильной инфильтрации. Но при этом у животных отсутствует локальное увеличение эозинофилов в тканях [17].

Катепсин Е нокаутные животные – модель воссоздается на мышах линии C57Bl6, у животных образуются зудящих кожных элементы: эрозии, эритемы, корки, при этом на коже идентифицируется *S. aureus* в большом количестве. Данные

животные рассматриваются в качестве хорошей модели для изучения роли антигенпрезентирующих клеток в патогенезе АтД [18].

Таким образом, существующие модели АтД воспроизводят определенные особенности морфологической и клинической картины болезни, позволяют изучать различные стадии заболевания, воздействовать на ключевые звенья патогенеза.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ ПСОРИАЗА

Псориаз представляет собой хроническое иммуноопосредованное воспалительное заболевание кожи, характеризующееся появлением эритематозных бляшек на теле с выраженным шелушением [19]. Для псориаза характерна гиперпролиферация кератиноцитов, обусловленная нарушением регуляции на уровне Th17 и ряда других клеток иммунной системы. Ангиогенез играет значимую роль в патогенезе псориаза, так, важной особенностью начала заболевания является нарушение микроциркуляции [20]. Установлено повышение экспрессии VEGF и CXCL8/IL-8 в кератиноцитах пациентов с псориазом, а плазменный уровень VEGF коррелирует с площадью поражения и индексом тяжести поражения. В области псориатических бляшек повышена плотность IL-17A1 Т-лимфоцитов, тучных клеток и нейтрофилов. Интерлейкин 17A способен повышать уровень VEGF-A и CXCL8/IL-8. Полиморфизмы VEGF, возможно, создают предпосылки для развития псориаза. Показано, что уровень экспрессии VEGFRs, а также нейропептинов NRP1 и NRP2 в псориатических кератиноцитах значительно выше, чем в контрольной группе [21, 22].

Интерлейкин 33, продуцируемый кератиноцитами, гиперэкспрессируемый в коже больных псориазом, потенцирует Р-индуцируемую секрецию VEGF тучными клетками. Происходит индукция ангиопоэтинов 1 и 2, тирозинкиназного рецептора Tie2 в дерме кожи при псориазе, значение Tie2 для потенцирования хронического воспаления показана на трансгенных мышинных моделях [23].

При использовании мышинных моделей для исследования псориаза необходимо учитывать ряд особенностей. Дерма человеческой кожи значительно толще мышинной, эпидермис многослоен. Иммунные клетки эпидермиса человека преимущественно представлены клетками Лангерганса и CD8+ Т-лимфоцитами, в то время как у мышей – дендритными Т-клетками. Много различий, касающихся реакций врожденной и приобретенной иммунной защиты: различная активность лейкоцитов, дефензинов,

Толл-подобных рецепторов, NO-синтазы; различия в балансе между цитокинами, хемокинами и их рецепторами; различные особенности дифференциации Th1/Th2 лимфоцитов и антигенпрезентирующей функции эндотелиальных клеток [24].

Мышиные модели при псориазе подразделяются на четыре группы: 1) модели, при которых заболевание развивается спонтанно; 2) генетически измененные мыши (трансгенные и нокаутные); 3) трансплантационные модели; 4) мыши, у которых заболевание индуцируется прямым воздействием [25].

Существует около 100 мутаций, при которых у мышей спонтанно развиваются фенотипические особенности, присущие псориазу, такие как утолщение эпидермиса и формирование бляшек. Тем не менее вследствие отсутствия инфлюкса Т-лимфоцитов в кожу, эти модели преимущественно используются для изучения отдельных аспектов данного заболевания – гиперкератоза, регуляции воздействия нейтрофилов, ангиогенеза [26].

Гомозиготные *Scd1lab/Scd1lab* мыши являются первой моделью с развивающимся гиперкератозом. Данная мутация приводит к отсутствию сальных желез, поэтому кожа мышей становится чешуйчатой, с эпидермальным акантозом, повышенной васкуляризацией, инфлюксом макрофагов и тучных клеток. Избыточный рост дермы сопровождается повышенным содержанием в ней фибробластов. Тем не менее отсутствие влияния Т-лимфоцитов и нейтрофилов на патологический процесс ограничивает возможности использования этой модели [27].

У мышей с аутосомно-рецессивной мутацией *Ttc^{fsn}/Ttc^{fsn}* через две недели после рождения развиваются чешуеобразные изменения кожи и происходит индукция воспаления, в дальнейшем сопровождающаяся гиперкератозом. Развиваются лимфаденопатия, аккумуляция тучных клеток и повышенный инфлюкс нейтрофилов в кожу, также отмечаются увеличение числа рецепторов к эпидермальному фактору роста и повышение уровня IgE. Недостатками этой модели являются отсутствие реакции на иммуносупрессивную терапию и короткая продолжительность жизни животных [28].

К развитию спонтанного пролиферативного хронического дерматита приводит мутация *Sharpin^{cpdm}/Sharpin^{cpdm}*. У мышей появляются симптомы псориаза: кожа становится красной и покрытой хлопьевидными образованиями, усиливается васкуляризация, в коже повышается уровень эозинофилов, макрофагов, тучных клеток [29].

В животных моделях псориаза, полученных методами генной инженерии, мишенью, как пра-

вило, являются единичные гены или их продукты, что необходимо для выявления роли специфических факторов или определенного вида клеток в патогенезе заболевания.

В трансгенных мышиных моделях воспроизводится повышение экспрессии молекул адгезии, цитокинов, факторов транскрипции и медиаторов воспаления как в кератиноцитах, так и в клетках иммунной системы для определения участия этих клеток в инициации псориаза. Эпидермальная гиперэкспрессия данных молекул под контролем промоторов, действующих в базальном эпидермальном слое, таких как кератин 5 (K5), кератин 14 (K14), а также белков, функционирующих в супрабазальных эпидермальных слоях, включая инволюкрин и кератин 10, индуцирует развитие псориазоподобных заболеваний в трансгенных мышиных моделях [30].

PL/J/CD18 трансгенная модель характеризуется мутациями в лейкоцитарных $\beta 2$ интегринах, регулирующих межклеточные контакты при воспалении. У PL/J/CD18 мышей происходит инфильтрация кожи Т-лимфоцитами, развиваются гиперплазия, усиленная пролиферация кератиноцитов с паракератозом, формирование микроабсцессов, разрастание капилляров дермы; активированные макрофаги высвобождают большое количество TNF α , одного из главных регуляторов воспаления [31].

Интерлейкин 1 экспрессируется в кератиноцитах. Этот цитокин является ключевым регулятором множества процессов, ассоциирующихся с воспалением и иммунным ответом организма: активация провоспалительных цитокинов, продукция факторов адгезии, активация пролиферации нейтрофилов, моноцитов, В-лимфоцитов. Трансгенные модели с повышением экспрессии IL-1 α в эпидермисе мышей характеризуются повышенной инфильтрацией кожи лейкоцитами, что приводит к повышению пролиферации кератиноцитов [25].

Семейство IL-17 цитокинов играет важную роль в защите организма против патогенных факторов за счет стимуляции выработки ряда белков и провоспалительных цитокинов. Установлено, что при псориазе наиболее значительно увеличиваются IL-17A и IL-17C. У трансгенных K14-IL-17A^{ind/+} мышей в воспаленной коже повышается уровень эффекторных Т-лимфоцитов вследствие присутствия T-bet and ROR γ t, а также их хемоаттрактантов: макрофагального воспалительного белка 1 α и макрофагального воспалительного белка 1 β . Кроме того, у этих животных экспрессирующие нейтрофилы IL-6R способствуют образованию микроабсцессов [32].

В коже K5-IL-17C трансгенных мышей выявлены утолщение эпидермиса, гиперплазия, отсутствие зернистого слоя эпидермиса, усиление паракератоза. При анализе экспрессии маркера дифференцировки кератиноцитов лорикрина установлено, что процесс остановился на ранних стадиях развития клеток. В коже мышей этой линии стимулируется ангиогенез, усиливается инфлюкс в кожу как CD4+, так и CD8+ Т-лимфоцитов, макрофагов, миелоидных дендритных клеток, повышенный уровень транскрипции следующих провоспалительных факторов: IFN γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-17A, IL-23, S100A8, S100A9, TNF α [33].

Интерферон играет важную роль при воспалении и в реализации Th1 иммунного ответа. У трансгенных мышей с повышением экспрессии этого фактора развиваются гиперемия кожи, воспаление с появлением хлопьевидных образований, потеря волос и их гипопигментация, утолщение эпидермиса вследствие гиперпролиферации кератиноцитов [26].

K14-VEGF-трансгенные мыши демонстрируют развитие хронического воспаления с повышенной дермальной васкуляризацией. У этих мышей также отмечаются повышенная пролиферация, нарушенная дифференциация кератиноцитов, а также инфильтрация кожи иммунными клетками, что соответствует морфологической картине у пациентов с псориазом. Предполагают, что VEGF обладает прямым пролиферативным эффектом на кератиноциты эпителия и активирует иммунные клетки. Блокада активности VEGF специфическими антителами в индуцибельной K5-JunB/c-Jun мышинной модели значительно снижает симптомы псориаза. Повышение васкуляризации и уровня VEGF происходит у следующих трансгенных моделей: K5-latent-TGF- β 1⁵⁸, K5-STAT3C⁴⁸, K5-Tie2⁹⁷, K5-PPAR β / γ ⁶⁵, K14-p40⁶⁹, K14-VEGF¹⁰³, K14-amphiregulin¹⁰⁴, K10-BMP-6¹⁰⁵, Invol-integrin α 2, α 5 ILи β 1¹⁰⁶, Invol-amphiregulin¹⁰⁷, Invol-IFN- γ ¹⁰⁸ [34, 35].

Белки c-Jun и JunB являются регуляторами дифференцировки клеток эпителия. Нокаут этих факторов в коже мышей в постнатальном периоде приводит к появлению симптомов псориаза и артрита. Измененная патологическим процессом кожа инфильтрирована нейтрофилами и лимфоцитами. Такие факторы, как IFN-, IL-12, IL-18, присутствуют в низких концентрациях или полностью отсутствуют [36].

Нокаут антагониста IL-1 рецептора Il1rn(-/-) в инбредной линии мышей BALB/c приводит к развитию воспаления, инфлюксу дендритных клеток и Т-лимфоцитов в кожу. Эпидермис становится

утолщенным, с развитием паракератоза и микроабсцессов, происходит усиление васкуляризации кожи [29].

Значительные отличия кожи человека от кожи мышей обусловили появление ксенотрансплантационных моделей псориаза, использование которых нивелирует данный фактор. Осуществляется трансплантация участка кожи пациента с псориазом или отдельных клеток, полученных при культивации *in vitro*, мышам с иммунодефицитом. Такие трансплантаты способны в течение нескольких месяцев сохранять симптомы псориаза [37].

ЗАБОЛЕВАНИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ И ИХ ДЕРМАТОЛОГИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ

Для патогенеза системных аутоиммунных заболеваний соединительной ткани характерно сочетание воспаления, васкулопатии и фиброза, развивающегося в коже и внутренних органах. Как правило, сосудистые нарушения начинаются в самом начале болезней до развития фиброза. Взаимодействие между аутоиммунным процессом, сосудистой патологией и фиброзом является промотором прогрессивного повреждения тканей. Аутоиммунные реакции и сосудистые нарушения развиваются в раннюю стадию заболеваний и играют важную роль в прогрессии фиброза. При системных аутоиммунных заболеваниях соединительной ткани выявлено нарушение баланса между проангиогенными и антиангиогенными факторами [38].

Одной из характерных особенностей системного склероза является нарушение микроциркуляции. В коже пациентов с этим заболеванием выявлена гиперэкспрессия VEGF-A. Происходит «переключение» экспрессии проангиогенной изоформы VEGF-A₁₆₅a на антиангиогенную изоформу VEGF-A₁₆₅b. Источником первой и второй изоформ является один и тот же транскрипт, их соотношение обусловлено альтернативным сплайсингом. В норме превалирует VEGF-A₁₆₅a изоформа, активирующая рецептор VEGF (VEGFR-2). Нейропилин (NRP1) усиливает аффинность VEGF-A₁₆₅a к VEGFR-2, что способствует процессу ангиогенеза. В коже пациентов с системным склерозом преобладает изоформа VEGF-A₁₆₅b, которая связывается с VEGFR-2 с аффинностью, равной таковой у VEGF-A₁₆₅a, но не взаимодействует с NRP1. Результатом этого являются недостаточное фосфорилирование рецептора и нарушение процесса ангиогенеза [39].

К сожалению, животные модели данных заболеваний не могут воссоздать полностью реальную

клиническую картину вследствие существующих различий на уровне иммунной системы человека и животных. Поскольку нарушения в иммунной системе лежат в основе патогенеза аутоиммунных заболеваний, то экстраполирование данных с биомоделей на реальных пациентов с аутоиммунными заболеваниями имеет ряд ограничений. Главным и обязательным фактором для формирования аутоиммунного заболевания является генетическая предрасположенность. Ряд генов определяет эту предрасположенность к заболеванию. Другая часть генов определяет клетки и ткани мишени, против которых направлена аутоиммунная реакция.

Экспериментальные модели аутоиммунных заболеваний можно разделить на несколько групп. Существуют инбредные мыши, у которых спонтанно развивается системная красная волчанка. Реакция «трансплантат против хозяина» индуцирована гибридными мышами F1, инъецированными родительскими лимфоидными клетками. Следующая группа – биомодели аутоиммунных заболеваний, которые развиваются после иммунизации животного и последующего дополнительного ультрафиолетового облучения для развития фотосенсибилизации. Используются также иммунодефицитные мыши, такие как SCID (severe combined immuno deficiency). У данных животных возникает тяжелый иммунодефицит в результате мутаций в генах RAG (recombination activation genes), которые отвечают за перегруппировку генов иммуноглобулинов и Т-клеточного рецептора. В эту группу можно отнести Nude (лишенных волосяного покрова) мышей. У животных отсутствует тимус, что делает их также удобной биомоделью для воссоздания заболевания человека. Кроме вышеуказанных вариантов, для исследования дерматологических проявлений аутоиммунных заболеваний соединительной ткани созданы трансгенные модели, а также нокаутные животные [40].

Для моделирования аутоиммунных заболеваний без применения генетических модификаций используются мыши линии MRL/lpr. У животных данной линии имеется мутация lpr, которая приводит к изменению в гене *Fas*. У мышей нарушается процесс апоптоза и происходит неконтролируемая пролиферация лимфоцитов с аномальными функциями, а также образование аутоантител. Для работы применяют самок мышей в возрасте 6–8 нед, нерожавших ранее. Животные транспортируются из питомника и далее содержатся исключительно в SPF-условиях. У мышей происходит спонтанное развитие системной красной волчанки. При гистологическом исследовании кожи данных

мышей в дерме определяются воспалительные инфильтраты, которые состоят из Т-лимфоцитов и иммуноглобулинов или компонентов комплемента дермально-эпидермального соединения. Помимо поражения кожи у мышей линии MRL/Mp-lpr развивается еще и алопеция с образованием рубцов и эритематозных изменений [41].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ БУЛЛЕЗНЫХ ДЕРМАТОЗОВ

Буллезные дерматозы включают, в том числе, пузырчатку, буллезный эпидермолиз, буллезный пемфигоид. Пузырчатка представляет собой аутоиммунное заболевание, при котором на коже и слизистых оболочках пациента формируются пузырьные элементы. Характерной чертой заболевания является потеря нормальной адгезивной способности клеток в результате образования аутоантител к десмоглеинам. Вышеуказанные белки относятся к группе трансмембранных гликопротеинов, образующихся в десмосомах. Выделяют четыре формы истинной пузырчатки: вульгарную, эксфолиативную (листовидную), вегетирующую и себорейную [42].

При эксфолиативной пузырчатке формируются аутоантитела против десмоглеина-1. Под их воздействием возникает акантолиз в поверхностных слоях эпидермиса. На начальных этапах вульгарной пузырчатки антитела присутствуют только против десмоглеина-3 без появления антител к десмоглеину-1. Поэтому при данной форме заболевания пузыри локализуются глубоко в слизистой оболочке. На коже образуются хрупкие пузыри, которые быстро вскрываются. На месте пузырей появляются эрозии, которые постепенно эпителизируются [43].

Каждая из форм пузырчатки имеет наиболее характерную клиническую локализацию. Вульгарная пузырчатка начинается с образования пузырей на слизистой оболочке полости рта. Постепенно в патологический процесс вовлекаются все кожные покровы. Отличительной особенностью вегетирующей пузырчатки является то, что вегетации наиболее выражены на коже в местах трения, а также в районе кожных складок. Для листовидной пузырчатки типичны высыпания на лице и себорейных зонах (волосистой части головы, лба, носогубного треугольника, области ушных раковин, передней поверхности груди и межлопаточной области). Пузыри при данной форме очень хрупкие. Себорейная форма сопровождается образованием пузырей в центре лица по типу «бабочки» и в себорейных зонах. Пузыри при этой форме влажные и покрыты корками [44].

Существует два основных варианта моделей с пассивным переносом антител. Для создания модели первого варианта используют новорожденных мышат линии Balb/c. Животным вводится фракция IgG, полученная от больных пузырчаткой в дозе 1,5–16 мг/г массы тела, либо IgG в дозе 1,5 мг/г массы тела, но дополнительно осуществляется введение 90 мкг/г массы тела антител к десмоглеину-3. На коже и слизистых оболочках реципиентов формируются пузыри и эрозии. При прекращении введения иммуноглобулинов эрозии эпителизируются. Модель имеет ряд недостатков: у новорожденных мышей не развиты волосные фолликулы и ниши стволовых клеток; использование взрослых особей является более предпочтительным, так как пузырчаткой болеют люди старшего и пожилого возраста, что делает биомодель более достоверной. Важным достоинством данной модели является то, что применение новорожденных животных не требует большого количества специфических иммуноглобулинов, что существенно сокращает расходы на воссоздание модели [45].

Для создания модели второго варианта применяют половозрелых мышей 8-недельного возраста линии C57Bl/6J, обоего пола. Животным производится однократная инъекция моноклональных мышинных антител против десмоглеина-3 в дозе 12 мкг/г массы тела. Существует альтернативный вариант, когда животному производится однократная инъекция в дозе 2,5 мкг/г массы тела моноклональных мышинных антител против десмоглеина-3 и параллельно с ними вводится нормальный IgG мыши в дозе 5 мкг. В результате на коже и слизистых оболочках животных моделируется характерный кожный процесс [45].

Для создания биомодели с переносом аутореактивных лимфоцитов необходимы животные, нокаутные по гену десмоглеина-3. Мыши иммунизируются рекомбинантным десмоглеином-3 для получения антител к последнему. На следующем этапе производится пересадка клеток селезенки от иммунизированных мышей к неиммунизированным мышам линии Rag2-/-/. Животные данной линии обладают выраженным иммунодефицитом, но при этом у них синтезируется десмоглеин-3, поскольку его ген не заблокирован, что приводит к развитию патологического процесса на коже [46].

Буллезный эпидермолиз представляет собой группу генодерматозов, при которых происходит образование пузырей и эрозий на коже и слизистых оболочках после их механической травматизации. Данную патологию называют еще «болезнь бабочки» из-за характерной для данных

пациентов чрезмерной хрупкости и уязвимости кожных покровов [44].

При простом буллезном эпидермолизе аутоантитела взаимодействуют с коллагеном VII типа (COL-7), образующим якорные фибриллы дермально-эпидермальных соединений. Животная модель буллезного эпидермолиза базируется на пассивном введении COL-7 специфических человеческих или кроличьих антител или посредством прямой иммунизации мышей аутоантигенами [47].

При активной иммунизации мышам дикого типа вводят иммуногенный белок COL-7 эпитопа. Через 4–8 нед у мышей формируется соответствующий фенотип, для которого характерно образование субэпидермальных пузырей, локализованных преимущественно в области ушей и вокруг глаз животного. Эта модель используется как для изучения инициальных этапов аутоиммунизации и потери толерантности с появлением COL-7-специфичных Т- и В-лимфоцитов, так и для исследования механизмов инициированного аутоантителами повреждения тканей организма и развивающегося в них воспаления [48].

Трансгенные животные модели были разработаны для всех видов буллезного эпидермолиза. Особый интерес представляет применение животных моделей для тестирования генной, белковой и клеточной терапии буллезного эпидермолиза.

Буллезный пемфигоид – одна из разновидностей буллезного эпидермолиза аутоиммунной природы, при котором на коже образуются пузыри, папулы и волдыри. Одним из основных отличий буллезного пемфигоида от истинной пузырчатки является отсутствие в коже акантолиза. Аутоантитела взаимодействуют с буллезными пемфигоидными антигенами BPAG1 (bullous pemphigoid antigen-1) и BPAG2 (bullous pemphigoid antigen-2) в полудесмосомах базальных кератиноцитов с дальнейшей активацией и привлечением в очаг нейтрофилов и эозинофилов [44].

Попытка воссоздать на мышах данное заболевание путем пассивного переноса человеческих аутоантител от пациента с буллезным пемфигоидом не увенчалась успехом. Данный факт связан с тем, что аминокислотная последовательность патогенного эпитопа коллагена XVII типа (COL-17) у человека и животных различна [49]. Эта проблема была решена с помощью «гуманизации» – искусственной модификации генома животных, в результате которой их организм становится способным синтезировать белок, специфичный для человека.

Существуют «активные» животные модели буллезного пемфигоида, в которых используют трансгенных мышей. В базальной мембране

клеток таких мышей экспрессируется человеческий коллаген XVII типа. Кожные трансплантаты COL-17-трансгенных мышей пересаживались сингенным мышам дикого типа для индукции выраженного COL-17-специфического IgG-ответа, приводящего к инициации клинической картины буллезного пемфигоида. В 2010 г. эта модель была усовершенствована Li и соавт., которые вводили спленоциты мышей дикого типа, иммунизированных человеческим COL-17, иммунодефицитным Rag-2-/-/COL17-гуманизированным мышам [50].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, существует множество моделей, позволяющих исследовать особенности механизмов развития при различных заболеваниях кожи. Каждая модель обладает своими достоинствами и недостатками, позволяющими решить ту или иную поставленную перед исследователями задачу. Модель пассивной сенсибилизации при АД, вызванная введением IgE, подходит для исследования эффектов IgE-сенсибилизированных тучных клеток, но не совсем удобна для изучения нарушенной барьерной функции при этом заболевании. В то же время модель эпикутантной сенсибилизации хорошо имитирует дисфункцию дермального барьера, однако методика создания модели требует многократного нанесения различных аллергенов на кожу, используя специальную ленту. В большинстве генетически измененных моделей при псориазе мишенями являются единичные гены, что, с одной стороны, имеет явные преимущества, но с другой – требует использовать отдельную модель для изучения роли каждого специфического фактора в механизмах развития заболевания. Ряд биомоделей аутоиммунных заболеваний требует после иммунизации дополнительного воздействия физическими факторами, для других моделей необходимо содержание в условиях SPF-блока. На наш взгляд, необходимо комплексное использование разнообразных моделей, что позволит наиболее эффективно изучить неясные вопросы патогенеза и разработать новые действенные методики лечения данных заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Wagner E.F., Schonhaler H.B., Guinea-Viniegra J., Tschachler E. Psoriasis: what we have learned from mouse Models. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2010; 6 (12): 704–714. DOI: 10.1038/nrrheum.2010.157.
2. Wang H.X., Hemler M.E. Novel impact of EWI-2, CD9, and CD81 on TGF- β signaling in melanoma. *Mol. Cell. Oncol.* 2015; 2 (1): e1030536. DOI: 10.1080/23723556.2015.1030536.
3. Miyamoto D., Sottho M.N., Otania C.S.V., Fukumoria L.M.I., Pereira N.V., Santa C.G., Marutaa C.W., Burnier Jr M.N.N., Rebeisa M.M., Aokia V. Increased serum levels of vascular endothelial growth factor in pemphigus foliaceus patients with erythroderma. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2016; 31 (2): 333–336. DOI: 10.1111/jdv.13905.
4. Samochocki Z., Bogaczewicz J., Sysa-Jezdrzejowska A., McCauliffe D.P., Kontny E., Wozniacka A. Expression of vascular endothelial growth factor and other cytokines in atopic dermatitis, and correlation with clinical features. *Int. J. Dermatol.* 2015; 55 (3): e141–146. DOI: 10.1111/ijd.13132.
5. Bjerre R.D., Bandier J., Skov L., Engstrand L., Johansen J.D. The role of the skin microbiome in atopic dermatitis: a systematic review. *Br. J. Dermatol.* 2017; 177 (5): 1272–1278. DOI: 10.1111/bjd.15390.
6. Casset A., Mari A., Purohit A., Resch Y., Weghofer M., Ferrara R., Thomas W.R., Alessandri C., Chen K.W., de Blay F., Valenta R., Vrtala S. Varying allergen composition and content affects the in vivo allergenic activity of commercial Dermatophagoides pteronyssinus extracts. *Int. Arch. Allergy. Immunol.* 2012; 159 (3): 253–262. DOI: 10.1159/000337654.
7. Matsuoka H., Maki N., Yoshida S., Arai M., Wang J., Oikawa Y., Ikeda T., Hirota N., Nakagawa H., Ishii A. A mouse model of the atopic eczema / dermatitis syndrome by repeated application of a crude extract of house-dust mite Dermatophagoides farinae. *Allergy.* 2003; 58 (2): 139–145. DOI: 10.1034/j.1398-9995.2003.23790.x.
8. Laouini D., Alenius H., Bryce P., Oettgen H., Tsitsikov E., Geha R.S. *IL-10* is critical for Th2 responses in a murine model of allergic dermatitis. *J. Clin. Invest.* 2003; 112 (7): 1058–1066. DOI: 10.1172/JCI18246.
9. Martel B.C., Lovato P., Bäumer W. et al. Translational Animal Models of Atopic Dermatitis for Preclinical Studies. *Yale. J. Biol. Med.* 2017; 90 (3): 389–402.
10. Shi V.Y., Bao L., Chan L.S. Inflammation-driven dermal lymphangiogenesis in atopic dermatitis is associated with CD11b+ macrophage recruitment and VEGF-C up-regulation in the *IL-4*-transgenic mouse model. *Microcirculation.* 2012; 19 (7): 567–579. DOI: 10.1111/j.1549-8719.2012.00189.x.
11. Kawasaki H., Nagao K., Kubo A., Hata T., Shimizu A., Mizuno H., Yamada T., Amagai M. Altered stratum corneum barrier and enhanced percutaneous immune responses in filaggrin-null mice. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 2012; 129 (6): 1538–1546. DOI: 10.1016/j.jaci.2012.01.068.
12. Gunschmann C., Chiticariu E., Garg B., Hiz M.M., Mostmans Y., Wehner M., Scharfenberger L. Transgenic mouse technology in skin biology: inducible gene knock-out in mice. *J. Invest. Dermatol.* 2014; 134 (7): 1–4. DOI: 10.1038/jid.2014.213.
13. Yonekawa H., Takada T., Shitara H., Taya C., Matsu-shima Y., Matsuoka K., Kikkawa Y. Mouse Models for Atopic Dermatitis Developed in Japan. Tokyo: Atopic Dermatitis, 2012: 2–20. DOI: 10.5772/26084.

14. Bae C.J., Shim S.B., Jee S.W., Lee S.H., Kim M.R., Lee J.W., Lee C.K., Hwang D.Y. IL-6, VEGF, KC and RANTES are a major cause of a high irritant dermatitis to phthalic anhydride in C57BL/6 inbred mice. *Allergol. Int.* 2010; 59 (4): 389–397. DOI: 10.2332/allergolint.10-OA-0207.
15. Zheng T., Oh M.H., Oh S.Y., Schroeder J.T., Glick A.B., Zhu Z. Transgenic expression of interleukin-13 in the skin induces a pruritic dermatitis and skin remodeling. *J. Invest. Dermatol.* 2009; 129 (3): 742–751. DOI: 10.1038/jid.2008.295.
16. Yoo J., Omori M., Gyarmati D., Zhou B., Aye T., Brewer A., Comeau M.R., Campbell D.J., Ziegler S.F. Spontaneous atopic dermatitis in mice expressing an inducible thymic stromal lymphopoietin transgene specifically in the skin. *J. Exp. Med.* 2005; 202 (4): 541–549. DOI: 10.1084/jem.20041503.
17. Dumortier A., Durham A.D., Di Piazza M., Vauclair S., Koch U., Ferrand G., Ferrero I., Demehri S., Song L.L., Farr A.G., Leonard W.J., Kopan R., Miele L., Hohl D., Finke D., Radtke F. Atopic dermatitis-like disease and associated lethal myeloproliferative disorder arise from loss of Notch signaling in the murine skin. *PLoS One.* 2010; 5 (2): e9258. DOI: 10.1371/journal.pone.0009258.
18. Tellkamp F., Benhadou F., Bremer J., Gnarr M., Knuver J., chaffenrath S., Vorhagen S. Transgenic mouse technology in skin biology: generation of knockin mice. *J. Invest. Dermatol.* 2014; 134 (12): 1–3. DOI: 10.1038/jid.2014.434.
19. Zhang P., Wu M.X. A clinical review of phototherapy for psoriasis. *Lasers. Med. Sci.* 2018; 33 (1): 173–180. DOI: 10.1007/s10103-017-2360-1.
20. HogenEsch H., Sola M., Stearns T.M., Silva K.A., Kennedy V.E., Sundberg J.P. Angiogenesis in the skin of SHARPIN-deficient mice with chronic proliferative dermatitis. *Exp. Mol. Pathol.* 2016; 101 (3): 303–307. DOI: 10.1016/j.yexmp.2016.05.015.
21. Varricchi G., Granata F., Loffredo S., Genovese A., Marone G. Angiogenesis and lymphangiogenesis in inflammatory skin disorders. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2015; 73 (1): 144–153. DOI: 10.1016/j.jaad.2015.03.041.
22. Wong L.S., Otsuka A., Yamamoto Y., Nonomura Y., Nakashima C., Honda T., Dainichi T., Kitoh A., Nakajima S., Hirakawa S., Miyachi Y., Kabashima K. Vascular endothelial growth factor partially induces pruritus via epidermal hyperinnervation in imiquimod-induced psoriasiform dermatitis in mice. *J. Dermatol. Sci.* 2016; 83 (2): 148–151. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2016.04.008.
23. Wang X., Sun J., Hu J. IMQ Induced K14-VEGF Mouse: A Stable and Long-Term Mouse Model of Psoriasis-Like Inflammation. *PLoS One.* 2015; 10 (12): e0145498. DOI: 10.1371/journal.pone.0145498.
24. Cohn M. Sourcebook of Models for Biomedical Research; Springer Science & Business Media: Berlin/Heidelberg, 2008: 9–33.
25. Bocheńska K., Smolińska E., Moskot M., Jakyb-kiewicz-Banecka J., Gabig-Cimińska M. Models in the Research Process of Psoriasis. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18 (12): e2514. DOI: 10.3390/ijms18122514.
26. Gudjonsson J.E., Johnston A., Dyson M., Valdimarsson H., Elder J.T. Mouse models of psoriasis. *J. Investig. Dermatol.* 2007; 127 (6): 1292–1308. DOI: 10.1038/sj.jid.5700807.
27. Schon M.P. Animal models of psoriasis: A critical appraisal. *Exp. Dermatol.* 2008; 17 (8): 703–712. DOI: 10.1111/j.1600-0625.2008.00751.x.
28. Danilenko D.M. Review paper: Preclinical models of psoriasis. *Vet. Pathol.* 2008; 45 (4): 563–575. DOI: 10.1354/vp.45-4-563.
29. Shepherd J., Little M.C., Nicklin M.J. Psoriasis-like cutaneous inflammation in mice lacking interleukin-1 receptor antagonist. *J. Investig. Dermatol.* 2004; 122 (3): 665–669. DOI: 10.1111/j.0022-202X.2004.22305.x.
30. Jean J., Pouliot R. *In vivo and in vitro Models of Psoriasis.* Laval: Tissue Engineering, 2010: 1–26. DOI: 10.5772/8582.
31. Wang H., Peters T., Sindrilaru A., Scharffetter-Kochanek K. Key role of macrophages in the pathogenesis of cd18 hypomorphic murine model of psoriasis. *J. Investig. Dermatol.* 2009; 129 (5): 1100–1114. DOI: 10.1038/jid.2009.43.
32. Croxford A.L., Karbach S., Kurschus F.C., Wörtge S., Nikolaev A., Yogev N., Klebow S., Schüler R., Reissig S., Piotrowski C., Brylla E., Bechmann I., Scheller J., Rose-John S., Thomas Wunderlich F., Münzel T., von Stebut E., Waisman A. *Il-6* regulates neutrophil microabscess formation in *il-17a*-driven psoriasiform lesions. *J. Investig. Dermatol.* 2014; 134 (3): 728–735. DOI: 10.1038/jid.2013.404.
33. Johnston A., Fritz Y., Dawes S.M., Diaconu D., Al-Attar P.M., Guzman A.M., Chen C.S., Fu W., Gudjonsson J.E., McCormick T.S., Ward N.L. Keratinocyte overexpression of *il-17c* promotes psoriasiform skin inflammation. *J. Immunol.* 2013; 190 (5): 2252–2262. DOI: 10.4049/jimmunol.1201505.
34. Swindell W.R., Johnston A., Carbajal S., Han G., Wohn C., Lu J., Xing X., Nair R.P., Voorhees J.J., Elder J.T., Wang X.J., Sano S., Prens E.P., DiGiovanni J., Pittelkow M.R., Ward N.L., Gudjonsson J.E. Genome-wide expression profiling of five mouse models identifies similarities and differences with human psoriasis. *PLoS One.* 2011; 6 (4): e18266. DOI: 10.1371/journal.pone.0018266.
35. Sferri R., Fargnoli M.C., Corbelli E., Pellegrini C., Peris K., Gaudio E., Vetuschi A. Immunopathogenesis of psoriasis: a possible role of TGFβ/Smads pathway. *Ital. J. Anat. Embryol.* 2014; 119 (3): 277–285.
36. Zenz R., Eferl R., Kenner L., Florin L., Hummerich L., Mehic D., Scheuch H., Angel P., Tschachler E., Wagner E.F. Psoriasis-like skin disease and arthritis caused by inducible epidermal deletion of *jun* proteins. *Nature.* 2005; 437 (7057): 369–375. DOI: 10.1038/nature03963.
37. Jean J., Pouliot R. *In vivo and in vitro models of psoriasis.* London: In Tissue Engineering, 2010: 359–382.
38. Cantatore F.P., Maruotti N., Corrado A., Ribatti D. Angiogenesis dysregulation in the pathogenesis of systemic Sclerosis. *Biomed Res. Int.* 2017; 2017: 5345673. DOI: 10.1155/2017/5345673.
39. Varricchi G., Granata F., Loffredo S., Genovese A., Marone G. Angiogenesis and lymphangiogenesis in inflam-

- matory skin disorders. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2015; 73 (1): 144–153. DOI: 10.1016/j.jaad.2015.03.041.
40. Vaia M., Petrosino S., De Filippis D., Negro L., Guarino A., Carnuccio R., Di Marzo V., Iuvone T. Palmitoylethanolamide reduces inflammation and itch in a mouse model of contact allergic dermatitis. *Eur. J. Pharmacol.* 2016; 791: 669–674. DOI: 10.1016/j.ejphar.2016.10.005.
 41. Furukawa F., Yoshimasu T. Animal models of spontaneous and drug-induced cutaneous lupus erythematosus. *Autoimmun. Rev.* 2005; 4 (6): 345–350. DOI: 10.1016/j.autrev.2005.01.006.
 42. Otten J.V., Hashimoto T., Hertl M., Payne A.S., Sitaru C. Molecular diagnosis in autoimmune skin blistering conditions. *Curr. Mol. Med.* 2014; 14 (1): 69–95. DOI: 10.2174/15665240113136660079.
 43. Miyamoto D., Sottho M.N., Otania C.S.V., Fukumoria L.M.I., Pereira N.V., Santia C.G., Marutaa C.W., Burnier Jr M.N.N., Rebeisa M.M., Aokia V. Increased serum levels of vascular endothelial growth factor in pemphigus foliaceus patients with erythroderma. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2017; 31 (2): 333–336. DOI: 10.1111/jdv.13905.
 44. Amber K.T., Murrell D.F., Schmidt E., Joly P., Borradori L. Autoimmune Subepidermal Bullous Diseases of the Skin and Mucosae: Clinical Features, Diagnosis, and Management. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2018; 54 (1): 26–51. DOI: 10.1007/s12016-017-8633-4.
 45. Schulze K., Galichet A., Sayar B.S., Scothern A., Hoald D., Zymann H., Siffert M., Zenhäusern D., Bolli R., Koch P.J., Garrod D., Suter M.M., Müller E.J. An adult passive transfer mouse model to study desmoglein 3 signaling in pemphigus vulgaris. *J. Invest. Dermatol.* 2012; 132 (2): 346–355. DOI: 10.1038/jid.2011.299.
 46. Hanakawa Y., Amagai M., Shirakata Y., Yahata Y., Tokumaru S., Yamasaki K., Tohyama M., Sayama K., Hashimoto K. Differential effects of desmoglein 1 and desmoglein 3 on desmosome formation. *J. Invest. Dermatol.* 2002; 119 (6): 1231–1236. DOI: 10.1046/j.1523-1747.2002.19648.x.
 47. Kasperkiewicz M., Sadik C.D., Bieber K., Ibrahim S.M., Manz R.A., Schmidt E., Zillikens D., Ludwig R.J. Epidermolysis Bullosa Acquisita: From Pathophysiology to Novel Therapeutic Options. *J. Invest. Dermatol.* 2016; 136 (1): 24–33. DOI: 10.1038/JID.2015.356.
 48. Chen M., Doostan A., Bandyopadhyay P., Remington J., Wang X., Hou Y., Liu Z., Woodley D.T. The cartilage matrix protein subdomain of type VII collagen is pathogenic for epidermolysis bullosa acquisita. *Am. J. Pathol.* 2007; 170 (6): 2009–2018. DOI: 10.2353/ajpath.2007.061212.
 49. Natsuga K., Nishie W., Shinkuma S., Ujiie H., Nishimura M., Sawamura D., Shimizu H. Antibodies to pathogenic epitopes on type XVII collagen cause skin fragility in a complement-dependent and -independent manner. *J. Immunol.* 2012; 188 (11): 5792–5799. DOI: 10.4049/jimmunol.1003402.
 50. Li Q., Ujiie H., Shibaki A., Wang G., Moriuchi R., Qiao H.J., Morioka H., Shinkuma S., Natsuga K., Long H.A., Nishie W., Shimizu H. Human IgG1 monoclonal antibody against human collagen 17 noncollagenous 16A domain induces blisters via complement activation in experimental bullous pemphigoid model. *J. Immunol.* 2010; 185 (12): 7746–7755. DOI: 10.4049/jimmunol.1000667.

Сведения об авторах:

Сергеева Ольга Николаевна, ассистент, кафедра патологической физиологии КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID iD 0000-0003-0819-1967.

Аксененко Мария Борисовна, канд. мед. наук, доцент, кафедра патологической физиологии КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID iD 0000-0001-7660-700X.

Фефелова Юлия Анатольевна, д-р биол. наук, доцент, кафедра патологической физиологии КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID iD 0000-0001-5434-7155.

Сергеева Екатерина Юрьевна, д-р биол. наук, профессор, кафедра патологической физиологии КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID iD 0000-0002-2089-6022.

Рукша Татьяна Геннадьевна, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патологической физиологии КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID iD 0000-0001-8142-4283.

(✉) **Сергеева Ольга Николаевна**, e-mail: On_210@mail.ru.

Author information

Sergeeva Olga N., Assistant, Department of Pathological Physiology, KrasSMU n.a. prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-0819-1967.

Aksenenko Mariya B., PhD, Assistant of Professor, Department of Pathological Physiology, KrasSMU n.a. prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-7660-700X.

Fefelova Yulia A., DBSc, Assistant of Professor, Department of Pathological Physiology, KrasSMU n.a. prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-5434-7155.

Sergeeva Ekaterina Yu., DBSc, Professor, Department of Pathological Physiology, KrasSMU n.a. prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-2089-6022.

Ruksha Tatiana G., DM, Head of Department of Pathophysiology, KrasSMU n.a. prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-8142-4283.

(✉) **Sergeeva Olga N.**, e-mail: On_210@mail.ru.

Поступила в редакцию 06.02.2019

Подписана в печать 11.06.2019

Received 06.02.2019

Accepted 11.06.2019

Взаимодействие гельминтов и микробиоты кишечника: значение в развитии и профилактике хронических неинфекционных заболеваний

Соколова Т.С., Федорова О.С., Салтыкова И.В., Петров В.А.,
Федотова М.М., Ковширина Ю.В., Деев И.А., Огородова Л.М.

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

РЕЗЮМЕ

В связи с ростом хронических неинфекционных заболеваний, включая аутоиммунные, аллергические, онкологические, возрастает значимость исследований механизмов модификации популяционного иммунитета. В соответствии с гипотезой «старых друзей» (англ. old friends) микробиота и гельминты, которые сосуществовали с человеком в процессе эволюции, играют важную роль в регуляции иммунной системы хозяина. Снижение воздействия гельминтов и микробиотических сообществ на иммунную систему хозяина в результате улучшения гигиенических условий в развитых странах рассматривается в качестве фактора риска развития хронических неинфекционных заболеваний. В исследованиях показано, что кишечные паразиты и продукты их жизнедеятельности модулируют иммунный ответ хозяина. Одним из патогенетических механизмов такой модуляции, возможно, является увеличение содержания бактерий желудочно-кишечного тракта, обладающих противовоспалительными свойствами. С появлением современных технологий идентификации микроорганизмов стало возможным существенно расширить знания о микробиоте при различных патологических состояниях. В настоящее время изучение модификации микробиоты пищеварительного тракта организма хозяина на фоне гельминтозов является актуальной задачей, решение которой представляет перспективу новых возможностей в профилактике, диагностике и контроле таких состояний, как хронические воспалительные заболевания кишечника и аллергические болезни. Цель настоящего обзора – представить анализ современных экспериментальных и эпидемиологических исследований, направленных на оценку симбиоза микробиоты и гельминтных инвазий пищеварительного тракта в целях поиска возможных механизмов профилактики хронических неинфекционных заболеваний.

Ключевые слова: микробиом, кишечная микробиота, гельминтные инвазии, *Opisthorchis felinus*, хронические неинфекционные заболевания.

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

Источник финансирования. Исследование выполнено при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант «Фундаментальные подходы к оптимизации диагностики и терапии природно-очаговой инвазии *Opisthorchis felinus* в эндемичных регионах»; договор № 16-44-700148); Российского научного фонда (грант «Исследование иммуномодулирующего потенциала гемозоина *Opisthorchis felinus* при атопических болезнях» № 18-75-00036).

Для цитирования: Соколова Т.С., Федорова О.С., Салтыкова И.В., Петров В.А., Федотова М.М., Ковширина Ю.В., Деев И.А., Огородова Л.М. Взаимодействие гельминтов и микробиоты кишечника: значение в развитии и профилактике хронических неинфекционных заболеваний. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 214–225. [https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2019-3-214–225](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-214-225).

УДК 616.34-094/-095-02: 616.1/.8-036.12-084
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-214-225>

Helminths and intestinal microbiota interaction: role in the development of noncommunicable diseases

Sokolova T.S., Fedorova O.S., Saltykova I.V., Petrov V.A.,
Fedotova M.M., Kovshirina Yu.V., Deev I.A., Ogorodova L.M.

Siberian State Medical University (SSMU)
2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

There is an increase in the prevalence of chronic, noncommunicable diseases, including allergic and autoimmune diseases in developed countries. In this regard, the study of factors modifying the population's immune response is very important.

According to the "old friends" hypothesis, insufficiency of infectious stimulation and decrease in prevalence of helminthiasis are associated with development of noncommunicable diseases. Studies revealed that intestinal parasites modulate the host immune response and alter susceptibility to immunological diseases. It is suggested that one of the pathogenetic mechanisms of immune response modulation by parasites is an increase in the content of gastrointestinal bacteria with anti-inflammatory effect. Advanced technologies of microorganism identification provide a deep insight into the microbiota in different pathologies. The study of changes in the intestine and bile microbiota of the host in helminthiasis provides new possibilities for prevention, diagnosis and control of such conditions as chronic inflammatory bowel diseases and allergic diseases. The purpose of this review is to analyze current experimental and clinical data on intestinal microbiota in helminth infections and possible association with development of chronic noncommunicable diseases.

Key words: microbiome, intestinal microbiota, helminthiasis, *Opisthorchis felineus*, chronic noncommunicable diseases.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant "Fundamental approaches to leveraging diagnosis and treatment of natural focal *Opisthorchis felineus* invasion in endemic regions"; contract No. 16-44-700148) as well as by the Russian Science Foundation (grant "Studying the immunomodulating potential of hemozoin of *Opisthorchis felineus* in atopic diseases"; contract No. 18-75-00036).

For citation: Sokolova T.S., Fedorova O.S., Saltykova I.V., Petrov V.A., Fedotova M.M., Kovshirina Yu.V., Deev I.A., Ogorodova L.M. Helminths and intestinal microbiota interaction: role in the development of noncommunicable diseases. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 214–225. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-214-225>.

ВВЕДЕНИЕ

Рост хронических неинфекционных болезней, включающих аутоиммунные, аллергические, онкологические, является ключевой проблемой здравоохранения в последние десятилетия [1]. В качестве возможного фактора риска развития аллергических и аутоиммунных болезней рассматривается снижение инфекционной нагрузки (гельминтные инвазии, микробные агенты) на иммунную систему человека [2–4]. Так, в соответ-

ствии с гипотезой «старых друзей», микробиота и гельминты играют важную роль в регуляции иммунной системы человека [5].

Роль гельминтов в рассматриваемом контексте подтверждается многочисленными эпидемиологическими и экспериментальными исследованиями. Так, показана отрицательная связь между паразитарной инвазией и чувствительностью кожного теста на аллергены [6–8]. По данным метаанализа 30 публикаций установлено, что инвазия *Ascaris*

lumbricoides ассоциирована с увеличением риска развития бронхиальной астмы. Напротив, у пациентов, страдающих инвазией нематодами (преимущественно *N. americanus*), исследователи отмечают более легкое течение бронхиальной астмы [9]. Показано, что механизмы иммунного ответа при гельминтных инвазиях ассоциированы с супрессией Th2 звена [10]. Так, способность *O. felinus* модифицировать иммунный ответ хозяина в сторону супрессии Th2-зависимых механизмов иммунного ответа за счет повышения экспрессии генов *IL10* и *TGFβ* и снижения уровня провоспалительных маркеров IL-4, IL-5 установлена в ряде работ [11, 12]. В исследованиях с участием пациентов, страдающих аллергическими заболеваниями (атопический дерматит, бронхиальная астма), показано, что содержание CD4+FOXP3+ значимо выше у больных, страдающих хронической описторхозной инвазией, в сравнении с неинвазированными. Антигельминтная терапия ассоциирована с прогрессированием клинических симптомов, повышением уровня CD4+FOXP3+ Treg и снижением CD4+CD25high Treg в периферической крови [11, 12].

Одним из механизмов изменения иммунного ответа, возможно, является модификация микробиоты пищеварительного тракта на фоне паразитарной инвазии. Проведенный обзор исследований показал, что гельминты могут влиять на таксономическое разнообразие микробиотических сообществ кишечника. С появлением современных молекулярно-генетических методов идентификации микроорганизмов стало возможным существенно расширить знания о микробиоте и ее модификации при различных патологических состояниях.

Цель настоящего обзора – представить анализ современных экспериментальных и эпидемиологических исследований, направленных на оценку симбиоза микробиоты и гельминтных инвазий пищеварительного тракта в целях поиска возможных механизмов профилактики хронических неинфекционных заболеваний.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Авторами проведен анализ экспериментальных и эпидемиологических исследований, посвященных изучению микробиоты кишечника на фоне хронических неинфекционных заболеваний и гельминтных инвазий, из числа публикаций в базах данных MEDLINE через электронно-поисковую систему PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>). В обзоре использованы оригинальные статьи, опубликованные за период с 1 января

2000 по 31 декабря 2017 г., сгруппированные по следующему алгоритму.

Этап 1. Анализ публикаций, касающихся исследований кишечной микробиоты у пациентов с хроническими неинфекционными заболеваниями. Для поиска использовали ключевые слова *microbiome*, *intestinal microbiota*, *chronic noncommunicable diseases*, *inflammatory bowel disease*, *ulcerative colitis*, *Crohn's disease*, *celiac disease*, *allergic diseases*. Также поиск исследований, соответствующих перечисленным терминам, проводили среди списков литературы и ссылок в выбранных публикациях. Изучены 2 240 названий и тезисов статей, выбранных при первоначальном поиске по ключевым словам. Детально проанализированы 63 публикации, которые соответствовали критериям включения.

Этап 2. Анализ публикаций, посвященных исследованиям микробиоты кишечника на фоне паразитарной инвазии, включающих клинические и экспериментальные данные. Применяли ключевые слова *microbiome*, *intestinal microbiota*, *helminthiasis*, *helminth*, *hookworm infection*, *nematode*, *trematode*. На данном этапе рассмотрены 64 публикации, для детального анализа авторами отобраны пять, описывающие клинические данные, и 12 исследований на животных моделях.

Этап 3. Анализ эпидемиологических исследований, отобранных на первом и втором этапах, посвященных изучению разнообразия кишечной микробиоты у пациентов с хроническими неинфекционными заболеваниями на фоне гельминтных инвазий. Проанализированы пять публикаций.

Для подготовки обзора в анализ включены публикации, отвечающие следующим критериям: молекулярно-генетический метод идентификации микроорганизмов; наличие данных о составе микробиоты; полнота описания схемы исследования, включая характеристику выборки, критерии отбора, наличие группы контроля; открытый доступ к полному тексту статьи. Критериями исключения являлись указание на использование культурального метода идентификации микроорганизмов, а также отсутствие требуемых данных в тексте статьи.

РОЛЬ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Микробиота кишечника играет важную роль в развитии иммунной системы, способствует поддержанию кишечного эпителиального барьера и обеспечивает устойчивость к колонизации энтеропатогенами [13–15]. Видовое разнообразие

микробиоты зависит от генотипа человека, возраста, состояния здоровья, диеты, применения антибиотиков, климатогеографических особенностей и многих других факторов. Изменения в образе жизни и рационе современного человека, улучшение гигиенических условий и нерациональное использование антибактериальных препаратов оказывают воздействие на разнообразие микробиоты кишечника, что может играть роль в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника [16, 17].

По данным метаанализа 40 исследований, городские жители имеют повышенный риск развития язвенного колита и болезни Крона в сравнении с сельскими жителями [18]. Изучение состава микробиоты кишечника у генетически сходных популяций африканцев показало, что представленность бактерий типа *Prevotella* увеличена у проживающих в сельских условиях в сравнении

с городской выборкой [19]. В другом исследовании показано, что богатая полисахаридами диета у детей, проживающих в сельской местности Западной Африки (Буркина-Фасо), связана с увеличением представленности бактерий типов *Actinobacteria* и *Bacteroidetes* и уменьшением содержания *Firmicutes* и *Proteobacteria* в сравнении с детьми из городской выборки, в диете которых преобладают продукты с высоким содержанием белка животного происхождения, сахара и жиров [20]. В свою очередь, в эпидемиологических и экспериментальных исследованиях недостаточное потребление пищевых волокон рассматривается в качестве фактора риска развития воспалительных заболеваний кишечника [21–23].

Ряд исследований свидетельствует о различных изменениях микробиоты кишечника у больных хроническими воспалительными заболеваниями кишечника в сравнении со здоровыми (табл. 1).

Таблица 1
Table 1

Исследования микробиоты на фоне воспалительных заболеваний кишечника (клинические данные) Studying the microbiota against the background of inflammatory diseases of the intestine (clinical data)				
№	Заболевание Disease	Выборка, <i>n</i> Number of patients, <i>n</i>	Результаты исследования микробиоты Results of microbiota investigation	Автор, год публикации Author, year of the publication
1	Язвенный колит, болезнь Крона Ulcerative colitis, Crohn's disease	Взрослые, 345 Adults, 345	↑ <i>Bacteroides</i> , Enterobacteriaceae (<i>E. coli</i>)	A. Swidsinski, 2002
2	Язвенный колит, болезнь Крона, синдром раздраженного кишечника Ulcerative colitis, Crohn's disease, irritable bowel syndrome (IBS)	Взрослые, 110 Adults, 110	↑ <i>Bacteroides</i> (более 60% <i>Bacteroides fragilis</i>), ↑ <i>Eubacterium rectale</i> у пациентов с СРК <i>Eubacterium rectale</i> in patients with IBS	A. Swidsinski, 2005
3	Язвенный колит, болезнь Крона Ulcerative colitis, Crohn's disease	Взрослые, 190 Adults, 190	↑ <i>Proteobacteria</i> , <i>Bacillus</i> ↓ <i>Bacteroidetes</i> and <i>Lachnospiraceae</i>	D.N. Frank, 2007
4	Целиакия Celiac disease	Дети, 38 Children, 38	↑ <i>Bacteroides-Prevotella</i> and <i>Escherichia coli</i> (in active form), ↓ <i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacterium</i>	I. Nadal, 2007
5	Целиакия Celiac disease	Дети Children	↑ <i>Bacteroides</i> and <i>Clostridium leptum</i> , <i>E. coli</i> and <i>Staphylococcus</i> , ↓ <i>Bifidobacterium</i>	M.C. Collado, 2009
6	Целиакия Celiac disease	Дети, 64 Children, 64	↑ <i>Bacteroides-Prevotella</i> ↓ <i>Bifidobacterium</i> , <i>F. prausnitzii</i> , <i>C. histolyticum</i> , <i>C. lituseburens</i>	Giada DePalma, 2010
8	Целиакия Celiac disease	Дети 40 Children, 40	↑ <i>Bacteroides dorei</i> , <i>Bifidobacterium adolescentis</i> , <i>Bifidobacterium animalis subspecies lactis</i> ↓ <i>Bacteroides distasonis</i> , <i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> , <i>Bacteroides uniformis</i> , <i>Bacteroides ovatus</i> , <i>Bacteroides vulgatus</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i>	E. Sánchez, 2010

Окончание табл. 1
End of table 1

№	Заболевание Disease	Выборка, <i>n</i> Number of patients, <i>n</i>	Результаты исследования микробиоты Results of microbiota investigation	Автор, год публикации Author, year of the publication
9	Болезнь Крона Crohn's disease	Взрослые, 32 Adults, 32	↑ <i>E. coli</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Proteobacteria</i> ↓ <i>Ruminococcus bromii</i> , <i>Oscillibacter valericigenes</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Eubacterium rectale</i>	S. Mondot, 2011
10	Воспалительные заболевания кишечника Inflammatory diseases of the intestine	Взрослые, 56 Adults, 56	↑ <i>Fusobacterium</i> spp., <i>F. nucleatum</i>	J. Strauss, 2011
11	Целиакия Celiac disease	Дети, 58 Children, 58	↑ <i>B. fragilis</i> , <i>Parabacteroides distasonis</i> (mostly in patients with active celiac disease) ↓ <i>Bacteroides ovatus</i> , <i>Bacteroides finegoldii</i>	E. Sánchez, 2012
12	Целиакия Celiac disease	Взрослые и дети, 26 Children and adults, 26	↑ <i>Prevotellamela ninogenica</i> , <i>Haemophilus</i> spp., <i>Serratia</i> spp. ↓ <i>P. oralis</i> , <i>R. bromii</i> , <i>P. cinnamivorans</i> , <i>Proteus</i> , <i>C. stercorarium</i>	J. Cheng, 2013

Примечание. СРК – синдром раздраженного кишечника; ↑ – увеличение; ↓ – снижение.

Note. IBS – irritable bowel syndrome; ↑ – increase; ↓ – decrease.

У пациентов с язвенным колитом и болезнью Крона в микробиоте кишечника снижена представленность Bacteroidetes и Lachnospiraceae и одновременно повышено содержание Proteobacteria и *Bacillus* в сравнении с контрольной группой. В образцах тонкого кишечника, полученных путем биопсии, у больных воспалительными заболеваниями кишечника более широко представлены типы Proteobacteria, Actinobacteria и снижено содержание бактерий рода *Bacillus*. При этом наличие воспалительного заболевания кишечника не влияло на содержание бактерий Bacteroidetes, Enterobacteriaceae [24, 25]. В другом исследовании показано, что увеличение представленности бактерий вида *Fusobacterium nucleatum* ассоциировано с наличием воспалительных заболеваний кишечника [26].

У больных, страдающих целиакией, в период обострения в двенадцатиперстной кишке установлено повышение содержания бактерий типов Bacteroides и Prevotella, а также *Escherichia coli* и снижена представленность *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* по сравнению со здоровыми. Однако соотношение данных типов бактерий не различалось у больных целиакией в периоде ремиссии на фоне длительного соблюдения строгой безглютеновой диеты и у представителей группы контроля [27]. В ходе другого исследования анализ кишечной микробиоты у детей показал, что в группе больных целиакией доминирует *Bacteroides fragilis* в сравнении с образцами контрольной группы, и эти различия сохранялись

даже после длительного соблюдения безглютеновой диеты [28].

Следует отметить, что различия наблюдаемых изменений микробиоты у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника могут быть связаны с особенностями дизайна исследований, методами анализа проб и др. [29]. Однако большинство исследований продемонстрировали снижение разнообразия микробиотических сообществ у больных воспалительными заболеваниями кишечника, преимущественно за счет уменьшения содержания бактерий типа Firmicutes (*Clostridium leptum*, *Faecalibacterium prausnitzii*) и увеличение представленности Proteobacteria в сравнении со здоровыми индивидами [29, 30]. Остается спорным, являются ли изменения микробиоты причиной или последствием воспаления в кишечнике.

Данные экспериментальных и клинических исследований свидетельствуют об ассоциации кишечной микробиоты с развитием колоректального рака. Анализ образцов опухолевой ткани у больных раком прямой кишки показал увеличение содержания бактерий рода *Fusobacterium*, в большей степени видов *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium necrophorum*, *Fusobacterium mortiferum* и *Fusobacterium perfoetens*, и уменьшение представленности Bacteroidetes и Firmicutes в сравнении с образцами непораженной ткани толстой кишки [31].

Влияние кишечной микробиоты на организм человека не ограничивается только местом ее

непосредственного обитания. В настоящее время появляется все больше исследований о возможной взаимосвязи кишечной микробиоты с хроническими неинфекционными болезнями не только желудочно-кишечного тракта, но и бронхолегочной, нервной и сердечно-сосудистой систем [5, 32, 33]. В экспериментальном исследовании показано, что мыши, лишённые микробиоты кишечника (под воздействием антибактериальных препаратов), имеют повышенный риск развития аллергии [34].

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЕЛЬМИНТЫ – МИКРОБИОТА

В исследованиях на животных моделях показано, что гельминты снижают активность воспаления в слизистой оболочке кишечника при болезни Крона и язвенном колите. Так, заражение мышей гельминтами *Trichinella spiralis*, *Heligmosomides polygyrus* или *Schistosoma mansoni*, с последующей индукцией язвенного колита, ассоциировано с более легким течением данной болезни у инвазированных мышей в сравнении с неинвазированными [35–37].

Одним из патогенетических механизмов модуляции иммунного ответа паразитами, возможно, является модификация микробиоты желудочно-кишечного тракта с увеличением содержания бактерий, обладающих противовоспалительными свойствами [16, 38]. Установлено, что ряд бактерий, таких как *Bacteroides fragilis*, *Bifidobacterium*

infantis, *Clostridium* spp. и *Lactobacillus* spp. [39], а также нематоды *Heligmosomoides polygyrus* [40] вызывают супрессию Т-регуляторных клеток.

У мышей, инвазированных гельминтом *Heligmosomoides polygyrus*, в микробиоте кишечника зарегистрированы более высокие количество бактерий семейств Lactobacillaceae и Enterobacteriaceae и уменьшение представленности бактерий родов *Eubacterium* и *Clostridium* в сравнении с неинвазированными [37]. Инвазия нематодой *Trichuris muris* у мышей приводила к увеличению числа Lactobacillaceae в подвздошной кишке [41]. При инвазии *Trichuris suis* у лабораторных свиней были выявлены значительные изменения кишечной микробиоты и ассоциация с обострением кампилобактериоза [42, 43].

При исследовании микробиоты образцов стула с использованием ампликонного секвенирования бактериального гена 16S рРНК у детей с инвазией *T. trichiura*, не выявлено значимых различий в составе сообществ бактерий при сравнении с группой детей без инвазии. Однако при сочетании инвазии *T. trichiura* и *A. lumbricoides* зарегистрировано снижение представленности видов бактерий, относящихся к классу Clostridia [44]. Позже, в другом исследовании, выявлено более высокое видовое разнообразие кишечника у сельских жителей Малайзии, пораженных *T. trichiura*, *A. lumbricoides* и другими нематодами, в сравнении с неинфицированным населением [45] (табл. 2).

Таблица 2

Table 2

Обзор публикаций по исследованиям микробиоты на фоне паразитарных инвазий (клинические данные)
Review of publications on microbiota investigation against the background of parasitic invasions (clinical data)

№	Гельминтная инвазия Helminth invasion	Выборка, n Number of patients, n	Результаты исследования микробиоты Results of microbiota investigation	Автор, год публикации Author, year of the publication
1	<i>A. lumbricoides</i> and <i>T. trichiura</i>	Дети, 97 Children, 97	Не выявлено значимого воздействия при инвазии <i>T. trichiura</i> . No statistically significant effect has been detected in <i>T. trichiura</i> invasion. Снижение таксономического разнообразия и ↑ <i>Streptococcus</i> spp. при инвазии <i>A. lumbricoides</i> и <i>T. trichiura</i> , ↓ <i>Clostridia</i> Decrease in taxonomic diversity and ↑ <i>Streptococcus</i> spp. In invasion with <i>A. lumbricoides</i> and <i>T. trichiura</i> , ↓ <i>Clostridia</i>	P. Cooper, 2013
2	<i>Trichuris</i> spp. + <i>Ascaris</i> spp.	Взрослые и дети, 51 Adults and children, 51	↑ Paraprevotellaceae, Mollicutes, <i>Bacteroidales</i> , <i>Alphaproteobacteria</i> , ↓ <i>Bifidobacterium</i>	S.C. Lee, 2014
3	<i>Necator americanus</i>	Взрослые, страдающие целиакией Adults with celiac disease	Не выявлено значимого воздействия No statistically significant effect detected	C. Cantacessi, 2014

№	Гельминтная инвазия Helminth invasion	Выборка, <i>n</i> Number of patients, <i>n</i>	Результаты исследования микробиоты Results of microbiota investigation	Автор, год публикации Author, year of the publication
4	<i>Necator americanus</i>	Взрослые, страдающие целиакией, 8 Adults with celiac disease, 8	↑Bacteroidetes, Lachnospira ↓Firmicutes, Tenericutes, Erysipelotrichi, Clostridia, Ruminococcus	P. Giacomini, 2015
5	<i>Schistosoma haematobium</i>	Дети, 139 Children, 139	Не выявлено значимого воздействия No statistically significant effect detected	G.L. Kay, 2015
6	<i>Necator americanus</i>	Взрослые, страдающие целиакией Adults with celiac disease	↑Bacteroidia, Flavobacteria, Flavobacteriales	P. Giacomini, 2016
7	<i>Opisthorchis viverrini</i>	Взрослые, страдающие холангиокарциномой, 60 Adults with cholangiocarcinoma, 60	↑Bifidobacteriaceae, Enterobacteriaceae и Enterococcaceae	K.R. Chng, 2016
8	<i>Opisthorchis felinus</i>	Взрослые с желчнокаменной болезнью, 28 Adults with gallstone disease	↑ <i>Klebsiella</i> spp., <i>Aggregatibacter</i> spp., <i>Lactobacillus</i> spp., <i>Treponema</i> spp., <i>Haemophilus parainfluenzae</i> and <i>Staphylococcus equorum</i> . Detected only in infected patients: <i>Veillonella dispar</i> , <i>Paracoccus aminovorans</i> , <i>Parabacteroides distasonis</i> , <i>Sphingomonas changbaiensis</i> , <i>Cellulosimicrobium</i> spp., <i>Phycococcus</i> spp. ↓ <i>Flectobacillus</i> , <i>Xanthobacter</i> , <i>Burkholderia</i> , <i>Streptomyces</i> . Detected only in non-infected patients: <i>Jeotgaliococcus psychrophilus</i> , <i>Treponemaso cranskii</i>	I.V. Saltykova, 2016

Изучение микробиотического сообщества при описторхозной инвазии было впервые проведено на животных моделях. В рамках экспериментального исследования установлено, что у инвазированных хомяков в образцах фекалий отмечалось увеличение представленности бактерий семейств Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, Lactobacillaceae и уменьшение Porphyromonadaceae, Erysipelotrichaceae и Eubacteriaceae при сравнении с образцами от неинвазированных животных [46]. Позже в исследовании на лабораторных животных (хомяки) выявлена ассоциация инвазии *O. viverrini* с присутствием микроорганизмов *Helicobacter pylori*, *Helicobacter hepaticus* и *Helicobacter bilis* в желчных путях и кишечнике по сравнению неинфицированными [47].

В исследованиях с участием пациентов, страдающих желчнокаменной болезнью, показано, что наличие инвазии *O. felinus* приводит к изменению микробиотического состава желчи, а именно к более высокому содержанию *Klebsiella* spp., *Aggregatibacter* spp., *Lactobacillus* spp., *Treponema* spp., *Haemophilus parainfluenzae* и *Staphylococcus*

equorum. Ряд микроорганизмов (*Veillonella dispar*, *Paracoccus aminovorans*, *Parabacteroides distasonis*, *Sphingomonas changbaiensis*, *Cellulosimicrobium* spp., *Phycococcus* spp.), обнаруженных при инвазии описторхисами, не идентифицирован у неинвазированных индивидов [48].

В доступной литературе имеются результаты изучения микробиоты желчных протоков у больных холангиокарциномой на фоне инфекции *O. viverrini* и неинвазированных лиц. При этом у пациентов с холангиокарциномой на фоне инвазии *O. viverrini* установлено повышение представленности бактерий семейств Bifidobacteriaceae, Enterobacteriaceae и Enterococcaceae в сравнении с неинфицированными больными [49].

В отечественной литературе опубликованы клинические данные, свидетельствующие о том, что инвазия *O. felinus* у больных хроническими воспалительными заболеваниями кишечника усугубляет функционально-морфологические нарушения в желудке и тонкой кишке [50]. В другом исследовании показано, что на фоне хронического описторхоза преобладают менее агрессивные формы болезни Крона [51]. Исследований, на-

правленных на изучение вариабельности микробиоты на фоне описторхоза при воспалительных заболеваниях кишечника, в настоящее время недостаточно.

Вариабельность микробиоты, ассоциированная с описторхозной инвазией, с одной стороны, характеризуется более высокой представленностью бактерий, обладающих противовоспалительным и иммуномодулирующим действием [37, 38, 41]. С другой стороны, согласно исследованиям, мариты *O. viverrini* являются переносчиками бактерий рода *Helicobacter*, некоторые их виды можно отнести к онкогенной микрофлоре. Так, в соответствии с классификацией Международного агентства по исследованию рака (International Agency for Research on Cancer, IARC), *Helicobacter pylori* является канцерогеном (<http://monographs.iarc.fr>). В некоторых исследованиях показана ассоциация инфекции *Helicobacter hepaticus* и *Helicobacter bilis* с развитием опухолей желчных протоков [52]. Хронический описторхоз сопровождается повышением IL-6, что способствует развитию перидуктального фиброза у инвазированных индивидов [53]. Инвазия *O. viverrini* является одним из значимых факторов риска развития холангиоцеллюлярного рака [53]. В экспериментальных моделях показано, что инвазия *O. felineus* также ассоциирована с такими патологическими изменениями желчных протоков, как гиперплазия эпителия и перидуктальный фиброз, которые могут предшествовать холангиокарциноме [54].

ОБЛАСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Способность гельминтов оказывать супрессивное действие на развитие некоторых аллергических и воспалительных заболеваний в настоящее время рассматривается в качестве новых возможностей профилактики и терапии данных болезней.

Так, получены положительные результаты лечения болезни Крона и язвенного колита с использованием экспериментального инфицирования гельминтами *Necator americanus* и *Trichuris suis* [35, 36]. В другом интервенционном исследовании инфицирование нематодами *Necator americanus* повышало толерантность к глютену у больных целиакией [55]. Опубликованы данные клинических испытаний эффективности инвазии *Trichuris suis* при аллергических болезнях, рассеянном склерозе, а также применения инвазирования *Necator americanus* в качестве потенциального метода лечения аллергического ринита и астмы [56]. У пяти пациентов с рассеянным скле-

розом после инвазирования *Trichuris suis* (пероральное инфицирование яйцами гельминта) в течение 3 мес зарегистрировано уменьшение повреждений головного мозга по результатам магнитно-резонансной томографии [57]. Напротив, в рандомизированном контролируемом исследовании с участием 100 больных аллергическим ринитом, при инвазии *Trichuris suis* отмечалось развитие клиники гельминтоза в виде расстройств желудочно-кишечного тракта, без значимой динамики в течении ринита [58]. В другом исследовании заражение больных бронхиальной астмой возбудителем *Necator americanus* не привело к уменьшению симптомов заболевания [59].

В настоящее время преждевременны выводы относительно эффективности и безопасности экспериментального инфицирования гельминтами в целях терапии хронических неинфекционных заболеваний (воспалительные заболевания кишечника, аллергические болезни) в связи с малой численностью изучаемых групп и ограниченной продолжительностью наблюдения. Несмотря на полученные положительные результаты «гельминтотерапии» воспалительных заболеваний кишечника и рассеянного склероза, данная терапевтическая стратегия имеет очевидные недостатки, включая абдоминальный, диспепсический синдром, необходимость контроля интенсивности инвазии.

Что касается аллергических болезней дыхательных путей, то трансплантация модифицированной гельминтом микробиоты при отсутствии экспериментального инвазирования снижает уровень провоспалительных цитокинов у мышей-реципиентов в модели бронхиальной астмы, что может рассматриваться как более безопасный подход в профилактике обострений данной патологии [60].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая результаты современных исследований, следует сделать вывод, что снижение распространенности гельминтозов в популяции рассматривается в качестве одного из факторов риска развития хронических неинфекционных заболеваний, включая аллергические, аутоиммунные болезни, воспалительные заболевания кишечника. Эпидемиологические и экспериментальные данные свидетельствуют о важной роли гельминтов в регуляции иммунного ответа и снижении активности воспаления при аллергических и аутоиммунных болезнях. Раскрытие механизмов взаимодействия микробиоты пищеварительного тракта организма хозяина на фоне гельминтных

инвазий представляет перспективу разработки новых превентивных и терапевтических стратегий в отношении хронических неинфекционных заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. GBD 2015 Risk Factors Collaborators. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*. 2016; 388 (10053): 1659–1724. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)31679-8.
2. Maizels R.M. Infections and allergy – helminths, hygiene and host immune regulation. *Curr. Opin. Immunol.* 2005; 17 (6): 656–661. DOI: 10.1016/j.coi.2005.09.001.
3. Maslowski K.M., Mackay C.R. Diet, gut microbiota and immune responses. *Nat. Immunol.* 2011; 12 (1): 5–9. DOI: 10.1038/ni0111-5.
4. Zeissig S., Blumberg R.S. Commensal microbial regulation of natural killer T cells at the frontiers of the mucosal immune system. *FEBS Lett.* 2014; 588 (22): 4188–4194. DOI: 10.1016/j.febslet.2014.06.042.
5. Rook G.A. Hygiene hypothesis and autoimmune diseases. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2011 Feb.; 42 (1): 5–15. DOI: 10.1007/s12016-011-8285-8.
6. Feary J., Britton J., Leonardi-Bee J. Atopy and current intestinal parasite infection: a systematic review and meta-analysis. *Allergy*. 2011; 66 (4): 569–578. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2010.02512.x.
7. Cooper P.J., Chico M.E., Rodrigues L.C., Ordonez M., Strachan D., Griffin G.E., Nutman T.B. Reduced risk of atopy among school-age children infected with geohelminth parasites in a rural area of the tropics. *Allergy Clin. Immunol.* 2003; 111 (5): 995–1000. PMID: 12743563.
8. Fedorova O.S., Janse J.J., Ogorodova L.M. Fedotova M.M., Achterberg R.A., Verweij J.J., Fernández-Rivas M., Versteeg S.A., Potts J., Minelli C., van Ree R., Burney P., Yazdanbakhsh M. *Opisthorchis felinus* negatively associates with skin test reactivity in Russia-EuroPrevall-International Cooperation Study. *Allergy*. 2017; 72 (7): 1096–1104. DOI: 10.1111/all.13120.
9. Leonardi-Bee J., Pritchard D., Britton J. Asthma and current intestinal parasite infection: systematic review and meta-analysis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2006; 174 (5): 514–523. DOI: 10.1164/rccm.200603-331.
10. Maizels R.M., Yazdanbakhsh M. Immune Regulation by helminth parasites: cellular and molecular mechanisms. *Nat. Rev. Immunol.* 2003; 3 (9): 733–744. DOI: 10.1038/nri1183.
11. Огородова Л.М., Фрейдин М.Б., Сазонов А.Э., Федорова О.С., Деев И.А., Кремер Е.Э. Влияние инвазии *Opisthorchis felinus* на иммунный ответ при бронхиальной астме. *Бюллетень сибирской медицины*. 2010; 9 (3): 85–90. [Ogorodova L.M., Frejdin M.B., Sazonov A.E., Fedorova O.S., Deev I.A., Kremer E.E. *Opisthorchis felinus* invasion influence on immunity in bronchial asthma. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2010; 9 (3): 85–90 (in Russ.)].
12. Елисеева О.В., Кремер Е.Э., Огородова Л.М., Федорова О.С., Деев И.А. Клеточный иммунный ответ у детей, страдающих бронхиальной астмой, в сочетании с хронической описторхозной инвазией. *Вопросы диагностики в педиатрии*. 2011; 3 (2): 15–19. [Eliseeva O.V., Kremer E.E., Ogorodova L.M., Fedorova O.S., Deev I.A. Cellular immune response in children suffering from bronchial asthma in combination with chronic opisthorchiasis invasion. *Voprosy Diagnostiki v Pediatrii*. 2011; 3 (2): 15–19 (in Russ.)].
13. Round J., Mazmanian S.K. Inducible Foxp3+ regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010; 107 (27): 12204–12209. DOI: 10.1073/pnas.0909122107.
14. Atarashi K., Tanoue T., Shima T., Imaoka A., Kuwahara T., Momose Y., Cheng G., Yamasaki S., Saito T., Ohba Y., Taniguchi T., Takeda K., Hori S., Ivanov I.I., Umesaki Y., Itoh K., Honda K. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science*. 2011; 331 (6015): 337–341. DOI: 10.1126/science.1198469.
15. O'Hara A.M., Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep.* 2006; 7: 688–693. DOI: 10.1038/sj.embor.7400731.
16. Weinstock J.V., Elliott D.E. Helminths and the IBD hygiene hypothesis. *Inflamm. Bowel Dis.* 2009; 15 (1): 128–133. DOI: 10.1002/ibd.20633.
17. Zuo T., Kamm M.A., Colombel J.F., Ng S.C. Urbanization and the gut microbiota in health and inflammatory bowel disease. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2018; 15 (7): 440–452. DOI: 10.1038/s41575-018-0003-z.
18. Soon I.S., Molodecky N.A., Rabi D.M., Ghali W.A., Barkema H.W., Kaplan G.G. The relationship between urban environment and the inflammatory bowel diseases: a systematic review and meta-analysis. *BMC Gastroenterol.* 2012; 12: 51. DOI: 10.1186/1471-230X-12-51.
19. Zoetendal E.G., Puylaert P.G.B., Ou J., Vipperla K., Brouard F.M., Ruder E.H., Newton K., Carbonero F., Gaskins H.R., Vos W.M. de, O'Keefe S.J. Distinct microbiotas are present in urban and rural native South Africans, and in African Americans. *Gastroenterology*. 2013; 144 (5): S347. DOI: 10.1016/S0016-5085(13)61277-9.
20. De Filippo C., Cavalieri D., Di Paola M., Ramazzotti M., Poulet J.B., Massart S., Collini S., Pieraccini G., Lionetti P. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010; 107 (33): 14691–14696. DOI: 10.1073/pnas.1005963107.
21. Galvez J., Rodríguez-Cabezas M.E., Zarzuelo A. Effects of dietary fiber on inflammatory bowel disease. *Mol. Nutr. Food Res.* 2005; 49 (6): 601–608. DOI: 10.1002/mnfr.200500013.
22. Pituch-Zdanowska A., Banaszkiwicz A., Albrecht P. The role of dietary fibre in inflammatory bowel disease.

- Prz. Gastroenterol.* 2015; 10 (3): 135–141. DOI: 10.5114/pg.2015.52753.
23. Hou J.K., Abraham B., El-Serag H. Dietary intake and risk of developing inflammatory bowel disease: a systematic review of the literature. *Am. J. Gastroenterol.* 2011 Apr.; 106 (4): 563–573. DOI: 10.1038/ajg.2011.44.
 24. Swidsinski A., Ladhoff A., Pernthaler A., Swidsinski S., Loening-Baucke V., Ortner M., Weber J., Hoffmann U., Schreiber S., Dietel M., Lochs H. Mucosal flora in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* 2002; 122 (1): 44–54.
 25. Frank D.N., St Amand A.L., Feldman R.A., Boedeker E.C., Harpaz N., Pace N.R. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007; 104 (34): 13780–13785.
 26. Strauss J., Kaplan G.G., Beck P.L., Rioux K., Panaccione R., Devinney R., Lynch T., Allen-Vercoe E. Invasive potential of gut mucosa-derived *Fusobacterium nucleatum* positively correlates with IBD status of the host. *Inflamm. Bowel Dis.* 2011; 17 (9): 1971–1978. DOI: 10.1002/ibd.21606.
 27. Nadal I., Donat E., Ribes-Koninckx C., Calabuig M., Sanz Y. Imbalance in the composition of the duodenal microbiota of children with coeliac disease. *J. Med. Microbiol.* 2007; 56 (Pt 12): 1669–1674. DOI: 10.1099/jmm.0.47410-0.
 28. Sanchez E., Laparra J., Sanz Y. Discerning the role of *Bacteroides fragilis* in celiac disease pathogenesis. *App. and Environ. Microbiol.* 2012; 78: 6507–6515. DOI: 10.1128/AEM.00563-12.
 29. Matsuoka K., Hibi T. Treatment guidelines in inflammatory bowel disease: the Japanese perspectives. *Dig. Dis.* 2013; 31 (3-4): 363–367. DOI: 10.1159/000354696.
 30. Manichanh C., Borruel N., Casellas F., Guarner F. The gut microbiota in IBD. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2012 Oct.; 9 (10): 599–608. DOI: 10.1038/nrgastro.2012.152.
 31. Kostic A.D., Chun E., Robertson L. *Fusobacterium nucleatum* potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment. *Cell Host Microbe.* 2013 Aug. 14; 14 (2): 207–215. DOI: 10.1016/j.chom.2013.07.007.
 32. Shukla S.D., Budden K.F., Neal R., Hansbro P.M. Microbiome effects on immunity, health and disease in the lung. *Clin. Transl. Immunology.* 2017; 6 (3): e133. DOI: 10.1038/cti.2017.6.
 33. Петров В.А., Алифирова В.М., Салтыкова И.В., Жукова И.А., Жукова Н. Г., Дорофеева Ю.Б., Тяхт А.В., Алтухов И.А., Кострюкова Е.С., Титова М.А., Миронova Ю.С., Ижболдина О.П., Никитина М.А., Перевозчикова Т.В., Файт Е.А., Сазонов А.Э. Сравнительный анализ кишечной микробиоты при болезни Паркинсона и других неврологических заболеваниях. *Бюллетень сибирской медицины.* 2016; 15 (5): 113–125. [Petrov V.A., Alifirova V.M., Saltykova I.V., Zhukova I.A., Zhukova N.G., Dorofeeva Y.B., Tyakht A.V., Altukhov I.A., Kostryukova E.S., Titova M.A., Mironova Y.S., Izboldina O.P., Nikitina M.A., Perevozchikova T.V., Fait E.A., Sazonov A.E. Comparison study of gut microbiota in case of Parkinson's disease and other neurological disorders. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2016; 15 (5): 113–125 (in Russ.). DOI: 10.20538/1682-0363-2016-5-113-125.
 34. Herbst T., Sichelstiel A., Schär C., Yadava K., Bürki K., Cahenzli J., McCoy K., Marsland B.J., Harris N.L. Dysregulation of allergic airway inflammation in the absence of microbial colonization. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2011; 184 (2): 198–205. DOI: 10.1164/rcm.201010-1574OC.
 35. Summers R.W., Elliott D.E., Urban J.F., Thompson Jr., Weinstock J.V. *Trichuris suis* therapy in Crohn's disease. *Gut.* 2005; 54 (1): 87–90. DOI: 10.1136/gut.2004.041749.
 36. Croese J., Giacomini P., Navarro S., Clouston A., McCann L., Dougall A., Ferreira I., Susianto A., O'Rourke P., Howlett M., McCarthy J., Engwerda C., Jones D., Loukas A. Experimental hookworm infection and gluten microchallenge promote tolerance in celiac disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2015; 135 (2): 508–516. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.07.022.
 37. Reynolds L.A., Smith K.A., Filbey K.J., Hargus Y., Hewitson J.P., Redpath S.A., Valdez Y., Yebra M.J., Finlay B.B., Maizels R.M. Commensal-pathogen interactions in the intestinal tract: *Lactobacilli* promote infection with, and are promoted by, helminth parasites. *Gut. Microbes.* 2014; 5 (4): 522–532. DOI: 10.4161/gmic.32155.
 38. Walk S.T., Blum A.M., Ewing S.A., Weinstock J.V., Young V.B. Alteration of the murine gut microbiota during infection with the parasitic helminth, *Heligmosomoides polygyrus*. *Inflamm. Bowel Dis.* 2010; 16 (11): 1841–1849. DOI: 10.1002/ibd.21299.
 39. Brosschot T.P., Reynolds L.A. The impact of a helminth-modified microbiome on host immunity. *Mucosal. Immunol.* 2018; 11 (4): 1039–1046. DOI: 10.1038/s41385-018-0008-5.
 40. Grainger J.R., Smith K.A., Hewitson J.P., McSorley H.J., Hargus Y., Filbey K.J., Finney C.A., Greenwood E.J., Knox D.P., Wilson M.S., Belkaid Y., Rudensky A.Y., Maizels R.M. Helminth secretions induce de novo T cell Foxp3 expression and regulatory function through the TGF- β pathway. *J. Exp. Med.* 2010; 207 (11): 2331–2341. DOI: 10.1084/jem.20101074.
 41. Holm J.B., Sorobetea D., Kiilerich P., Ramayo-Caldas Y., Estellé J., Ma T., Madsen L., Kristiansen K., Svensson-Frej M. Chronic *Trichuris muris* infection decreases diversity of the intestinal microbiota and concomitantly increases the abundance of *Lactobacilli*. *PLoS One.* 2015; 10 (5): e0125495. DOI: 10.1371/journal.pone.0125495.
 42. Li R.W., Wu S., Li W., Navarro K., Couch R.D., Hill D., Urban J. Jr. Alterations in the porcine colon microbiota induced by the gastrointestinal nematode *Trichuris suis*. *Infect Immun.* 2012; 80 (6): 2150–2057. DOI: 10.1128/IAI.00141-12.

43. Wu S., Li R.W., Li W., Beshah E., Dawson H.D., Urban J.F.r. Worm burden-dependent disruption of the porcine colon microbiota by *Trichuris suis* infection. *PLoS One*. 2012; 7 (4): e35470. DOI: 10.1371/journal.pone.0035470.
44. Cooper P., Walker A.W., Reyes J., Chico M., Salter S.J., Vaca M., Parkhill J. Patent human infections with the whipworm, *Trichuris trichiura*, are not associated with alterations in the faecal microbiota. *PLoS One*. 2013; 8 (10): e76573. DOI: 10.1371/journal.pone.0076573.
45. Lee S.C., Tang M.S., Lim Y.A., Choy S.H., Kurtz Z.D., Cox L.M., Gundra U.M., Cho I., Bonneau R., Blaser M.J., Chua K.H., Loke P. Helminth colonization is associated with increased diversity of the gut microbiota. *PLoS Negl. Trop. Dis*. 2014; 8 (5): e2880. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002880.
46. Plieskatt J.L., Deenonpoe R., Mulvenna J.P., Krause L., Sripa B., Bethony J.M., Brindley P.J. Infection with the carcinogenic liver fluke *Opisthorchis viverrini* modifies intestinal and biliary microbiome. *FASEB J*. 2013; 27 (11): 4572–4584. DOI: 10.1096/fj.13-232751.
47. Deenonpoe R., Chomvarin C., Pairojkul C., Chamgramol Y., Loukas A., Brindley P.J., Sripa B. The Carcinogenic liver fluke *Opisthorchis viverrini* is a reservoir for species of *Helicobacter*. *Asian Pac. J. Cancer Prev*. 2015; 16 (5): 1751–1758. PMID: PMC4945248.
48. Saltykova I.V., Petrov V.A., Logacheva M.D., Ivanova P.G., Merzlikin N.V., Sazonov A.E., Ogorodova L.M., Brindley P.J. Biliary microbiota, gallstone disease and infection with *Opisthorchis felinus*. *PLoS Negl. Trop. Dis*. 2016; 10 (7): e0004809. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004809.
49. Chng K.R., Chan S.H., Ng A.H.Q., Li C., Jusakul A., Bertrand D., Wilm A., Choo S.P., Tan D.M.Y., Lim K.H., Soetinko R., Ong C.K., Duda D.G., Dima S., Popescu I., Wongkham C., Feng Z., Yeoh K.G., Teh B.T., Yongvanit P., Wongkham S., Bhudhisawasdi V., Khuntikeo N., Tan P., Pairojkul C., Ngeow J., Nagarajan N. Tissue microbiome profiling identifies an enrichment of specific enteric bacteria in *Opisthorchis viverrini* associated cholangiocarcinoma. *EBio Medicine*. 2016; 8: 195–202. DOI: 10.1016/j.ebiom.2016.04.034.
50. Глинская О.Н. Клинико-функциональное состояние желудка и тонкой кишки у больных хроническими воспалительными заболеваниями кишечника в сочетании с хроническим описторхозом: дис. ... канд. мед. наук. Томск, 2007: 216. [Glinskaja O.N. Clinical and functional state of the stomach and small intestine in patients with chronic inflammatory diseases of the bowel in combination with chronic opisthorchiasis [dissertation]. Tomsk, 2007. 216. (in Russ.)].
51. Светлова И.О., Валуjsких Е.Ю. Влияние описторхисной инвазии на клинические проявления хронических воспалительных заболеваний кишечника. *Бюллетень СО РАМН*. 2009; 3 (137): 76–80. [Svetlova I.O., Valujskih E.Ju. Effect of *Opisthorchis felinus* invasion on clinical manifestations of inflammatory bowel diseases. *Bjulleten' SO RAMN*. 2009; 3 (137): 76–80 (in Russ.)].
52. Matsukura N., Yokomuro S., Yamada S., Tajiri T., Sundo T., Hadama T., Kamiya S., Naito Z., Fox J.G. Association between *Helicobacter bilis* in bile and biliary tract malignancies: *H. bilis* in bile from Japanese and Thai patients with benign and malignant diseases in the biliary tract. *Jpn. J. Cancer Res*. 2002; 93 (7): 842–847. PMID: PMC5927065.
53. Sripa B., Brindley P.J., Mulvenna J., Laha T., Smout M.J., Mairiang E., Bethony J.M., Loukas A. The tumorigenic liver fluke *Opisthorchis viverrini* – multiple pathways to cancer. *Trends Parasitol*. 2012; 28 (10): 395–407. DOI: 10.1016/j.pt.2012.07.006.
54. Pakharukova M.Y., Laha T., Sripa B., Maksimova G.A., Rinaldi G., Brindley P.J., Mordvinov V.A., Amaro T., Santos L.L., Costa J.M., Vale N. Infection with *Opisthorchis felinus* induces intraepithelial neoplasia of the biliary tract in a rodent model. *Carcinogenesis*. 2017; 38 (9): 929–937. DOI: 10.1093/carcin/bgx042.
55. Croese J., O'Neil J., Masson J., Cooke S., Melrose W., Pritchard D., Speare R. A proof of concept study establishing *Necator americanus* in Crohn's patients and reservoir donors. *Gut*. 2006; 55: 136–137. DOI: 10.1136/gut.2005.079129.
56. Wammes L.J., Mpairwe H., Elliott A.M., Yazdanbakhsh M. Helminth therapy or elimination: epidemiological, immunological, and clinical considerations. *Lancet Infect Dis*. 2014; 14 (11): 1150–1162. DOI: 10.1016/S1473-3099(14)70771-6.
57. Fleming J.O., Isaak A., Lee J.E., Luzzio C.C., Carrithers M.D., Cook T.D., Field A.S., Boland J., Fabry Z. Probiotic helminth administration in relapsing-remitting multiple sclerosis: a phase 1 study. *Mult. Scler*. 2011; 17 (6): 743–754. DOI: 10.1177/1352458511398054.
58. Bager P., Arned J., Ronborg S., Wohlfahrt J., Poulsen L.K., Westergaard T., Petersen H.W., Kristensen B., Thamsborg S., Roepstorff A., Kapel C., Melbye M. *Trichuris suis* ova therapy for allergic rhinitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J. Allergy Clin. Immunol*. 2010; 125 (1): 123–130. e1–3. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.08.006.
59. Feary J.R., Venn A.J., Mortimer K., Brown A.P., Hooi D., Falcone F.H., Pritchard D.I., Britton J.R. Experimental hookworm infection: a randomized placebo-controlled trial in asthma. *Clin. Exp. Allergy*. 2010; 40 (2): 299–306. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2009.03433. x.
60. Zaiss M.M., Rapin A., Lebon L., Dubey L.K., Mosconi I., Sarter K., Piersigilli A., Menin L., Walker A.W., Rougemont J., Paerewijck O., Geldhof P., McCoy K.D., Macpherson A.J., Croese J., Giacomini P.R., Loukas A., Junt T., Marsland B.J., Harris N.L. The intestinal microbiota contributes to the ability of helminths to modulate allergic inflammation. *Immunity*. 2015; 43 (5): 998–1010. DOI: 10.1016/j.immuni.2015.09.012.

Сведения об авторах

Соколова Татьяна Сергеевна, аспирант, кафедра факультетской педиатрии с курсом детских болезней, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-1085-0733.

Федорова Ольга Сергеевна, д-р мед. наук, зав. кафедрой факультетской педиатрии с курсом детских болезней, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-7130-9609.

Салтыкова Ирина Владимировна, канд. мед. наук, центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-0457-5392.

Петров Вячеслав Алексеевич, мл. науч. сотрудник, центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-1085-0733.

Федотова Марина Михайловна, канд. мед. наук, ассистент, кафедра факультетской педиатрии с курсом детских болезней, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-7655-7911.

Ковширина Юлия Викторовна, канд. мед. наук, ассистент, кафедра инфекционных болезней и эпидемиологии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-6818-9792.

Деев Иван Анатольевич, д-р мед. наук, профессор, кафедра факультетской педиатрии с курсом детских болезней, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-4449-4810.

Огородова Людмила Михайловна, д-р мед. наук, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, профессор, кафедра факультетской педиатрии с курсом детских болезней, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-2962-1076.

(✉) **Соколова Татьяна Сергеевна**, e-mail: rizhakovats@gmail.com.

Поступила в редакцию 11.02.2019

Подписана в печать 11.06.2019

Authors information

Sokolova Tatiana S., Postgraduate student, Division of Intermediate-Level Pediatrics with a Course of Childhood Diseases, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-1085-0733.

Fedorova Olga S., DM, Head of the Division, Division of Intermediate-Level Pediatrics with a Course of Childhood Diseases, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-7130-9609.

Saltykova Irina V., PhD, Research Fellow, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-0457-5392.

Petrov Vyacheslav A., Junior Research Fellow, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-1085-0733.

Fedotova Marina M., PhD, Associate Professor, Division of Intermediate-Level Pediatrics with a Course of Childhood Diseases, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-7655-7911.

Kovshirina Yulia V., PhD, Associate Professor, Division of Infectious Diseases and Epidemiology, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-6818-9792.

Deev Ivan A., DM, Professor, Division of Intermediate-Level Pediatrics with a Course of Childhood Diseases, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-4449-4810.

Ogorodova Ludmila M., DM, Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Division of Intermediate-Level Pediatrics with a Course of Childhood Diseases, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-2962-1076.

(✉) **Sokolova Tatiana S.**, e-mail: rizhakovats@gmail.com.

Received 11.02.2019

Accepted 11.06.2019

УДК 616.5-006.81:575.224.22
[https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2019-3-226–231](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-226-231)

Сочетание мутаций генов *BRAF* и *NRAS* в пределах одной опухоли у пациентов с меланомой кожи

Аксененко М.Б., Аверчук А.С., Рукша Т.Г.

Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого
(КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого)
Россия, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

РЕЗЮМЕ

До недавнего времени считалось, что мутации в генах *BRAF* и *NRAS* являются взаимоисключающими и не встречаются в пределах одной опухоли. В последующем было выявлено, что данные мутации могут наблюдаться вместе, но это по-прежнему является достаточно редким явлением.

Цель исследования – определить возможность сочетания взаимоисключающих мутаций в генах *BRAF* и *NRAS* и проанализировать взаимосвязь мутационного статуса опухоли с экспрессией не-мутантного белка *NRAS*.

Материалы и методы. Определение мутации *BRAF* V600E в опухоли проводилось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, а во 2-м и 3-м экзоне гена *NRAS* – методом секвенирования по Сенгеру. Оценка экспрессии белка *NRAS* дикого типа осуществлялась методом иммуногистохимии.

Результаты. Выявлены мутации в 15-м экзоне гена *BRAF* с.1799T>A (V600E) и во 2-м экзоне гена *NRAS* p.G13S (с.37 G>A). Уровень экспрессии не мутантного белка *NRAS* в обоих случаях различался. У одного пациента, несмотря на наличие мутации в гене *NRAS*, в менее чем 5% опухолевых клеток нормальный белок не экспрессировался.

Заключение. Данный феномен можно связать с возможными эпигенетическими нарушениями экспрессии генов на посттранскрипционном уровне.

Ключевые слова: меланома кожи, *BRAF*, *NRAS*, мутации.

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

Источник финансирования. Работа поддержана госзадаанием «Разработка методов детекции и идентификация мутаций гена *cKIT* на основе технологий ПЦР в реальном времени и секвенирования для выбора средств персонализированной терапии меланомы».

Для цитирования: Аксененко М.Б., Аверчук А.С., Рукша Т.Г. Сочетание мутаций генов *BRAF* и *NRAS* в пределах одной опухоли у пациентов с меланомой кожи. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 226–231. [https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2019-3-226–231](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-226-231).

УДК 616.5-006.81:575.224.22
[https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2019-3-226–231](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-226-231)

The combination of mutations in *BRAF* and *NRAS* genes within a one tumor in patients with cutaneous melanoma

Aksenenko M.B., Averchuk A.S., Ruksha T.G.

✉ Аксененко Мария Борисовна, e-mail: aksenenko_mariya@mail.ru.

Krasnoyarsk State Medical University n.a. prof. V.F. Voyno-Yasenetsky (KrasSMU n.a. prof. V.F. Voyno-Yasenetsky) 1, P. Zheleznyaka Str., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

ABSTRACT

The paper provides a clinical description and analysis of two melanoma cases with mutations in the *BRAF* and *NRAS* gene within one tumor. Until recently, it was believed that mutations in the *BRAF* and *NRAS* genes are exclusive and do not occur within the same tumor. Later it was revealed that these mutations can exist within one tumor, but this is still quite a rare phenomenon. Molecular genetic analysis of the tumor obtained from both patients showed a mutation in the 15 exon of the *BRAF* gene c.1799T>A (V600E) and exon 2 of the *NRAS* p.G13S gene (p.37 G>A). The expression level of non-mutant NRAS protein was different in both cases. In conclusion, so in one patient, despite the presence of a mutation in the *NRAS* gene, the level of expression of the non-mutant protein was absent, which can be related to possible posttranscriptional disorders in the regulation of gene expression.

Key words: melanoma of the skin, *BRAF*, *NRAS*, mutations.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. This work was supported by the state assignment "Development of detection methods and identification of cKIT gene mutations based on real-time PCR and sequencing technologies for choosing personalized melanoma therapy".

For citation: Aksenenko M.B., Averchuk A.S., Ruksha T.G. The combination of mutations in *BRAF* and *NRAS* genes within a one tumor in patients with cutaneous melanoma. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 226–231. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-226-231>.

ВВЕДЕНИЕ

Сигнальный каскад MAPK, состоящий из RAS-RAF-МЕК-ERK протеинкиназ, участвует в регуляции множества важных функций в клетке, таких как пролиферация, дифференцировка, миграция, апоптоз [1]. Усиленная активация сигнального пути MAPK может быть вызвана мутациями в генах *RTK*, *HRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *NF1* [2]. Наличие активирующих мутаций в одном из вышеперечисленных генов не приводит к нарушению проведения сигнала внутрь клетки, так как другие участники данного сигнального каскада берут на себя данную функциональную роль. Около 25% всех злокачественных опухолей имеют нарушения регуляции сигнального каскада MAPK, связанные с увеличением продукции активирующих лигандов, а также наличием активирующих мутаций в генах семейств RTKs, RAS и RAF [3]. При меланоме кожи нарушения в MAPK сигнальном каскаде связаны, как правило, с активирующей мутацией в гене *BRAF* в 50% случаев или с мутацией в гене *NRAS* в 15% случаев [4]. Данный факт демонстрирует важность контроля регуляции MAPK в гомеостазе меланоцитов. До недавнего времени считалось, что мутации в генах *BRAF* и *NRAS* являются взаимоисключающими, что может быть связано с развитием в данном случае самоиндуцированного апоптоза,

вызываемого стойкой гиперактивацией сигнального каскада MAPK [5].

В литературе последних лет появились данные о том, что мутации в генах *BRAF* и *NRAS* не являются взаимоисключающими и могут встречаться вместе [5]. Выявлено, что обе эти мутации могут существовать в небольшой области (около 10 тыс. клеток), выделенных путем лазерной микродиссекции [6]. Несмотря на вышеперечисленные аргументы, сочетание данных мутаций является достаточно редким событием. Проведенное исследование было направлено на определение мутационного статуса в генах *BRAF* и *NRAS* у больных меланомой кожи. Пациенты находились на лечении в КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер имени А.И. Крыжановского».

Цель данного исследования – определение возможности сочетания взаимоисключающих мутаций в генах *BRAF* и *NRAS* и анализ взаимосвязи мутационного статуса опухоли с экспрессией немутантного белка NRAS. Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Выявить сочетание мутаций в генах *BRAF* и *NRAS* в пределах одной опухоли у пациентов с меланомой кожи.

2. Описать иммуногистохимическую картину экспрессии белка NRAS дикого типа у больных с различным NRAS-мутантным статусом.

3. Проанализировать взаимосвязь сочетания мутаций в генах *BRAF* и *NRAS* с экспрессией немутантного белка *NRAS*.

Анализ мутации *BRAF* V600E осуществлялся методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием набора Real-Time-PCR-BRAF V600E (Биолинк, Россия). Мутационный статус опухоли определялся при расчете разницы (ΔC_t) между C_t образца в реакции со специфичными V600E праймерами и C_t того же образца в контрольной реакции. Образец ДНК расценивался как положительный (т.е. содержащий мутацию), если ΔC_t образца $\leq \Delta C_t$ положительного стандарта, содержащего 1% ДНК с мутацией.

Определение мутационного статуса 2-го и 3-го экзона гена *NRAS* проводилось методом секвенирования по Сенгеру. На первом этапе исследования проводилась постановка реакции амплификации ПЦР. Для приготовления ПЦР-смеси использовали набор Encyclo Plus PCR kit (Евроген, Россия). Последовательность праймеров для гена *NRAS* была следующей: Forward 5'-ATAGCATTGCATTCCCTGTG; Reverse 5'-GCGGATATTAACCTCTACAGG. Условия ПЦР (*NRAS*): предварительная денатурация 95 °C – 3 мин, далее денатурация 95 °C – 30 с, отжиг 54 °C – 40 с, элонгация 72 °C – 40 с; всего 38 циклов, в завершении финальная элонгация 72 °C – 3 мин.

Для постановки иммуногистохимической реакции была использована безбиотинная система детекции REVEAL Biotin-Free Polyvalent (Spring, BioScience, США). В качестве первичных антител применялись моноклональные антитела, клон AT2G9 (antibodies-online, США). Визуализацию продукта реакции проводили хромогеном АЕС (амино-этил-корбазол) (Sigma, США). Подсчет положительно окрашенных клеток выполняли при увеличении $\times 600$ с помощью микроскопа Olympus BX-41, программа Infinity Capture, камера Lumenera Corporation и Software V.4.6.0.

Клинический случай № 1. Пациентка К., 35 лет, диагноз «меланома кожи левого бедра, метастазы в паховые лимфатические узлы слева». Толщина опухоли по Бреслоу составила 4,46 мм. Больной было выполнено иссечение опухолевого узла, а также пахово-подвздошная лимфаденэктомия слева. У данной пациентки выявлено наличие мутации в гене *BRAF* p.V600E (с.1799 T>A), связанной с заменой глутамата на валин в положении 600 (рис. 1), также мутации *NRAS* p.G13S (с.37 G>A), приводящей к замене глицина на серин в 13-м положении.

Multicomponent Plot

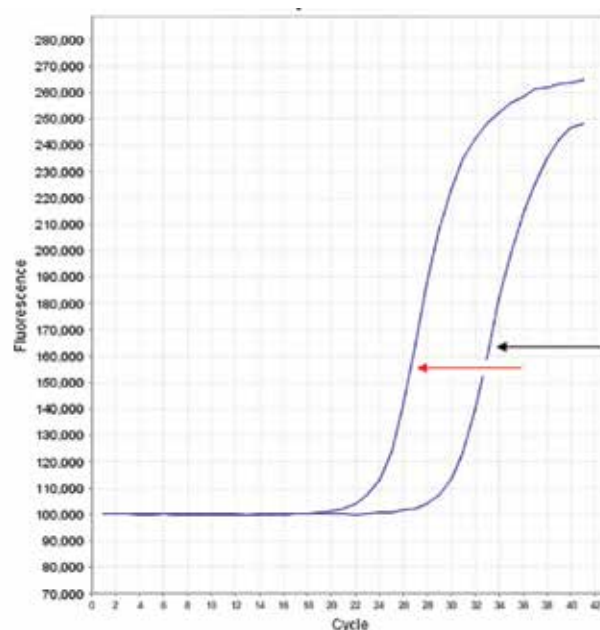


Рис. 1. Определение наличия мутации *BRAF* V600E методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Детекция мутации *BRAF* V600E, ДНК с мутацией (красная стрелка), ДНК без мутации (черная стрелка)

Fig. 1. Allele-specific real-time PCR for *BRAF* gene V600E mutation identification, mutated DNA (red arrow), wild-type DNA (black arrow)

Вышеуказанная нуклеотидная замена затрагивала менее 5% мутантных клеток и была определена в реакции секвенирования с обогащением мутантным аллелем (рис. 2, а, б). В 3-м экзоне гена *NRAS* у данной пациентки не было обнаружено нуклеотидных замен. Для оценки уровня экспрессии белка *NRAS* проводилось иммуногистохимическое определение экспрессии белка *NRAS* дикого типа. Определено отсутствие экспрессии вышеуказанного белка как в клетках опухоли, так и в клетках стромального микроокружения (рис. 3).

Клинический случай № 2. Пациент Н., 48 лет, диагноз «меланома межлопаточной области, метастазы в лимфатические узлы шеи, туловища и конечностей». Молекулярно-генетический статус данного больного был аналогичен первому пациенту: выявлено присутствие мутаций *BRAF* V600E и *NRAS* G13S.

Иммуногистохимическое исследование экспрессии немутантного белка *NRAS* выявило наличие положительного окрашивания в опухолевых клетках (красного цвета) и наличие негативного окрашивания в опухоль-ассоциированных лимфоцитах синего цвета (рис. 4).

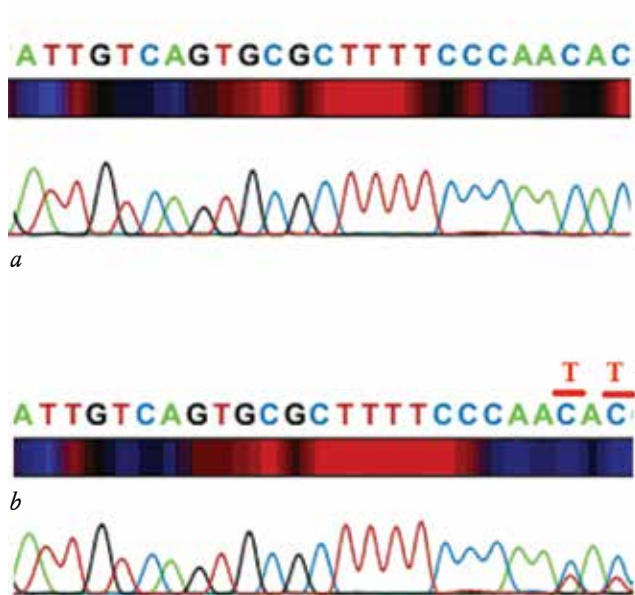


Рис. 2. Определение мутации в гене *NRAS* методом секвенирования по Сэнгеру: *a* – без обогащения мутантным аллелем (визуализируется хроматограмма дикого типа); *b* – с обогащением мутантным аллелем (определяется нуклеотидная замена p.G13S (с.37 G>A)). Хроматограмма выполнена с обратного праймера

Fig. 2. Detection of the mutation in *NRAS* gene by Sanger sequencing: *a* – without enrichment of a mutant allele (shows a wild-type DNA chromatogram); *b* – with enrichment of mutant allele (the nucleotide substitution of p.G13S (c.37 G>A)). The chromatogram was performed with the reverse primer

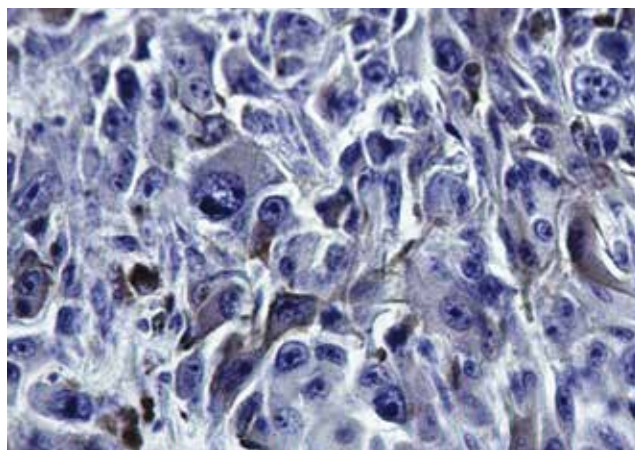


Рис. 3. Негативное иммуногистохимическое окрашивание с антителами к немутантному *NRAS* у пациента, имеющего менее 5% мутантных клеток, $\times 400$

Fig. 3. Immunohistochemical staining with antibodies to non-mutant *NRAS*. $\times 400$. Negative immunohistochemical staining with antibodies to *NRAS* wild-type. The patient has less than 5% mutant cells, $\times 400$

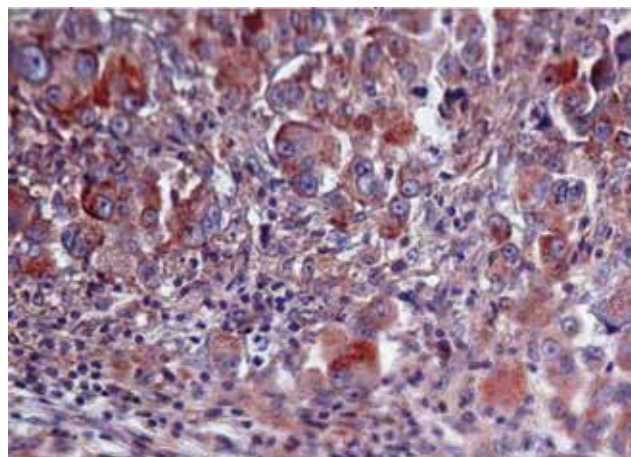


Рис. 4. Позитивное иммуногистохимическое окрашивание с антителами к немутантному *NRAS*, $\times 400$

Fig. 4. Immunohistochemical staining with antibodies to non-mutant *NRAS*, $\times 400$. Positive immunohistochemical staining with antibodies to *NRAS* wild-type, $\times 400$

Мутационные изменения при меланоме кожи затрагивают гены *BRAF* и *NRAS*, однако в 95% врожденных невусов наблюдаются подобного рода изменения [7]. Высокая распространенность *BRAF*-мутации отмечается и при диспластических невусах [8]. Большой процент мутаций в генах *BRAF* и *NRAS* в невусах доказывает то, что активация MAPK-киназного сигнального каскада из-за возникновения мутаций в генах *BRAF* и *NRAS* не является достаточной для злокачественной трансформации [9]. *BRAF*-мутации способствуют злокачественной гиперплазии меланоцитов, но без дополнительных мутаций не способны инициировать процесс канцерогенеза. В частности, усиленная экспрессия онкогенных *BRAF* и *NRAS* в нормальных меланоцитах невуса запускает в них процессы апоптоза и параллельно с этим ограничивает процессы пролиферации [10]. Вместе с тем наличие таких драйверных мутаций, как *BRAF* и *NRAS*, является триггерным фактором в опухолевой трансформации нормальных клеток, ведет к образованию первичного опухолевого клона. Драйверные мутации создают генетическую нестабильность и приводят к появлению вторичных мутаций, под влиянием которых могут появляться уже новые субклоны опухолевых клеток, которые будут, в том числе, устойчивыми к химиотерапии. Драйверная мутация создает идеальную мишень для таргетных («целевых») препаратов, поскольку установлено, что жизнеспособность опухолевой клетки зависит от наличия драйверных мутаций, которые «блокируют» другие механизмы

биологической регуляции в клетках [11]. К числу драйверных мутаций относят мутации в 600-м положении гена *BRAF*, а также в 12-, 13- и 61-м положениях гена *NRAS*.

У пациента из клинического случая № 1 незначительное содержание мутантных опухолевых клеток в образце соответствовало негативной иммуногистохимической реакции в отношении белка *NRAS*. У пациента из клинического случая № 2 наличие высокого числа мутантных клеток при секвенировании не было связано с уровнем *NRAS*. Различия белковой экспрессии *NRAS* у двух пациентов можно объяснить воздействием эпигенетических факторов на уровень белка. В качестве эпигенетических регуляторов экспрессии генов могут выступать микроРНК. Изменения экспрессионного профиля различных микроРНК способны оказывать влияние на экспрессию их генов-мишеней, среди которых могут быть гены *BRAF* и *NRAS*, а также регуляцию сигнальных каскадов с участием гена *NRAS*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определение мутационного статуса опухоли является важной составляющей частью персонализированного подхода в терапии пациентов онкологического профиля. Выявление у больного с меланомой кожи мутации *BRAF* V600E является критерием, который должен учитываться при отборе пациентов для проведения таргетной терапии *BRAF*-ингибиторами. Детекция мутации в гене *NRAS* G13S (с.37 G>A) была описана COSMIC (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer) (<https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/mutation/overview?id=571>), но, по данным литературы, она не имеет четко выраженной взаимосвязи с различными клинко-морфологическими данными пациентов, а также дальнейшим исходом заболевания.

В этой связи данный факт может не иметь важного прогностического значения в вопросе дальнейшей тактики ведения описанных пациентов, но при этом наглядно демонстрирует проявления внутриопухолевой гетерогенности на молекулярно-генетическом уровне. Наличие небольшого процента опухолевых клеток, имеющих мутации, может быть показателем того, что внутри опухоли существуют различные малые субпопуляции опухолевых клеток, которые эволюционируют по мере прогрессирования заболевания и проявляют генотипические и фенотипические различия, в частности появление *NRAS*-мутантных клеток на фоне уже имеющихся *BRAF*-мутантных опухолевых клеток. Из-за этих различий опухолевых субклонов одна и та же опухоль может обладать различными механизмами

химиотерапевтической резистентности у одного и того же пациента. Существуют данные о том, что появление мутации в гене *NRAS* может быть также связано с применением *BRAF*-ингибиторов у пациентов с меланомой кожи в 18% случаев [12]. Различия в экспрессии немутантного белка *NRAS* могут быть связаны с постгеномными нарушениями в опухоли первого пациента.

ЛИТЕРАТУРА/ REFERENCES

1. Sun Y., Liu W.Z., Liu T., Feng X., Yang N., Zhou H.F. Signaling pathway of MAPK/ERK in cell proliferation, differentiation, migration, senescence and apoptosis. *Recept Signal Transduct. Res.* 2015; 35 (6): 600–604. DOI: 10.3109/10799893.2015.1030412.
2. Palmieri G., Ombra M., Colombino M., Casula M., Sini M., Manca A., Paliogiannis P., Ascierto P.A., Cossu A. Multiple molecular pathways in melanomagenesis: Characterization of Therapeutic Targets. *Front Oncol.* 2015; 10 (5): 183. DoiDOI: 10.3389/fonc.2015.00183.
3. Hymowitz S.G., Malek S. Targeting the MAPK Pathway in RAS Mutant Cancers. *Cold Spring Harb Perspect. Med.* 2018; 8 (11). pii: a031492. DOI: 10.1101/cshperspect.a031492.
4. Thomas N.E., Edmiston S.N., Orlow I., Kanetsky P.A., Luo L., Gibbs D.C., Parrish E.A., Hao H., Busam K.J., Armstrong B.K., Krickler A., Cust A.E., Anton-Culver H., Gruber S.B., Gallagher R.P., Zanetti R., Rosso S., Sacchetti L., Dwyer T., Ollila D.W., Begg C.B., Berwick M., Conway K., GEM Study Group. Inherited Genetic Variants Associated with Melanoma BRAF/NRAS Subtypes. *Invest Dermatol.* 2018; 138 (11): 2398–2404. DOI: 10.1016/j.jid.2018.04.025.
5. Stones C.J., Kim J.E., Joseph W.R., Leung E., Marshall E.S., Finlay G.J., Shelling A.N., Baguley B.C. Comparison of responses of human melanoma cell lines to MEK and BRAF inhibitors. *Front Genet.* 2013; 8 (4): 66. DOI: 10.3389/fgene.2013.00066.
6. Chiappetta C., Proietti I., Soccodato V., Puggioni C., Zaralli R., Pacini L., Porta N., Skroza N., Petrozza V., Potenza C., Della Rocca C., Di Cristofano C. BRAF and NRAS mutations are heterogeneous and not mutually exclusive in nodular melanoma. *Appl. Immun. Mol. Morphol.* 2015; 23 (3): 172–177. DOI: 10.1097/PAI.0000000000000071.
7. Etchevers H.C., Rose C., Kahle B., Vorbringer H., Fina F., Heux P., Berger I., Schwarz B., Zaffran S., Macagno N., Krengel S. Giant congenital melanocytic nevus with vascular malformation and epidermal cysts associated with a somatic activating mutation in BRAF. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2018; 31 (3): 437–441. DOI: 10.1111/pcmr.12685.
8. Roh M.R., Eliades P., Gupta S., Tsao H. Genetics of Melanocytic Nevi. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2015; 28 (6): 661–672. DOI: 10.1111/pcmr.12412.

9. Xia J., Jia P., Hutchinson K.E., Dahlman K.B., Johnson D., Sosman J., Pao W., Zhao Z. A meta-analysis of somatic mutations from next generation sequencing of 241 melanomas: a road map for the study of genes with potential clinical relevance. *Mol. Cancer Ther.* 2014; 13 (7): 1918–1928. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-13-0804.
10. Francis J.H., Grossniklaus H.E., Habib L.A., Marr B., Abramson D.H., Busam K.J. BRAF, NRAS, and GNAQ mutations in conjunctival melanocytic Nevi. *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* 2018; 59 (1): 117–121. DOI: 10.1167/iov.17-22517.
11. Tímár J., Vizkeleti L., Doma V., Barbai T., Rásy E. Genetic progression of malignant melanoma. *Cancer Metastasis Rev.* 2016; 35 (1): 93–107. DOI: 10.1007/s10555-016-9613-5.
12. Raaijmakers M.L., Widmer D.S., Narechania A., Eichhoff O., Freiburger S.N., Wenzina J., Cheng P.F., Mihic-Probst D., Desalle R., Dummer R., Levesque M.P. Co-existence of BRAF and NRAS driver mutations in the same melanoma cells results in heterogeneity of targeted therapy resistance. *Oncotarget.* 2016; 7 (47): 77163–77174. DOI: 10.18632/oncotarget.12848.

Сведения об авторах

Аксененко Мария Борисовна, канд. мед. наук, доцент, кафедра патологической физиологии, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID iD 0000-0001-7660-700X.

Аверчук Антон Сергеевич, канд. биол. наук, доцент, кафедра патологической физиологии, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID ID 0000-0002-1284-6711.

Рукша Татьяна Геннадьевна, д-р мед. наук, зав. кафедрой патологической физиологии, КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, г. Красноярск. ORCID ID 0000-0001-8142-4283.

(✉) Аксененко Мария Борисовна, e-mail: aksenenko_mariya@mail.ru.

Author information

Aksenenko Mariya B., PhD, Assistant of Professor, Department of Pathological Physiology, KrasSMU n.a. prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-7660-700X.

Avershuk Anton S., PhD, Assistant of Professor, Department of Pathological Physiology, KrasSMU n.a. prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID ID 0000-0002-1284-6711.

Ruksha Tatiana G., DM, Head of Department of Pathophysiology, KrasSMU n.a. prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-8142-4283.

(✉) Aksenenko Mariya B., e-mail: aksenenko_mariya@mail.ru.

Поступила в редакцию 14.07.2018
Подписана в печать 11.06.2019

Received 14.07.2018
Accepted 11.06.2019

Венозный тромбоз эмболизм как первая манифестация распространенного опухолевого процесса (синдром Труссо)

Дворецкий Л.И.¹, Дядьков И.Н.², Степанченко А.П.², Дубровская Н.В.¹

¹Первый Московский государственный медицинский университет (Первый МГМУ) имени И.М. Сеченова
Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8/2

²Городская клиническая больница (ГКБ) имени С.С. Юдина
Россия, 115446, г. Москва, Коломенский пр., 4

РЕЗЮМЕ

Приводится описание больного со скрыто протекающим опухолевым процессом, у которого развились рецидивирующие тромбозы поверхностных и глубоких вен нижних конечностей, общих подвздошных вен, тромбоз эмболизм легочной артерии, тромб в правом желудочке, инфаркт селезенки. При обследовании выявлен бронхогенный рак легкого с метастазами в бронхопульмональные лимфоузлы и печень, подтвержденный при патологоанатомическом исследовании.

Ключевые слова: венозные тромбозы, злокачественные опухоли, паранеопластическая тромбофилия.

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

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии источника финансирования при проведении исследования.

Для цитирования: Дворецкий Л.И., Дядьков И.Н., Степанченко А.П., Дубровская Н.В. Венозный тромбоз эмболизм как первая манифестация распространенного опухолевого процесса (синдром Труссо). *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 232–237. [https://doi.org/ 10.20538/1682-0363-2019-3-232–237](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-232-237).

Venous thromboembolism as the first manifestation of disseminated malignancy (Trusso's syndrome)

Dvoretzky L.I.¹, Dyadkov I.N.², Stepanchenko A.P.², Dubrovskaya N.V.¹

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University
8/2, Trubetskaya Str., Moscow, 119991, Russian Federation

²S.S. Yudin City Clinical Hospital of Moscow Health Department
4, Kolomenskiy Pr., Moscow, 115446, Russian Federation

ABSTRACT

A description is given of a patient with a latent tumor process that has developed recurrent thrombosis of the superficial and deep veins of the lower extremities, common iliac veins, PE, a blood clot in the right ventricle, and a spleen infarction. The examination revealed bronchogenic lung cancer with metastases to the bronchopulmonary lymph nodes and liver, confirmed by an autopsy.

Key words: venous thrombosis, malignant tumors, paraneoplastic thrombophilia.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

For citation: Dvoretzky L.I., Dyadkov I.N., Stepanchenko A.P., Dubrovskaya N.V. Venous thromboembolism as the first manifestation of disseminated malignancy (Trusso's syndrome). *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 232–237. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-232-237>.

ВВЕДЕНИЕ

Среди причин венозных тромбозов важное место занимают злокачественные опухоли. На ассоциацию венозных тромбозов с опухолевыми заболеваниями первым обратил внимание известный французский клиницист Арман Труссо [1]. Венозные тромбозы в сочетании с тромбозом легочной артерии (ТЭЛА), обозначаемые в литературе как венозный тромбоз (ВТЭМ), диагностируются у 20% больных злокачественными опухолями, а у 50% выявляются на аутопсии. Особенности паранеопластических ВТЭМ являются: развитие на разных стадиях опухолевого процесса, повышенный риск рецидивов и ТЭЛА по сравнению с неопухолевыми больными, более высокий риск кровотечений при антикоагулянтной терапии [2]. В ряде случаев ВТЭМ опережают клинические проявления злокачественных опухолей и могут становиться ключевым признаком в диагностике скрыто протекающего онкологического заболевания. Приводим собственное наблюдение.

Клинический пример

Больной К., 51 г., поступил в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) № 2 ГКБ им. С.С. Юдина 17.06.2018 г. с жалобами на выраженную одышку, общую слабость. С 18.05.2018 по 25.05.2018 г. находился в ГКБ им. В.В. Вересаева в связи с тромбозом поверхностной вены голени справа, по поводу чего произведена перевязка большой подкожной вены (крессэктомия). Через три недели после выписки появилась нарастающая одышка, слабость, в связи с чем госпитализирован в ОРИТ № 2 ГКБ им. С.С. Юдина. Анамнез жизни без особенностей. Общее состояние при поступлении тяжелое. Сознание ясное, положение активное. Кожные покровы бледные, горячие, влажные. Послеоперационный рубец в

правой паховой области. Периферических отеков нет. Температура тела 36,8 °С. Дыхание везикулярное, хрипов нет. Перкуторно легочный звук одинаковый с обеих сторон. ЧД 20 в минуту, SpO₂ 94%. Тоны сердца ритмичные, приглушены, шумов не выслушивается. Ритм правильный, ЧСС 120 в минуту АД 125/95 мм рт. ст. Пульс на магистральных и периферических артериях удовлетворительного наполнения. Язык влажный, розовый. Живот при пальпации мягкий, безболезненный. Печень выступает из подреберья на 3 см, плотная, с неровной поверхностью. Стул неоформленный однократный. Симптом поколачивания отрицательный. Мочеиспускание свободное, безболезненное.

Выполнены компьютерная томография (КТ) органов грудной клетки (рис. 1), ангиопульмонография (рис. 2), КТ органов брюшной полости (рис. 3, 4).

Общий анализ крови: Hb – 101 г/л; Эр – 3,62 x 10¹²/л; MCH – 27,8 pg; Ht – 31,8; Л – 26 x 10⁹/л, Э – 5%, П – 5%, С – 74%, Л – 9%, М – 7%; тромбоциты – 66 x 10⁹/л. Биохимический анализ крови: общий белок – 64 г/л; мочевины – 3,6 ммоль/л; креатинин – 75 мкмоль/л; билирубин прямой – 9,7 мкмоль/л; КФК – 36 Ед/л; АСТ – 102 Ед/л; АЛТ – 24 Ед/л; ЛДГ – 1 300 Ед/л; натрий – 137 ммоль/л; калий – 4,2 ммоль/л; СРБ – 384 мг/л; фибриноген – 1,47 г/л; АЧТВ – 86 с; протромбиновое время – 22,2 с; МНО – 1,8; D-димер – 7 734 нг/мл; антитромбин III – 46,2. Общий анализ мочи: относительная плотность – 1 028; белок – 0,7 г/л; Л – 10–15 в п/зр.; цилиндры гиалиновые 3–5 в п/зр.

На основании данных клинико-лабораторного обследования был поставлен клинический диагноз: тромбоз правой общей подвздошной вены. Тромб правого желудочка.

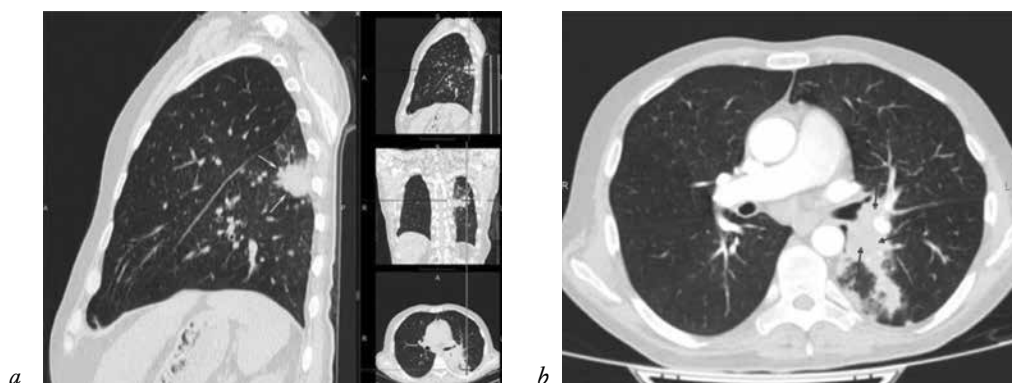


Рис. 1. КТ органов грудной клетки: *a* – периферическое объемное образование левого легкого. В плевральных отделах левого легкого с вовлечением в процесс костальной плевры визуализируется объемное образование с неровными бугристыми контурами и периферическим интерстициальным лимфангитом в виде лучистого венчика (белые стрелки); *b* – гиперплазия регионарных лимфоузлов корня легкого (черные стрелки)

Fig. 1. CT scan of the chest: *a* – peripheral volumetric formation of the left lung. In the peripheral parts of the left lung with involvement of the costal pleura, a volumetric formation is visualized with uneven tuberculous contours and peripheral interstitial lymphangitis in the form of a radiant aureola (white arrows); *b* – hyperplasia of regional lymph nodes of the lung root (black arrows)

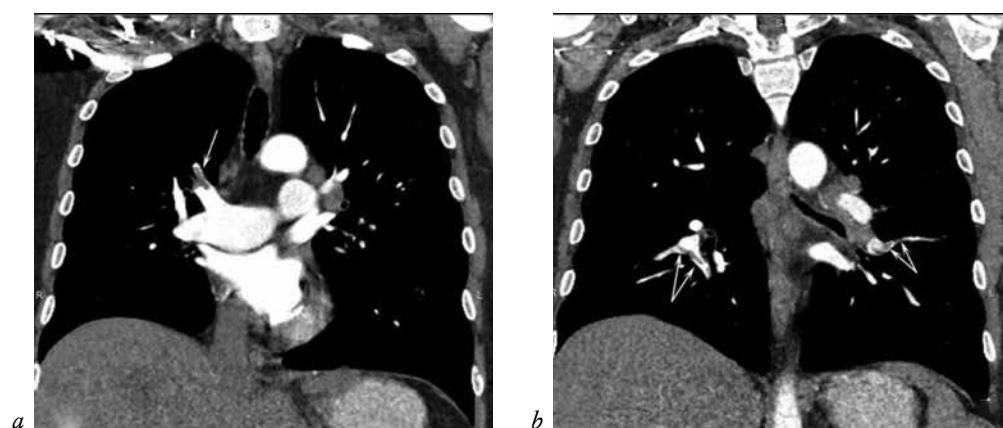


Рис. 2. На уровне трифуркации правой верхнедолевой легочной артерии определяется дефект контрастирования (центрально расположенный тромб), распространяющийся в проксимальные отделы сегментарных артерий верхней доли (*a*, стрелка). В нижнедолевых легочных артериях справа и слева визуализируются пристеночные дефекты контрастирования (пристеночные тромбы), распространяющиеся в каудальном направлении по просвету сегментарных артерий обеих нижних долей (*b*, двоянные стрелки). В правом желудочке дефект контрастирования, не позволяющий исключить тромб

Fig. 2. At the level of trifurcation of the right upper lobar pulmonary artery, a contrast defect (centrally located thrombus) is determined, which extends to the proximal sections of the segmental arteries of the upper lobe (*a*, arrow). In the lower lobe pulmonary arteries, parietal contrast defects (parietal thrombi) are visualized on the right and left, propagating in the caudal direction along the lumen of the segmental arteries of both lower lobes (*b*, double arrows). In the right ventricle, there is a contrast defect that does not allow excluding a blood clot

Состояние после перевязки большой подкожной вены с обеих сторон». Осложнения: ТЭЛА с обеих сторон, инфаркт селезенки. Начато лечение гепарином в суточной дозе 36 тыс. ед. дозатором. Состояние больного несколько улучшилось, и он был переведен из ОРИТ в отделение для лечения и дальнейшего обследования.

Данные КТ органов грудной клетки позволяли заподозрить наличие у больного бронхогенного

рака. К тому же при КТ органов брюшной полости выявлены объемные образования в печени (см. рис. 3), что еще с большей вероятностью позволяло предполагать распространенный опухолевый процесс с окончательно не верифицированной первичной локализацией. Наиболее вероятной представлялась первичная опухоль легких (бронхогенный рак) с метастазами в бронхопульмональные лимфоузлы и печень.

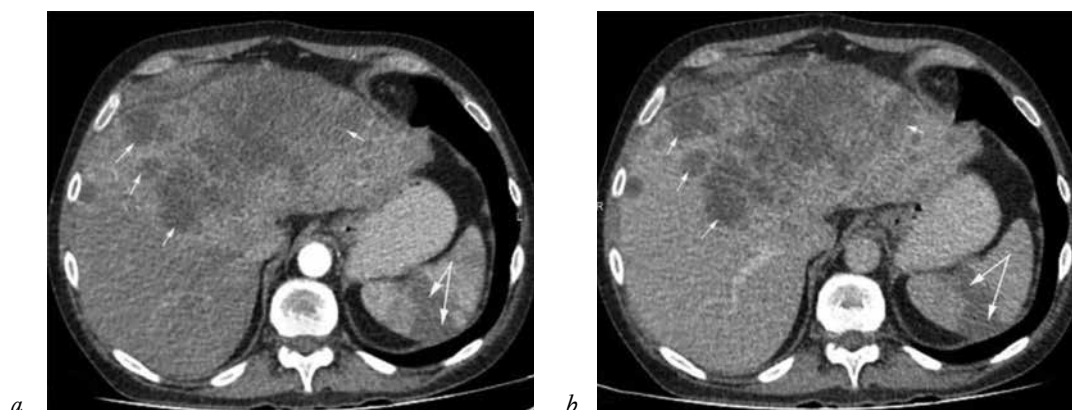


Рис. 3. Фазы внутривенного болюсного контрастирования при КТ органов брюшной полости: *a* – артериальная; *b* – венозная. Печень увеличена в размерах, в ее паренхиме множественные гиподенсные (кистозно-солидного характера) образования диаметром 10–75 мм с тенденцией к слиянию, причем в венозную фазу отмечается более выраженная акцентуализация рисунка солидного компонента (стрелки). В паренхиме селезенки стойкая зона снижения перфузии как в артериальную, так и в венозную фазы (сдвоенные стрелки)

Fig. 3. CT scan of abdominal organs with intravenous bolus contrast: *a* – arterial; *b* – venous. The liver is enlarged in size, in its parenchyma there are multiple hypodense (cystic-solid character) formations with a diameter 10–75 mm with a tendency to merge, and in the venous phase there is a more pronounced accentuation of the pattern of the solid component (arrows). In the spleen parenchyma there is a stable zone of perfusion reduction in both the arterial and venous phases (double arrows)

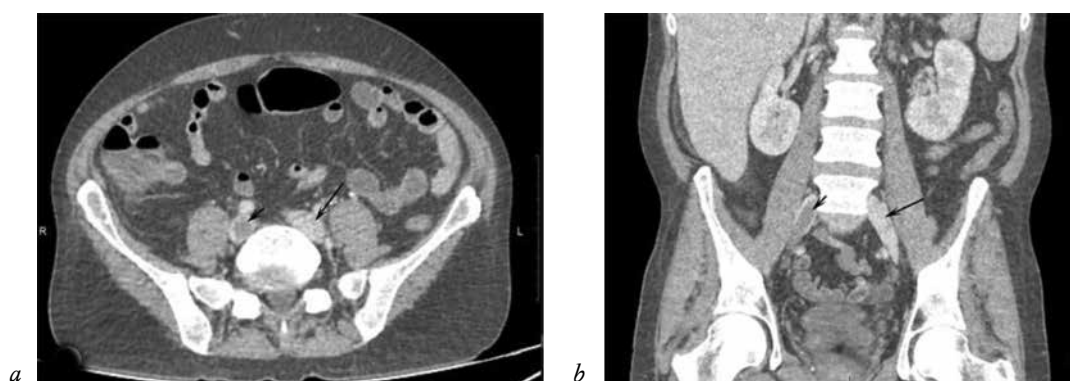


Рис. 4. В правой общей подвздошной вене определяется дефект контрастирования (тромб), полностью обтурирующий просвет: *a* – аксиальный срез (головка стрелки); *b* – корональная 2D-реконструкция по оси сосуда (головка стрелки). На обоих изображениях стрелкой обозначена интактная левая подвздошная вена

Fig. 4. In the right common iliac vein, a contrast defect (thrombus) is determined, completely obstructing the lumen: *a* – axial section; *b* – and 2D coronal reconstruction along the axis of the vessel, image B (arrowhead). In both images, the arrow indicates the intact left iliac vein

К сожалению, больной отказался от дальнейшего обследования, был выписан по собственному желанию и скончался дома 06.07.2018 г.

Патологоанатомический диагноз. Основное заболевание: «центральный рак нижней доли левого легкого (pE4N1M1) с метастазами в лимфоузлах с обеих сторон, в печени (поражено более 80% паренхимы), в легких, в миокарде. Канцероматоз плевры». Осложнения основного заболевания: Желтуха. Параканкротическая левосторонняя пневмония. Реактивный серозно-геморрагиче-

ский плеврит. Тромб полости правого желудочка. Местный тромбоз ветвей левой легочной артерии. Паренхиматозная белковая дистрофия внутренних органов (печень, почки). Гистологическое исследование легких: низкодифференцированный плоскоклеточный неорогевевающий рак легкого.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленное наблюдение является иллюстрацией паранеопластической тромбофилии у

больного бронхогенным раком. К особенностям данного случая относятся:

- развитие ВТЭМ на фоне скрыто протекающего опухолевого процесса;
- рецидивирующий характер венозных тромбозов на протяжении месяца;
- распространенность тромботического процесса, затрагивающего как венозное, так и артериальное русло (поверхностные вены, общая подвздошная вена, наличие тромба в правом желудочке, ТЭЛА, инфаркт селезенки);
- наличие лабораторных признаков ДВС-синдрома (высокие показатели D-димера, фибриногенотения, тромбоцитопения, снижение показателя антитромбина III).

Имеющийся тромботический процесс явился первой клинической манифестацией опухолевого заболевания, которое, несмотря на распространенность (поражение легких, бронхопульмональных лимфоузлов, печени), ничем не проявлялось и было выявлено при целенаправленном диагностическом поиске. Именно подобные клинические ситуации, когда идиопатические венозные тромбозы возникают у больных со скрыто протекающими опухолевыми заболеваниями, были впервые описаны и подробно обсуждены А. Труссо в его клинической лекции [1]. Подтвержденные в последующих многочисленных исследованиях наблюдения Труссо послужили поводом ассоциировать подобные ситуации с именем французского ученого и обозначать их как «синдром Труссо» [3]. В настоящее время установлено, что в основе патогенеза паранеопластической тромбофилии лежит активация как коагуляционного, так и сосудисто-тромбоцитарного звеньев свертывания крови, что обеспечивается:

- нарушением структурной целостности и функциональной стабильности сосудистого эндотелия опухолевыми клетками и цитокинами;
- активацией тромбоцитов опухолевыми клетками, приводящей к их повышенной адгезии и агрегации;
- синтезом прокоагулянтов (тканевой фактор, раковый прокоагулянт) и ингибиторов фибринолиза опухолевыми клетками;
- прокоагулянтной активностью опухоль-ассоциированных макрофагов и активированных моноцитов периферической крови [4].

В серии многочисленных исследований оценивались клиническая целесообразность и экономическая оправданность скрининговых обследований больных с идиопатическим ВТЭМ с целью раннего выявления опухолевого процесса. Рабочая группа по гемостазу Немецкого общества гематологов и онкологов рекомендует следовать программам расширенного обследования больных с идиопатическими ВТЭМ с использованием эндоскопических методов и компьютерной томографии [5]. По данным кокрановского обзора, расширенное обследование с использованием позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ)/КТ с целью выявления опухолевого процесса у больных с идиопатическим ВТЭМ способствовало более ранней диагностики опухоли с меньшим распространением опухолевого процесса по сравнению с группой пациентов, обследованных без проведения ПЭТ/КТ [6].

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Trousseau A. Phlegmasia alba dolens. In: Clinique Medicale d'Hotel-Dieu de Paris. Paris: JB Balliere et Fils, 1865; (3): 654–812.
2. Lyman G. Venous thromboembolism in the patient with cancer: Focus on burden of disease and benefits of thromboprophylaxis. *Cancer*. 2011; 117: 1334–1339. DOI: 10.1002/cncr.25714.
3. Khorana A. Malignancy, thrombosis and Trousseau: the case for an eponym. *J. Thromb. Haemost.* 2003; 1: 2463–2465.
4. Davila M., Robles-Carrillo L., Unruh D., Huo Q., Gardiner C., Sargent I.L., Adam M., Woodhams B.J., Francis J.L., Bogdanov V.Y., Amirkhosravi A. Microparticle association and heterogeneity of tumor-derived tissue factor in plasma: is it important for coagulation activation? *J. Thromb. Haemost.* 2014; 12: 186–196. DOI: 10.1111/jth.12475.
5. Matzdorff A., Riess H., Bergmann F., Bisping G., Koschmieder S., Parmentier S., Petrides P., Sosada M. Cancer Screening in Patients with Idiopathic Venous Thromboembolism – a Position Paper of the German Society of Hematology and Oncology Working Group on Hemostasis. *Oncol. Res. Treat.* 2015; 38: 454–458. DOI: 10.1159/000437451.
6. Robertson L., Yeoh S., Stansby G., Agarwal R. Effect of testing for cancer on cancer- and venous thromboembolism (VTE)-related mortality and morbidity in people with unprovoked VTE. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2017; 23: 8. DOI: 10.1002/14651858.CD010837.pub3.

Сведения об авторах

Дворецкий Леонид Иванович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии № 2, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, г. Москва. ORCID iD 0000-0003-3186-0102.

Дядков Игорь Николаевич, зав. отделением сосудистой хирургии, ГКБ им. С.С. Юдина, г. Москва.

Степанченко Андрей Петрович, канд. мед. наук, зав. рентгенологическим отделением, ГКБ им. С.С. Юдина, г. Москва.

Дубровская Нелли Валерьевна, канд. мед. наук, ассистент, кафедра госпитальной терапии № 2, Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, г. Москва.

(✉) **Дворецкий Леонид Иванович**, e-mail: dvoretski@mail.ru.

Поступила в редакцию 15.01.2018

Подписана в печать 11.06.2019

Authors information

Dvoretsky Leonid I., DM, Professor, Head of the Department of Hospital Therapy No. 2, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-3186-0102.

Dyadkov Igor N., Head of the Department of Vascular Surgery of S.S. Yudin City Clinical Hospital of Moscow Health Department, Moscow, Russian Federation.

Stepanchenko Andrei P., PhD, Head of the X-ray Department of S.S. Yudin City Clinical Hospital of Moscow Health Department, Moscow, Russian Federation.

Dubrovskaya Nelli V., PhD, Assistant of the Department of Hospital Therapy № 2 I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation.

(✉) **Dvoretsky Leonid I.**, e-mail: dvoretski@mail.ru.

Received 15.01.2018

Accepted 11.06.2019

Междисциплинарная модель ведения пациентов групп риска по возникновению злокачественных опухолей кожи

Уфимцева М.А.¹, Шубина А.С.^{1,2}, Петкау В.В.³, Струин Н.Л.², Емельянов Д.Е.³, Левченко Е.А.³

¹ Уральский государственный медицинский университет (УГМУ)
Россия, 620028, г. Екатеринбург, ул. Ретина, 3

² Свердловский областной кожно-венерологический диспансер
Россия, 620151, г. Екатеринбург, ул. Розы Люксембург, 1

³ Свердловский областной онкологический диспансер
Россия, 620905, г. Екатеринбург, ул. Соболева, 29

РЕЗЮМЕ

Введение. Злокачественные опухоли кожи (ЗОК) являются важной междисциплинарной проблемой. Данные неоплазии относятся к опухолям видимой локализации, поэтому встречаются в клинической практике врачей разных профилей. Длительность диагностического периода, а также прогноз зависят от скоординированной работы специалистов.

Цель. Разработка, внедрение и оценка эффективности междисциплинарной модели ведения пациентов групп риска по возникновению злокачественных опухолей кожи.

Материалы и методы. Описательное исследование включало изучение доли лиц групп риска по развитию ЗОК, нозологической структуры выявленных ЗОК среди пациентов, направленных в дерматоонкологический кабинет Свердловского областного кожно-венерологического диспансера за период с 01.01.2016 по 31.12.2017 г. (всего 3 275 пациентов), а также 208 пациентов, обследованных в Свердловском областном онкологическом диспансере (СООД). Использовались данные региональной онкологической информационной системы «ОНКОР».

Результаты. Разработана междисциплинарная модель ведения пациентов групп риска, включающая маршрутизацию пациентов, обучение специалистов разного профиля. В результате реализации модели обследовано 3 275 лиц, направлено к онкологу 208 пациентов, из них рак кожи установлен у 123, меланома диагностирована в 11 случаях, саркома Капоши – в 2 случаях, лимфомы кожи – у 4 пациентов, лимфосаркома выявлена у 1 больного, что составило 67,8% подтвержденных в СООД диагнозов ЗОК. У 9,6% пациентов установлены диспластические невусы, подтвержденные гистологически. Взято под диспансерное наблюдение врачом-дерматовенерологом 1 987 пациентов группы риска по развитию ЗОК.

Заключение. Внедрение алгоритма междисциплинарного взаимодействия способствует повышению качества и доступности медицинской помощи населению, выявлению больных групп риска по возникновению ЗОК, уменьшению нагрузки непрофильных больных на онкологическую службу.

Ключевые слова: меланома, рак кожи, группы риска по возникновению злокачественных опухолей кожи, междисциплинарное взаимодействие.

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. Были подписаны информированные добровольные согласия.

✉ Шубина Александра Сергеевна, e-mail: aleksandra-katyaka19@rambler.ru.

Для цитирования: Уфимцева М.А., Шубина А.С., Петкау В.В., Струин Н.Л., Емельянов Д.Е., Левченко Е.А. Междисциплинарная модель ведения пациентов групп риска по возникновению злокачественных опухолей кожи. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 238–244. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-238-244>.

УДК 616.5-006.6-08-052

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-238-244>

Interdisciplinary model of patient care for groups at risk for malignant tumors of the skin

Ufimtseva M.A.¹, Shubina A.S.^{1,2}, Petkau V.V.³, Struin N.L.², Emeljnov D.E.³, Levchenko E.A.³

¹ Ural State Medical University

3, Repin Str., 620028, Ekaterinburg, Russian Federation

² Sverdlovsk Regional Dermatovenerologic Dispensary

1, Rosa Luxemburg Str., 620151, Ekaterinburg, Russian Federation

³ Sverdlovsk Regional Oncology Dispensary

29, Sobolev Str., 620905, Ekaterinburg, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Malignant skin tumors (MST) are an important interdisciplinary problem. Neoplasia data refer to tumors of apparent localization, therefore, they are found in the clinical practice of doctors of different profiles. The duration of the diagnostic period, as well as the prognosis, depends on the coordinated work of specialists.

Aim. Development, implementation and evaluation of the effectiveness of an interdisciplinary model for managing patients at risk for malignant skin tumors.

Materials and methods. A descriptive study included a study of the proportion of people at risk for developing MST, the nosological structure of the revealed MST among patients referred to the dermatological oncology room of the Sverdlovsk Regional Dermatovenerologic Dispensary for the period from 01.01.2016 to 31.12.2017 (total 3,275 patients), as well as 208 patients examined in the Sverdlovsk Regional Oncology Dispensary (SROD). The data of the “ONKOR” regional oncological information system were used.

Results. An interdisciplinary model of managing patients at risk has been developed, including patient routing and training of specialists in various fields. As a result of the implementation of the model, 208 patients were examined, 208 of whom were diagnosed with skin cancer, 123 of whom had skin cancer, 11 cases of melanoma, Kaposi's sarcoma in 2 cases, skin lymphomas in 4 patients, lymphosarcoma in 1 patient, amounted to 67.8% of the diagnoses of MST confirmed in the Sverdlovsk Regional Dermatovenerologic Dispensary of the Sverdlovsk Regional Oncology Dispensary. 9.6% of patients had dysplastic nevi, confirmed histologically. 1987 patients at risk of developing MST were taken under the dispensary observation by a dermatologist and venereologist.

Conclusion. The introduction of the algorithm of interdisciplinary interaction contributes to the improvement of the quality and accessibility of medical care to the population, the identification of patients at risk for the occurrence of MST, reducing the burden of non-core patients on oncology services.

Key words: melanoma, skin cancer diagnosis, risk groups, interdisciplinarity.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

Compliance with the principles of ethics. Informed consent forms were signed.

For citation: Ufimtseva M.A., Shubina A.S., Petkau V.V., Struin N.L., Emel'jnov D.E., Levchenko E.A. Interdisciplinary model of patient care for groups at risk for malignant tumors of the skin. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 238–244. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-238-244>.

ВВЕДЕНИЕ

В России в 2016 г. было зарегистрировано 66 355 больных базальноклеточным раком кожи, 9 607 больных меланомой, что составило 50,9 и 7,1 на 100 тыс. населения соответственно [1]. Базальноклеточный рак кожи является самым распространенным видом злокачественных опухолей. Своевременная диагностика позволяет предотвратить глубокую деструкцию тканей, снизить частоту рецидивов. Меланома относится к социально значимым заболеваниям, что обусловлено ее высоким злокачественным потенциалом, являясь причиной 75,0% смертей от всех злокачественных опухолей кожи. Показатели выживаемости больных меланомой на ранних стадиях после проведения хирургического лечения превышают 90,0%, однако на поздних стадиях пятилетняя и десятилетняя выживаемость составляют 53,0 и 39,0% соответственно [2].

Злокачественные опухоли кожи являются не только актуальной, но и важной междисциплинарной проблемой. Данные неоплазии относятся к опухолям видимой локализации, поэтому специалисты разных профилей должны быть осведомлены об их клинических проявлениях. В современном мире актуальность развития междисциплинарных подходов и технологий в медицине привлекает все большее внимание специалистов, занятых в сфере здравоохранения. В силу увеличивающихся темпов развития научно-технического прогресса и все более возрастающих потребностей человечества повышаются и требования, предъявляемые к современному специалисту, в том числе способность в нестандартных ситуациях конструктивно выходить за узкие рамки формы деятельности определенной дисциплины, а также развитие междисциплинарной креативности. Междисциплинарность, таким образом, отвечает инновационному характеру развития социальности и науки, их постоянному движению, становлению, обновлению [3].

В Свердловской области маршрутизация пациентов групп риска по возникновению злокачественных опухолей кожи определена Приказом Министерства здравоохранения Свердловской области № 91п от 28.01.2016 г. «Об организации оказания медицинской помощи взрослому населению Свердловской области по профилю

“онкология”». Согласно приказу, выявление злокачественных опухолей и предраковых заболеваний начинается с этапа фельдшерско-акушерских пунктов, медицинских учреждений, оказывающих первичную медико-санитарную помощь, с последующим направлением к профильным специалистам. Пациенты с повышенным онкологическим риском или предраковыми заболеваниями должны находиться на диспансерном учете у профильных специалистов. Одним из важных этапов профилактики злокачественных опухолей кожи (ЗОК) является ранняя диагностика, которая во многом зависит от онконастороженности врачей и пациентов.

Одним из методов неинвазивной диагностики меланомы кожи является дерматоскопия. В Приказе Минздрава России от 15 ноября 2012 г. № 924н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи населению по профилю “дерматовенерология”» дерматоскоп включен в перечень оснащения кабинета врача-дерматовенеролога. Специфичность дерматоскопии при диагностики меланомы оценивается различными исследователями от 73 до 100%, чувствительность – от 68 до 96% [4].

Цель исследования – разработка, внедрение и оценка междисциплинарной модели ведения пациентов групп риска по возникновению злокачественных опухолей кожи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Описательное исследование включало изучение доли лиц групп риска по развитию ЗОК, нозологической структуры выявленных ЗОК среди 3 275 пациентов, направленных врачами различных специальностей в дерматоонкологический кабинет Свердловского областного кожно-венерологического диспансера (далее – ГБУЗ СО СОКВД, СОКВД) за период с 01.01.2016 по 31.12.2017 г., и дальнейшей маршрутизацией в Свердловский областной онкологический диспансер (далее – ГБУЗ СО СООД, СООД) 208 пациентов. Использовались данные региональной онкологической информационной системы «ОНКОР». Приведены фотоимиджи новообразований пациентов групп риска по развитию ЗОК, направленных в СОКВД, в том числе врачами-терапевтами участковыми, после обучающих семинаров.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С 2016 г. в Свердловской области проводится совместная работа на кафедре кожных и венерических болезней Уральского государственного медицинского университета (УГМУ) с СОКВД, СООД по оказанию медицинской помощи пациентам групп риска по развитию ЗОК. Алгоритм оказания медицинской помощи пациентам групп риска по возникновению ЗОК в Свердловской области представлен на рис. 1. Междисциплинарная преемственность дерматовенерологической и онкологической служб включает:

1. Организацию дерматоонкологического приема в СОКВД, дальнейшую маршрутизацию пациентов с использованием региональ-

ной онкологической информационной системы «ОНКОР».

2. Телемедицинские конференции для врачей различных специальностей, регулярные консультации врачей-дерматовенерологов филиалов СОКВД.

3. Разработку и реализацию циклов повышения квалификации, в том числе в рамках непрерывного медицинского образования, как врачей-дерматовенерологов, так и врачей других специальностей (врачей-косметологов, врачей-онкологов, врачей-терапевтов участковых, врачей общей врачебной практики).

4. Пропаганду профилактики ЗОК среди населения (публикации статей в средствах массовой информации, участие в радио- и телепередачах).

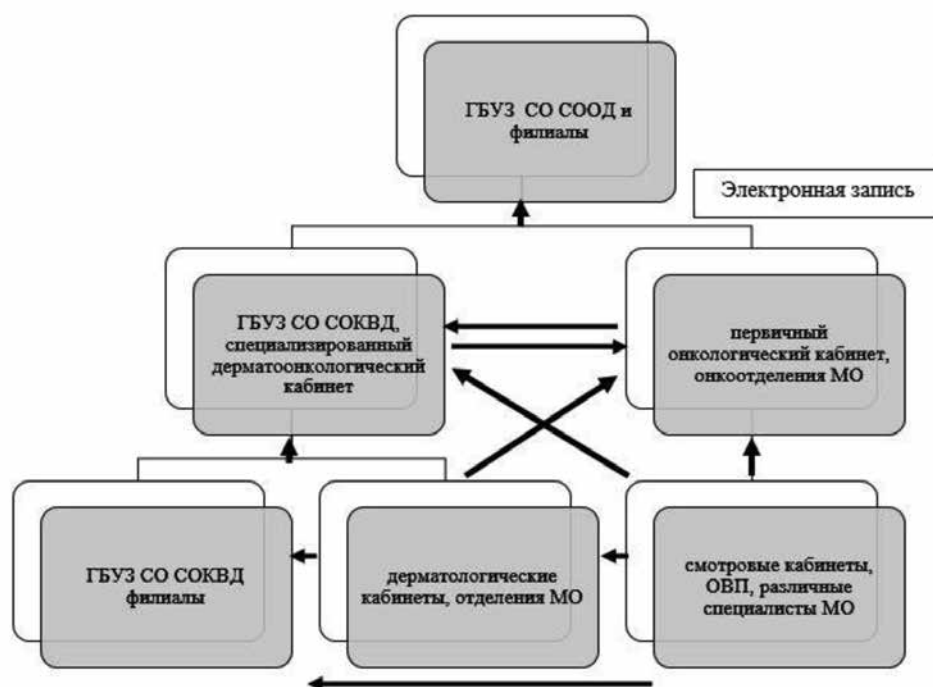


Рис. 1. Алгоритм оказания медицинской помощи пациентам групп риска по возникновению злокачественных опухолей кожи в Свердловской области

Fig. 1. Algorithm for providing medical care to patients at risk of developing malignant skin tumors in the Sverdlovsk Region

В дерматоонкологическом кабинете ГБУЗ СО СОКВД функционирует единая информационная система для электронной записи в ГБУЗ СО СООД, позволяющая направить пациента, минуя участкового врача по месту жительства, что уменьшает продолжительность диагностического периода. Это особенно актуально для крупного региона со значительной удаленностью от межмуниципальных медицинских центров, и частично решает вопрос недостаточной укомплектованности врачами-онкологами областных и районных больниц. В рамках непрерывного ме-

дицинского образования разработана программа повышения квалификации для врачей различных специальностей «Дерматоонкология. Основы дерматоскопии». Обучение проходит с применением современных ИТ-технологий, вебинаров, а также стажировки на рабочем месте в региональном медицинском центре, включает обучение на амбулаторном приеме у врача-онколога, работу в отделениях общей онкологии ГБУЗ СО СООД, что позволяет за короткий период врачам смежных специальностей увидеть большое число пациентов, многообразие клинических форм ЗОК.

В специализированный дерматоонкологический кабинет ГБУЗ СО СОКВД с января 2016 по декабрь 2017 г. было направлено врачами различного профиля 3 275 человек с новообразованиями кожи, выявлено 1 987 лиц группы риска по развития ЗОК, рекомендовано диспансерное наблюдения у врача-дерматовенеролога. В ГУЗ СО СООД направлено 208 человек, при дальнейшем обследовании рак кожи установлен у 123 пациентов, меланома диагностирована в 11 случаях, саркома Капоши – в 2 случаях, лимфомы кожи выявлены у 4 пациентов, лимфосаркома у 1 больного, что составило 67,8% подтвержденных диагнозов ЗОК. Также при морфологическом исследовании пигментных новообразований были подтверждены диспластические невусы у 20 пациентов (9,6%). Для сравнения, в 2014–2015 гг. в ГБУЗ СО СОКВД врачами-дерматовенерологами были выявлены и подтверждены 35,2% ЗОК.

Таким образом, результатом междисциплинарного взаимодействия стали повышенная онконастороженность врачей первичного звена, уменьшение времени маршрутизации пациентов в специализированные учреждения, выявление пациентов групп риска ЗОК и дальнейшее их наблюдение у врачей-дерматовенерологов.

Клинические случаи

Клинический случай № 1. Пациентка Р., 47 лет, направлена врачом-терапевтом в ГБУЗ СО СОКВД для проведения дерматоскопического исследования с целью уточнения диагноза меланомы. Пациентка предъявляла жалобы на зуд «родинки» на коже голени, увеличение ее диаметра, изменение цвета за последние 3 мес. Элемент заметила около 1,5 лет назад.

Объективно: на коже переднелатеральной области верхней трети голени пигментная полихромная папула, неправильной формы, асимметричная, с неправильными очертаниями, диаметр 7 мм (рис. 2).

При оценке по трехбалльному алгоритму при дерматоскопическом исследовании выявлены три признака, включающие асимметрию по строению и структуре, атипичную пигментную сеть, бело-голубые структуры в центральной части новообразования (рис. 3). Предварительный диагноз: МКБ-10 С43.7, направлена на консультацию в ГБУЗ СО СООД. При обследовании у онколога проведена полная эксцизионная биопсия опухолевого образования с отступом от края опухоли с последующим морфологическим исследованием материала. Заключение: злокачественная меланома.



Рис. 2. Клиническая картина: пигментная полихромная папула, асимметричная, диаметр 7 мм

Fig. 2. Clinical picture: pigmentary polychrome, asymmetrical, with a diameter of 7 mm



Рис. 3. Дерматоскопическая картина: асимметрия, атипичная пигментная сеть, бело-голубая вуаль

Fig. 3. Dermatoscopic pattern: asymmetry, atypical pigment network, blue and white veil

Клинический случай № 2. Пациентка М., 61 год, направлена врачом-терапевтом участковым для уточнения диагноза ЗОК.

Объективно: на заднебоковой поверхности шеи слева опухоль розового цвета диаметром 2,5 см, по периферии возвышающийся валик из перламутровых узелков. Множество телеангиоэктазий на поверхности, древовидно расположенных. Имеются два язвенных дефекта с геморрагическими корочками, дно язв ярко красного цвета (рис. 4). При дерматоскопии: немеланоцитарное образование, эритема, множество древовидных, серпантинных сосудов, язвенные дефекты с геморрагическими корочками (рис. 5). Предварительный диагноз: МКБ-10 С44.4, направлена на консультацию в ГБУЗ СО СООД. При обследовании у онколога проведена эксцизионная биопсия опухолевого образования с последующим морфологическим исследованием материала. Заключение: базальноклеточный рак кожи.



Рис. 4. Клиническая картина: опухоль розового цвета диаметром 2,5 см с изъязвлением, покрытая геморрагическим корочками

Fig. 4. Clinical picture: a pink tumor with a diameter of 2.5 cm with ulcerous defects covered with hemorrhagic crusts



Рис. 5. Дерматоскопия: немеланоцитарное новообразование, эритема, древовидные серпантинные сосуды, геморрагические корочки

Fig. 5. Dermatoscopy: non-melanocytic formation, erythema, tree serpentine vessels, hemorrhagic crusts

Клинический случай № 3. Пациентка К., 76 лет, направлена участковым врачом-терапевтом в ГБУЗ СО СОКВД для уточнения диагноза ЗОК. Беспокоит длительно незаживающее образование, без субъективных ощущений. Со слов пациентки, образование появилось около 6 мес назад, быстро увеличивалось в размерах. Объективно: на тыльной поверхности левой кисти опухоль диаметром 2,3 мм, телесно-розового цвета, в центре кратерообразное углубление с гиперкератозом (рис. 6). Предварительный диагноз: МКБ-10 C44.6, направлена на консультацию в ГБУЗ СО СООД. При обследовании у онколога проведена эксцизионная биопсия опухолевого образования с последующим морфологическим исследованием материала. Заключение: плоскоклеточный ороговевающий рак кожи.



Рис. 6. Клиническая картина: опухоль телесно-розового цвета, диаметр 2,3 см, в центре кратерообразное углубление с гиперкератозом

Fig. 6. Clinical picture: a tumor of a flesh-pink color, diameter 2.3 cm, in the center there is a cratered depression with hyperkeratosis

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Внедрение алгоритма оказания медицинской помощи пациентам групп риска ЗОК в Свердловской области способствует повышению качества и доступности медицинской помощи населению, раннему выявлению больных, уменьшению нагрузки непрофильных больных на онкологическую службу. Злокачественные образования кожи являются важной междисциплинарной проблемой, четко выстроенная система диагностики, профилактики, лечебных мероприятий ведет к улучшению качества жизни населения, снижению смертности от ЗОК.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году; под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017: 236. [The state of oncological care for the population of Russia in 2016; ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinskii, G.V. Petrova. M.: P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Center of the Federal State Budgetary Institution National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation Publ., 2017: 236. (in Russ.)].
2. Casey J. Rowe, Khosrotehrani K. Clinical and biological determinants of melanoma progression: Should all be considered for clinical management? *Australasian Journal of Dermatology*. 2016; 57 (3): 175–181. DOI: 10.1111/ajd.12348.
3. Султанов Р.Р. Междисциплинарное взаимодействие врачей как один из способов повышения эффективности процесса лечения. *Гуманитарные и социальные науки*. 2013; 2: 231–243. [Sultanov R.R. Interdisciplinary interaction of doctors as one of the ways to improve the effectiveness of the treatment process. *Humanities and Social Sciences*. 2013; 2: 241–243. (in Russ.)].

4. Китлер Г., Розендаль К. и др. Дерматоскопия. Алгоритмический метод, основанный на анализе узора; пер. Д. Михайловского. Гданьск, 2014: 322. [Kitler G.,

Rozendal K. et al. Dermatoscopy. Algorithmic method based on pattern analysis. Translation by D. Mihajlovskii. Gdan'sk, 2014: 322 (in Russ.).]

Сведения об авторах

Уфимцева Марина Анатольевна, д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой кожных и венерических болезней УГМУ, г. Екатеринбург. ORCID iD 0000-0002-4335-9334.

Шубина Александра Сергеевна, ассистент, кафедра кожных и венерических болезней УГМУ, г. Екатеринбург; Свердловский областной кожно-венерологический диспансер, г. Екатеринбург. ORCID iD 0000-0003-2400-6549.

Петкау Владислав Владимирович, канд. мед. наук, зав. поликлиническим отделением, Свердловский областной онкологический диспансер, г. Екатеринбург. ORCID iD 0000-0002-0342-4007.

Струин Николай Львович, канд. мед. наук, гл. врач Свердловского областного кожно-венерологического диспансера, г. Екатеринбург. ORCID iD 0000-0002-4843-601X.

Емельянов Дмитрий Евгеньевич, канд. мед. наук, зам. гл. врача по лечебным вопросам, Свердловский областной онкологический диспансер, г. Екатеринбург. ORCID iD 0000-0002-1459-453.

Левченко Екатерина Александровна, врач-онколог, Свердловский областной онкологический диспансер, г. Екатеринбург. ORCID iD 0000-0001-5540-5919.

(✉) Шубина Александра Сергеевна, e-mail: aleksandra-katyaka19@rambler.ru.

Author information

Ufimtseva Marina A., DM, Assistant Professor, Head of Skin and Venereal Diseases Department, Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-4335-9334.

Shubina Alexandra S., Assistant, Skin and Venereal Diseases Department, Ural State Medical University, Sverdlovsk Regional Oncology Dispensary, Ekaterinburg, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-2400-6549.

Petkau Vladislav V., PhD, Head of Sverdlovsk Regional Oncology Dispensary, Ekaterinburg, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-0342-4007.

Struin Nikolay L., PhD, Head Physician, Sverdlovsk Dermatovenerologic Dispensary, Ekaterinburg, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-4843-601X.

Emelyanov Dmitry E., PhD, Chief Medical Officer, Sverdlovsk Regional Oncology Dispensary, Ekaterinburg, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-1459-453.

(✉) Shubina Alexandra S., e-mail: aleksandra-katyaka19@rambler.ru.

Received 13.03.2018

Accepted 11.06.2019

Поступила в редакцию 13.03.2018

Подписана в печать 11.06.2019

Месалазин-индуцированная эозинофильная пневмония у мальчика 15 лет с язвенным колитом

Янкина Г.Н.^{1,2}, Горленко Л.В.^{1,2}, Лошкова Е.В.^{1,2}, Кондратьева Е.И.^{1,3}, Тютеева Е.Ю.^{1,2}, Терентьева А.А.¹, Желев В.А.¹, Михалев Е.В.^{1,2}, Шемякина Т.А.¹, Кривоногова Т.С.¹, Рыжакова Н.А.¹, Романова Е.В.¹

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

² Детская больница № 1
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 4

³ Медико-генетический научный центр
Россия, 115478, г. Москва, Москворечье, 1

РЕЗЮМЕ

Одной из сложных категорий пациентов являются пациенты с воспалительными заболеваниями кишечника. Представлен клинический случай развития месалазин-индуцированной эозинофильной пневмонии у мальчика 15 лет с язвенным колитом. Пациент перенес острое респираторное заболевание, которое повлекло обострение язвенного колита и, соответственно, увеличение дозы месалазина. На этом фоне у ребенка появились активные жалобы на тяжесть в грудной клетке слева. В крови отмечалась эозинофилия. Анализ клинических симптомов, данные рентгенологического исследования, микроскопического исследования плевральной жидкости, результаты спиральной компьютерной томографии грудной клетки позволили провести дифференциальный диагноз основных симптомов и связать выявленные легочные поражения с воздействием месалазина.

Ключевые слова: эозинофильная пневмония, язвенный колит, салофальк, месалазин.

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.

Для цитирования: Янкина Г.Н., Горленко Л.В., Лошкова Е.В., Кондратьева Е.И., Тютеева Е.Ю., Терентьева А.А., Желев В.А., Михалев Е.В., Шемякина Т.А., Кривоногова Т.С., Рыжакова Н.А., Романова Е.В. Месалазин-индуцированная эозинофильная пневмония у мальчика 15 лет с язвенным колитом. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (3): 245–257. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-245-257>.

Mesalazin-induced eosinophilic pneumonia in a 15-year-old boy with ulcerative colitis

Yankina G.N.^{1,2}, Gorlenko L.V.^{1,2}, Loshkova E.V.^{1,2}, Kondratyeva E.I.^{1,3}, Tuteva E.Yu.^{1,2}, Terenteva A.A.¹, Zhelev V.A.¹, Mikhalev E.V.^{1,2}, Shemyakina T.A.¹, Krivonogova T.S.¹, Ryzhakova N.A.¹, Romanova E.V.¹

¹ Siberian State Medical University (SSMU)
2, Moscow Tract, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Children's Hospital № 1
4, Moscow Tract, Tomsk, 634050, Russian Federation

³ Medical Genetics Research Centre
1, Moskvorechye, Moscow, 115478, Russian Federation

ABSTRACT

One of the most difficult categories of patients is patients with inflammatory bowel disease. A clinical case of the development of mesalazine-induced eosinophilic pneumonia in a 15-year-old boy with ulcerative colitis is presented. The patient suffered an acute respiratory disease, which caused the aggravation of ulcerative colitis and, accordingly, an increase in the dose of mesalazine. Against this background, the child had active complaints of heaviness in the chest to the left. Eosinophilia was noted in the blood. Analysis of clinical symptoms, X-ray data, microscopic examination of the pleural fluid, the results of spiral computed tomography of the chest allowed a differential diagnosis of the main symptoms and associated identified pulmonary lesions with mesalazine.

Key words: eosinophilic pneumonia, ulcerative colitis, salofalk, mesalazine.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that there is no funding for the study.

For citation: Yankina G.N., Gorlenko L.V., Loshkova E.V., Kondratyeva E.I., Tuteva E.Yu., Terenteva A.A., Zhelev V.A., Mikhalev E.V., Shemyakina T.A., Krivonogova T.S., Ryzhakova N.A., Romanova E.V. Mesalazine-induced eosinophilic pneumonia in a 15-year-old boy with ulcerative colitis. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (3): 245–257. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-245-257>.

ВВЕДЕНИЕ

Легочная эозинофилия (или эозинофильные болезни легких) включает гетерогенную группу заболеваний, определяемых эозинофилией в легочных инфильтратах (бронхоальвеолярная лаважная жидкость) или в ткани (образцы биопсии легких) [1–3]. Хотя воспалительный инфильтрат состоит из макрофагов, лимфоцитов, нейтрофилов и эозинофилов, эозинофилия является важным маркером для диагностики и лечения [2].

Общепринятой классификации легочных эозинофилий нет. В зависимости от причины возникновения эозинофильные болезни легких подразделяются на четыре группы [1–5]:

1. Легочные эозинофилии неизвестной природы (идиопатические):

- простая легочная эозинофилия (ПЛЭ), или синдром Леффлера;
- острая эозинофильная пневмония;
- хроническая эозинофильная пневмония;
- идиопатический гиперэозинофильный синдром.

2. Легочные эозинофилии известной природы (вторичные):

- аллергический бронхолегочный аспергиллез;

- бронхоцентрический гранулематоз;
- паразитарные инвазии;
- лекарственные реакции.

3. Эозинофильные васкулиты:

- аллергический гранулематозный ангиит (синдром Чарга – Стросса);
- узелковый периартериит.

4. Другие:

- гемобластозы (острый миелолейкоз, острый лимфобластный лейкоз, эозинофильная лейкемия);
- токсические реакции (синдром токсического масла, синдром эозинофилии миалгии);
- осложнения лучевой терапии.

Таким образом, в своей работе клиницист может столкнуться с большим разнообразием эозинофильных поражений легких. Остановимся на эозинофильных поражениях легких, которые могут развиваться в рамках неблагоприятной побочной реакции фармакотерапии. Одной из таких реакций является синдром Леффлера (ПЛЭ), впервые описанный W. Löffler в 1932 г. Для синдрома характерны летучие легочные инфильтраты, сопровождаемые небольшой лихорадкой, минимальными респираторными нарушениями, умеренной эозинофилией периферической крови, и быстрое спонтан-

ное разрешение [4, 5]. Основная причина ПЛЭ – лекарственные препараты и аскаридоз. В трети случаев выявить причину не удастся. В гистологическом препарате находят отек и скопления эозинофилов в альвеолярной перегородке и интерстиции [6]. Рентгенологические проявления ПЛЭ включают в себя мигрирующие (летучие) легочные инфильтраты (несегментарные, одиночные или множественные, обычно без четких границ, преимущественно в периферических отделах). Мультиспиральная компьютерная томография выявляет транзиторные и мигрирующие узелки с венчиком вокруг участков «матового стекла», преимущественно по периферии средних и нижних отделов легких (симптом «венца») [7]. Для острой эозинофильной пневмонии, напротив, не характерны «летучесть» и мигрирующий характер инфильтрации, клинические проявления могут включать интоксикацию, кашель, одышку, наличие лихорадки и хрипов в легких, ничем не отличающихся от бактериальной пневмонии, однако эозинофилия в общем анализе крови и эозинофилия, обнаруженная при микроскопии плеврального выпота и (или) лаважной жидкости будет служить опорным диагностическим маркером эозинофильного повреждения легких.

Эозинофильное поражение легких, развившееся в результате неблагоприятной побочной реакции (НПР) на фармакотерапию, требует полной отмены лекарственного препарата в случае умеренного или тяжелого клинического течения НПР или снижения дозы в случае легкого клинического течения НПР, а также назначения глюкокортикостероидов (ГКС) при тяжелом течении НПР. Купирование клинической картины респираторного дистресса и исчезновение легочной инфильтрации после отмены препарата/снижения дозы подтверждает диагноз эозинофильного поражения легких, соответственно, терапия «первого выбора» – антибактериальные препараты – при таких пневмониях не будет эффективна, а симптоматика респираторного дистресса и патологическая рентгенологическая картина будут прогрессировать, несмотря на назначение антибиотиков [1–3, 8, 9].

Одной из сложных категорий пациентов в практике врача-педиатра, терапевта, гастроэнтеролога, семейного врача являются пациенты с воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК). Частота респираторных жалоб у больных с ВЗК составляет 2,3%, при целенаправленном их выявлении достигает до 32,9% [9]. Нарушение функции внешнего дыхания выявляются у 44,1% больных ВЗК. Частота нарушений функции внешнего дыхания при язвенном колите увеличивается по

мере нарастания тяжести болезни и протяженности поражения толстой кишки [9]. Известно, что бронхолегочная патология может быть связана с ВЗК не только патогенетическими механизмами, но и быть следствием лекарственной терапии [10]. Прием большого количества препаратов может привести к развитию эозинофилии [10]. Наиболее часто эозинофилию вызывают антибиотики, противомикробные и противоопухолевые средства, цитостатики, нестероидные противовоспалительные препараты и психотропные средства [10, 11]. Эозинофильная лекарственная реакция может протекать бессимптомно и быть единственным проявлением гиперчувствительности к препарату или сочетаться с разнообразными синдромами: пневмонитом, обструктивным бронхиолитом, легочным фиброзом, перикардитом, интерстициальным нефритом, артритом, лихорадкой, лимфаденопатией, гепатоспленомегалией, кожной сыпью, синдромом Стивенса – Джонсона [12, 13].

Аминосалицилаты (сульфасалазин, месалазин) и азатиоприн являются препаратами базисной терапии ВЗК и способны вызывать эозинофилию с легочным поражением [14, 15]. Сообщения о легочной токсичности, вызванной производными 5-аминосалициловой кислоты или азатиоприном у пациентов с ВЗК встречаются редко, на сегодняшний день во всем мире зарегистрировано всего 38 подобных случаев [16]. Нами был проанализирован ряд сообщений с акцентом на особенности клинической симптоматики, параклинических данных, характера легочной инфильтрации и ответа на терапию. Так, сообщалось о манифестации эозинофильной пневмонии и кожной сыпи у 21-летнего мужчины, получавшего сульфасалазин. После того, как препарат был отменен и началось лечение стероидами, легочные инфильтраты полностью разрешились [17]. Еще один случай демонстрирует развитие одышки у больного спустя 9 мес от начала приема орального месалазина, пациент полностью выздоровел после стероидной терапии и прекращения приема месалазина [18]. В 2017 г. опубликовано клиническое наблюдение за 22-летним мужчиной, страдающим язвенным колитом, в течение 9 мес получавшем месалазин. На фоне приема препарата в течение 3 мес больного беспокоили приступы сухого кашля, лихорадки и хрипы, снижение сатурации до 91% и потребность в неинвазивной респираторной терапии (назальные канюли), по данным бронхоальвеолярного лаважа выявлена высокая эозинофилия (28%), на компьютерной томограмме диагностированы затемнения по типу «матового стекла» (рис. 1).

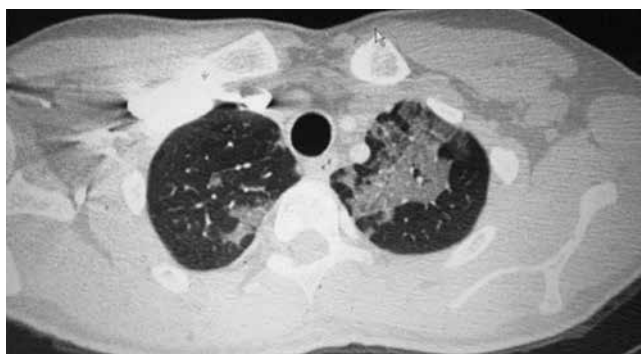


Рис. 1. Двухсторонняя эозинофильная пневмония на компьютерной томографии [19]

Fig. 1. Bilateral eosinophilic pneumonia on CT [19]

На фоне гормональной терапии (дексаметазон) и отмены месалазина изменения в легких и клиническая картина респираторных нарушений были купированы [19].

Описана кардиопульмональная токсичность месалазина у 32-летнего мужчины с язвенным колитом, когда на фоне приема 3 г месалазина в течение 14 мес у пациента появились одышка, кашель, боль в груди, высокая эозинофилия в крови и бронхоальвеолярном лаваже, после выполнения компьютерной томографии (КТ) органов грудной клетки были выявлены легочные инфильтраты, а трансбронхиальная биопсия подтвердила их эозинофильный характер (рис. 2, 3).

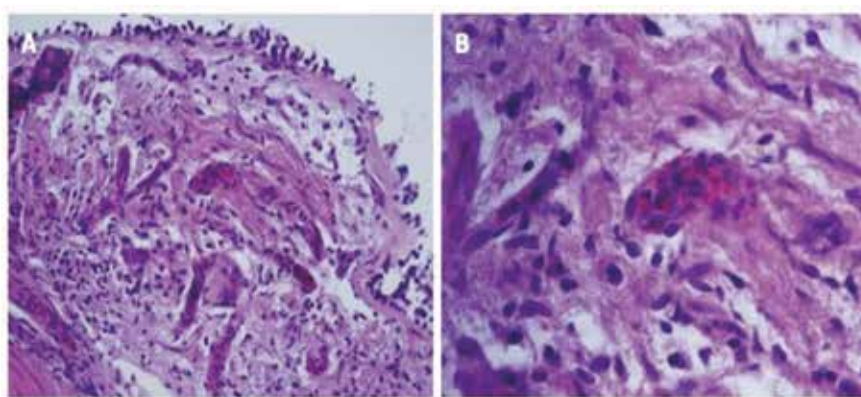


Рис. 2. Трансбронхиальная биопсия левой нижней легочной доли: *a* – эозинофильный инфильтрат по всей альвеолярной перегородке, альвеолярным пространствам и капиллярам; *b* – эозинофильный инфильтрат внутри капилляров [20]

Fig. 2. Transbronchial biopsy of the left lower pulmonary lobe: *a* – eosinophilic infiltration throughout the alveolar septum, alveolar spaces and capillaries; *b* – eosinophilic infiltration inside the capillaries [20]



Рис. 3. Двухсторонняя инфильтрация по типу «матового стекла» периферических отделов легких по результатам компьютерной томографии [21]

Fig. 3. Bilateral infiltration of a frosted glass type of peripheral parts of the lung according to CT results [21]

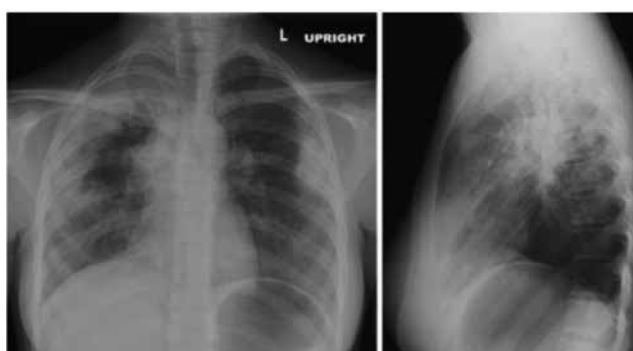


Рис. 4. Двухсторонняя инфильтрация периферических отделов легких по результатам рентгенографии [21]

Fig. 4. Bilateral infiltration of peripheral parts of the lungs according to the results of X-ray [21]

Кроме того, у пациента развился экссудативный перикардит. Терапия ГКС привела к регрессу патологической симптоматики, исчезновению перикардального выпота и легочных инфильтратов (рис. 2) [20].

Описан случай манифестации респираторных жалоб (одышка, кашель, заложенность носа) после непродолжительного, в течение 2 мес, лечения месалазином у девушки 16 лет (рис. 3, 4). Лабораторными методами подтверждена эозино-

фильная пневмония, отменен месалазин, назначены ГКС, что привело к купированию легочного повреждения [21].

Дифференциальный диагноз летучих легочных инфильтратов включает в себя легочное кровотечение, легочный васкулит, криптогенную пневмонию, повторную аспирацию, инфекционные заболевания (инвазивный легочный аспергиллез, инвазивный кандидоз), гранулематоз Вегенера, новообразования и др. [1–3, 22].

Таким образом, точный диагноз эозинофильных поражений легких необходим для оптимизации тактики лечения пациентов. Поскольку эти расстройства являются редкими, то диагностика и в настоящее время остается сложной задачей [12, 22].

КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ

В качестве иллюстрации приводим собственное клиническое наблюдение больного Н., 15 лет, которое демонстрирует и особенности диагностики эозинофильного поражения легких, и сложности фармакотерапии. Пациент поступил в отделение 28.03.2017 г. с жалобами на слабость, вялость, снижение аппетита, снижение массы тела, повышение температуры до 39 °С, жидкий стул с примесью алой крови, тенезмы. Ухудшение состояния началось 04.03.2017 г. после контакта с больным острым респираторным заболеванием (ОРЗ) дома, с повышения температуры до 39 °С, слабости, насморка. Осмотрен участковым врачом, поставлен диагноз ОРЗ, были назначены эргоферон, амоксициллин. Считал себя выздоровевшим. Через несколько дней вновь возник подъем температуры, появились боли по задней поверхности грудной клетки справа с иррадиацией в плечо, жидкий стул до 2 раз в сутки, тенезмы, примесь алой крови, стул небольшим объемом. В лечение были добавлены энтерофурил и смекта. В плановом порядке госпитализирован в гастроэнтерологическое отделение. Таким образом, мы видим у пациента четко отягощенный респираторный анамнез и патологическую симптоматику со стороны органов дыхания, которые следуют параллельно гастроинтестинальным симптомам.

Из анамнеза жизни известно, что ребенок от второй беременности, двое родов, масса при рождении 3 500 г, рост 53 см. Грудное вскармливание до 6 мес, прикорм введен по возрасту. Профилактические прививки согласно национальному календарю вакцинации. Ранее реакций на лекарственные препараты не было зарегистрировано. Перенес ветряную оспу, ОРЗ болел редко, в последнее время респираторными заболева-

ниями болеет чаще. Не курит. Последняя реакция Манту – результат отрицательный. Контакт с туберкулезными больными отрицает. Речную рыбу не употребляет. Домашние животные в доме есть: собака, кошка. В туристические поездки в тропические страны не выезжал. Наследственность: у мамы аллергия на сорные травы; у папы – язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки, оперирован, страдает лактозной недостаточностью.

Анамнез заболевания: поносы у ребенка впервые появились с апреля 2015 г. преимущественно в первой половине дня, по утрам. Амбулаторное лечение антибиотиками, пробиотиками не имело эффекта. Исследования кала на патогенную флору были отрицательными. При эзофагогастродуоденоскопии в 2015 г. патологии не выявлено. В кале появилась алая кровь, тенезмы. Был обследован в гастроэнтерологическом отделении. В 2015 г. впервые проведена колонофиброскопия (26.10.2015 г.): кишечник осмотрен до купола слепой кишки, затем аппарат на 20 см проведен в терминальный отдел подвздошной кишки. Слизистая подвздошной кишки розовая, бархатистая, с белесоватыми выбуханиями по 1 мм. Слизистая слепой кишки отечная, рыхлая, гиперемизирована, с мелкоточечными геморрагиями. Баугиниева заслонка плотно сомкнута. Сигмовидная кишка удлинена, образует дополнительную петлю. Слизистая восходящей, поперечно-ободочной, нисходящей кишок отечная, розовая, рыхлая, с очагами неяркой гиперемии. Сосудистый рисунок смазан, местами не прослеживается. На стенках – прожилки слизи. Слизистая прямой и сигмовидной кишок несколько отечная, розовая, тусклая, гаустрация слажена. Стенки мягкоэластичные, растяжимые. Дефектов новообразований не выявлено. Из слизистой слепой, восходящей и сигмовидной кишки взята биопсия по два фрагмента. Заключение: хронический колит с преимущественным поражением правых отделов толстой кишки. Язвенный колит? Лимфофоликулярная гиперплазия терминального отдела подвздошной кишки. Выполнено морфологическое и цитологическое исследование биопсий (26.10.2015 г.): во всех отделах кишки выявлена однотипная картина: слизистый и подслизистый слои стенки кишки обильно инфильтрированы лимфоцитами, плазматическими клетками, эозинофилами, в поверхностных отделах – очаговые геморрагии, участки эрозирования. Встречаются абсцессы крипт. Умеренно выражена гиперплазия желез. Очаговый фиброз подслизистого слоя. На основании проведенного обследования мальчику был установлен диагноз: язвенный колит тотальный,

атака средней степени тяжести, II степени активности, дебют заболевания. Белково-энергетическая недостаточность I степени. Хронический пиелонефрит, период ремиссии. Пациент был выписан с улучшением, доза салофалька в гранулах составила 3 г/сут. На момент поступления больной принимал 2 г салофалька (гранулы) в сутки.

При поступлении в гастроэнтерологическое отделение: общее состояние пациента средней степени тяжести, самочувствие снижено за счет болевого, диспепсического синдромов, явлений дисфункции кишечника. Сознание ясное. Реакция на осмотр спокойная. Конституция астеничная. Кожа бледно-розовая, нормальной температуры и влажности, выражен орбитальный цианоз, чистая. Видимые слизистые розовые, чистые. Язык обложен у корня серым налетом. Периферические лимфатические узлы не увеличены, безболезненные. Подкожно-жировая клетчатка развита недостаточно, распределена равномерно. Дефицит массы тела 18%. Грудная клетка цилиндрическая, равномерно участвует в акте дыхания, перкуторно звук над легкими не изменен, дыхание везикулярное, чистое. Тоны сердца громкие, ритмичные. Живот округлой

формы, мягкий, урчание по ходу кишечника. Печень +0,5 см из-под края реберной дуги, край ровный, безболезненный. Пузырные симптомы отрицательные. Селезенка не пальпируется. Умеренная болезненность при пальпации правой и левой подвздошных областей. Сигма эластичная, умеренная болезненность при пальпации. Стул 2–3 раза в сутки, кашеобразный, с примесью алой крови в конце дефекации, периодически тенезмы. Акт дефекации безболезненный. Диурез достаточный.

В гастроэнтерологическом отделении было проведено комплексное обследование. Результаты общего анализа крови приведены в табл. 1, в динамике госпитализации наблюдается нарастание эозинофилии до 21%, после снижения дозы месалазина происходит постепенное снижение эозинофилов до 15%. По данным биохимического анализа крови зарегистрирована диспротеинемия с увеличением гамма-глобулиновой фракции, увеличение концентрации С-реактивного белка и серомукоидов, что рассматривалось в контексте общевоспалительного синдрома на фоне обострения ВЗК, а также снижение уровня сывороточного железа (табл. 2).

Таблица 1

Table 1

Общий анализ крови при поступлении и в динамике наблюдения Complete blood count on admission and in the dynamics of observation						
Показатель Parameter	Норма Normal range	Дата Date				
		24.03.2017	29.03.2017	06.04.2017	11.04.2017	25.04.2017
Эритроциты, абс. Erythrocytes, abs.	4,0–6,2 × 10 ¹² /л	4,49	4,76	4,85	4,33	4,21
Гемоглобин, г/л Hemoglobin, g/l	110–170	117	121	126	112	115
Цветной показатель Color index	0,8–0,9	0,78	0,75	0,77	0,77	0,76
Лейкоциты, абс. Leukocytes, abs.	4–12 × 10 ⁹ /л	4,8	6,8	9,0	6,9	7,1
Базофилы, % Basophils, %	0–1	–	–	–	–	–
Эозинофилы, % Eosinophils, %	1–5	11	7	8	21	15
Юные формы, % Immature forms, %	–	–	–	–	–	–
Палочкоядерные нейтрофилы, % Stab neutrophils, %	0,5–5	2	–	–	–	–
Сегментоядерные нейтрофилы, % Segmented neutrophils, %	16–45	56	70	59	65	53
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	45–70	25	17	26	13	29
Моноциты, % Monocytes, %	2–12	6	6	7	1	3

Окончание табл. 1

End of table 1

Показатель Parameter	Норма Normal range	Дата Date				
		24.03.2017	29.03.2017	06.04.2017	11.04.2017	25.04.2017
Скорость оседания эритроцитов, мм/ч Erythrocyte sedimentation rate, mm/h	2–12	2	21	2	14	17
Тромбоциты, абс. Platelets, abs.	150–400 × 10 ⁹ /л	413	386	369	353	351
Гематокрит, % Hematocrit, %	80–100 (35–47)	37,8	37,5	37,8	34,6	–

Таблица 2

Table 2

Биохимический анализ крови при поступлении и в динамике наблюдения
Biochemical analysis of blood on admission and in the dynamics of observation

Показатель Parameter	Норма Normal range	Дата Date		
		29.03.2017	30.03.2017	11.04.2017
Белок, г/л Protein, g/l	57–73	78,3	–	64,7
Альбумин, % Albumin, %	36–49	–	44,86	–
С-реактивный белок, г/л C-reactive protein, g/l	0–8	>5	–	>10
АЛТ, Ед./л ALT, u/l	До 40	16,7	–	17,8
АСТ, Ед./л AST, u/l	До 40	20,2	–	16,8
ЩФ, Ед./л ALP, u/l	До 664	258	–	218
Серомукоиды, Ед. Seromucoids, units	0,130–0,200	0,705	–	0,446
Билирубин, общий, ммоль/л Bilirubin, total, mmol/l	3,4–20,7	9,5	–	14,0
Прямой билирубин, ммоль/л Direct bilirubin, mmol/l	0,83–3,4	0,8	–	0,9
Холестерин, ммоль/л Cholesterol, mmol/l	1,8–4,9	3,3	–	2,3
Глюкоза, ммоль/л Glucose, mmol/l	3,3–6,1	4,7	–	4,4
Мочевина, ммоль/л Urea, mmol/l	3,3–5,8	–	–	5,4
Альфа-амилаза, Ед./л Alpha-Amylase, u/l	29–90	45	–	48
Тимоловая проба SH Thymol test SH	0–5	1,5	–	2,0
Сывороточное железо, мкмоль/л Serum iron, μmol/l	7,2–17,9	6,2	–	–
Альфа-1 глобулины, % Alpha-1 globulins, %	1,6–1,9	–	4,06	–
Альфа-2 глобулины, % Alpha-2 globulins, %	5,7–11,5	–	10,86	–
Бета-глобулины, % Beta globulins, %	8,0–14,2	–	14,01	–
Гамма-глобулины, % Gamma globulins, %	10,5–19,5	–	26,21	–

Примечание. АЛТ – аланинаминотрансфераза; АСТ – аспаратаминотрансфераза; ЩФ – щелочная фосфатаза.

Note. ALT – alanine aminotransferase; AST – aspartate aminotransferase; ALP – alkaline phosphatase.

Данные копроскопии объективизируют наличие нарушений переваривания и колитического синдрома (табл. 3). Общие анализы мочи за период госпитализации были без патологии. Соскоб на энтеробиоз (29.03.2017 г.) и кал на яйца гельминтов (31.03.2017 г., 11.04.2017 г.) были отрицательными.

Уровень фекального кальпротектина (04.04.2017 г.) составил $>1\ 800$ мкг/г (референсные значения <50), что свидетельствует о высокой степени воспалительной активности в кишечнике. По результатам эзофагогастродуоденоскопии (31.03.2017 г.): пищевод и кардия свободно проходимы, без патологии.

Таблица 3
Table 3

Копрограмма в динамике наблюдения Coprogram in the dynamics of observation					
Показатель Parameter	Норма Normal range	Дата Date			
		30.03.2017	31.03.2017	06.04.2017	11.04.2017
Кал на скрытую кровь Fecal occult blood test	Отр. Negative	+	–	Отр. Negative	Отр. Positive
Мышечные волокна: – переваренные, – непереваренные Muscle fibers: – digested, – undigested	–	–	+	+++	++ +
Нейтральный жир Neutral fat	Отр. Negative	–	–	–	+
Жирные кислоты Fatty acid	Отр. Negative	–	–	–	–
Переваренная клетчатка Digested fiber	Отр. Negative	–	–	++	++
Крахмал внеклеточный Extracellular fiber	–	–	–	–	++
Йодофильные бактерии Iodophilic bacteria	–	–	–	–	+
Непереваренная клетчатка Undigested fiber	Отр. Negative	–	+	–	++
Бактерии Bacteria	Отр. Negative	–	++	+++	+++
Детрит Detritus	–	–	++	+++	+++
Слизь Mucus	–	–	++	+	+
Лейкоциты Leukocytes	–	5–10, в слизи в большом количестве in mucus in large quantities		20–30	0–0–1
Эритроциты Erythrocytes	–	–	–	–	–
Реакция Трибуле с трихлоруксусной кислотой The reaction of Tribule with trichloroacetic acid	–	–	+	–	–

Примечание. «+» – слабо положительная; «++» – умеренно положительная; «+++» – резко положительная.
Note. «+» – weakly positive; «++» – moderately positive; «+++» – sharp positive.

В желудке обилие мутного секрета, слизи с примесью концентрированной желчи, угол выражен, складки слегка расширены, медленно расправились, гипермоторика. Слизистая желудка в выходном отделе с умеренной гиперемией, рыхлая, оте-

чая, дефектов не обнаружено. Привратник зияет, виден рефлюкс желчи. Луковица округлой формы расправилась, с умеренной гиперемией слизистой, на малой и большой кривизне мелкие лимфоидные фолликулы 2 мм. В постбульбарном отделе очаго-

вая гиперемия, большой дуоденальный сосочек без патологии. Заключение: недостаточность привратника. Дуоденогастральный рефлюкс. Поверхностный гастрит выходного отдела желудка. Фолликулярный бульбит. Очаговый дуоденит. Выполнена электрокардиограмма (05.04.2017 г.): ритм синусовый, 64 в мин. Положение электрической оси сердца нормальное. Проведено ультразвуковое исследование (УЗИ) брюшной полости (30.03.2017 г.): печень не увеличена, контуры четкие и ровные, край острый, изоэхогенная. Косовертикальный размер правой доли печени 139 мм (норма до 129 мм), переднезадний размер правой доли печени 109 мм, переднезадний размер левой доли печени 66 мм. Структура паренхимы однородная. Желчные протоки и сосуды не расширены, холедох 3,5 мм, воротная вена 8 мм. Желчный пузырь овальной формы, с перегибом в шейке. Контур ровный, четкий. Стенка не утолщена. Содержимое однородное. Размер 58 × 22 мм. Поджелудочная железа расположена типично. Контур ровный, четкий. Изоэхогенная. Ткань железы не изменена. Размер 19 × 9 × 18 мм. Заключение: эхоскопически увеличение печени. Перегиб желчного пузыря. Результаты УЗИ щитовидной железы (30.03.2017 г.): эхоскопических изменений не выявлено. Иммуноферментный анализ крови от 05.04.2017 г.: антитела к лямблиям IgG отрицательные, антитела к описторхам IgG отрицательные, общий IgE 92,67 МЕ/мл.

В ходе лечения на базе гастроэнтерологического отделения у ребенка появились активные жалобы на тяжесть в грудной клетке слева, стал чувствовать «треск» при дыхании. Кашля на всем протяжении заболевания не было. 11.04.2017 г. проведена рентгенография легких. На рентгенограммах органов грудной клетки в прямой и левой боковой проекциях от 12.04.2017 г.: слева в нижней доле интенсивное затемнение с горизонтальным уровнем жидкости в заднем базальном синусе с распространением по ходу основной междолевой щели, левый купол диафрагмы и контур сердца нечеткие, на этом фоне определяются очагово-сливные тени, паракостальная плевра утолщена с обеих сторон в нижних отделах. В верхней доле в языковых сегментах тень дисковидного ателектаза. Легочной рисунок усилен больше слева в хвостовой части корня за счет периваскулярного компонента. Корни не расширены. Тень средостения в поперечнике не расширена. Справа купол диафрагмы четкий, синус воздушен. Заключение: R-признаки плевропневмонии в нижней доле слева, дисковидный ателектаз в языковых сегментах (рис. 5).

В общем анализе крови зарегистрировано нарастание эозинофилии. Кашля и признаков дыхательной недостаточности не было. Стул 1 раз в сутки, оформленный, без крови. В гастроэнтерологическом отделении пациент получал: метронидазол 0,25 г × 2 раза в сутки после еды; фосфоглив 1 капсула 3 раза в сутки; альфа нормикс 200 мг × 3 раза в сутки. Суточная доза саломалька в гранулах составляла 3 г 1 раз в сутки.

После проведения рентгенографии органов грудной клетки и выявления воспалительной инфильтрации в легких ребенок был переведен в инфекционно-педиатрическое отделение той же детской больницы, где ему сразу была назначена антибактериальная терапия (цефотаксим с 12.04.2017 по 16.04.2017 г., затем амикацин с 17.04.2017 по 24.04.2017 г.). В инфекционно-педиатрическом отделении состояние оставалось среднетяжелым. Самочувствие страдало соответственно заболеванию. Аппетит снижен. Телосложение астеническое. Кожа телесного цвета, повышенной влажности, на лице и спине акне. На передней поверхности грудной клетки, животе, плечах «летучие» элементы пятнистой сыпи без зуда, появляющейся и исчезающей в течение нескольких минут. Дермографизм красный. Лимфоузлы не увеличены. Подкожно-жировой слой развит недостаточно. Видимые слизистые чистые бледно-розовые. Носовое дыхание свободное, умеренное слизисто-серозное отделяемое. Слизистая полости рта бледно-розовая, чистая. В зеве умеренная гиперемия дужек. Кашля нет. Грудная клетка цилиндрической формы. Перкуторный звук над легкими не изменен. Дыхание в легких жесткое, слева под лопаткой ослаблено, вдох и выдох свободны. Тоны сердца громкие, ритмичные. Живот обычной формы, при пальпации мягкий безболезненный. Печень не увеличена. Селезенка не увеличена. Мочеиспускание достаточно свободное. Стул мягко оформленный 1 раз в сутки, без крови. Диагноз при переводе в инфекционно-педиатрическое отделение: «внутрибольничная очагово-сливная пневмония в нижней доле слева, средней степени тяжести. Осложнение основного заболевания: Плеврит экссудативный. Ателектаз слева». Сопутствующие заболевания: язвенный колит тотальный. Хронический гастроуденит в фазе обострения. Хронический пиелонефрит, период ремиссии. Далее при динамическом наблюдении появилось ослабление дыхания и укорочение перкуторного звука в проекции нижней доли справа, хрипы здесь не выслушивались. Над нижними отделами левого легкого от среднеключичной линии и до



Рис. 5. Плевропневмония в нижней доле слева, дисковидный ателектаз в языковых сегментах по результатам рентгенографии

Fig. 5. Pleuropneumonia in the lower lobe on the left, discoid atelectasis in the reed segments as a result of radiography

проекции S10 перкуторный звук был укорочен. Здесь же выслушивалась крепитация на фоне ослабленного дыхания. Ребенок находился под наблюдением гастроэнтеролога, наблюдалась положительная динамика по данным копрограммы, был купирован колитический синдром, частота стула составляла 1 раз в сутки, патологические примеси (кровь, слизь) отсутствовали.

С лечебно-диагностической целью пациенту 12.04.2017 г. была проведена плевральная пункция. Исследование плевральной жидкости: желтая, прозрачная. Удельный вес – 1 015; белок – 43 г/л, проба Ривальта положительная; нативный препарат: сегментоядерные нейтрофилы – 17%, эозинофилы – 60%, лимфоциты – 18%, моноциты – 5%; цитология плевральной жидкости: лейкоциты 8–10 в поле зрения, эпителиальные клетки и бактериальная микрофлора не обнаружены.

Бактериальный посев плевральной жидкости не выявил роста бактериальной микрофлоры. Мазок из зева на микрофлору – роста нет. Иммуноферментный анализ крови на микоплазмоз отрицательный; на хламидиоз – отрицательный. Ребенок консультирован фтизиатром, данных за туберкулезную инфекцию не выявлено. Результат микроскопического исследования плевральной жидкости на выявление кислотоустойчивых микобактерий отрицательное. Полимеразная цепная реакция на микобактерии туберкулеза отрицательная.

Таким образом, на данном этапе госпитализации обращает на себя внимание выраженная эозинофилия (21%) в общем анализе крови и плевральной жидкости (60%).

В процессе лечения антибиотиками (на 5-е сут назначения цефотаксима) проведена контрольная рентгенография органов грудной клет-

ки (16.04.2017 и 17.04.2017 г.): справа в базальных отделах количество свободной жидкости в плевральной полости несколько увеличилось (паракостальная плевра утолщена до 20 мм), слева R-изменения в нижних отделах сохраняются (R-картина прежняя). Легочный рисунок существенно не изменен. Корни не расширены. Тень средостения в поперечнике не расширена. Левый купол диафрагмы нечеткий, деформирован, правый уплощен. Заднебазальные синусы затемнены (рис. 6).



Рис. 6. Плевропневмония в нижней доле слева, двухсторонний плеврит, дисковидный ателектаз в языковых сегментах по результатам рентгенографии

Fig. 6. Pleuropneumonia in the lower lobe of the left, double-sided pleurisy, discoid atelectasis in the reed segments as a result of X-ray

Отсутствие положительной динамики на фоне стандартной терапии заставило расширить диагностический поиск.

Пациент был проконсультирован пульмонологом, было высказано предположение об эозинофильном поражении легких. Анализируя развитие симптомов со стороны бронхолегочной системы, была выявлена временная связь с увеличением дозы салофалька и увеличением эозинофилов в общем анализе крови. Было рекомендовано уменьшить дозу салофалька в гранулах с 3 до 1,5 г/сут.

Количество плеврального выпота дополнительно оценивали с помощью УЗИ плевральных полостей (от 20.04.2017 г.): справа в плевральной полости жидкости около 40 мл, слева жидкости около 50 мл.

С целью детализации объема поражения и ответа на лечение ребенку была проведена спиральная КТ (28.04.2017 г.), исследование проводилось компьютерной томографической системой SOMATOM Emotion (Siemens, Германия)

(16 срезов). Толщина аксиальных срезов 1,5 мм, 5 мм, реконструкция во фронтальной и сагитальной плоскостях. Грудная клетка правильной формы, обе половины грудной полости симметричны. Структурных изменений костной ткани не выявлено. Легкие: легочная ткань правого и левого легких удовлетворительной пневматизации, инфильтративных изменений не выявлено. Справа в S4, слева в S6, S10 определяются участки уплотнения легочной ткани, расположенные субплеврально. Корни легких структурны, легочный рисунок выражен обычно. Трахея с четкими ровными контурами, не деформирована на всем протяжении. Бронхиальное дерево сфор-

мировано правильно, бронхи прослеживаются до субсегментарного уровня, стенки бронхов не утолщены, просветы свободны по ходу главной междолевой борозды справа и слева определяются уплотнения. Справа костальная плевра утолщена (толщина 1,75 см) с небольшим количеством жидкости. Слева плевра не утолщена, жидкости в плевральной полости не выявлено, купола диафрагмы четкие, правильной формы. Лимфоузлы бронхопульмональной группы не увеличены. В структурах средостения патологических образований не определяется. Заключение: КТ-признаки остаточной пневмонии S4 справа и S6, S10 слева; плеврита справа (рис. 7).

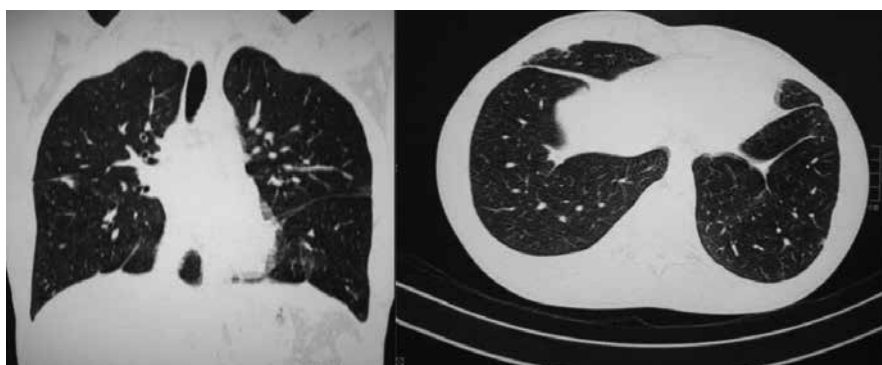


Рис. 7. Признаки остаточной пневмонии S4 справа и S6, S10 слева, плеврита справа по результатам компьютерной томографии

Fig. 7. Signs of residual pneumonia S4 on the right and S6, S10 on the left, pleurisy on the right according to the results of computed tomography

В динамике проводилось УЗИ плевральных полостей (03.05.2017 г.): справа в плевральной полости жидкости больше, около 15 мл, слева жидкости меньше, около 5 мл, содержимое однородное. В динамике объем жидкости в плевральных полостях уменьшался.

Окончательный диагноз был сформулирован следующим образом: эозинофильная месалазин-индуцированная левосторонняя пневмония, осложненная двухсторонним экссудативным эозинофильным плевритом, дисковидным ателектазом язычковых сегментов верхней доли слева. Сопутствующий диагноз: «язвенный колит тотальный, атака средней степени тяжести. Хронический гастроудоденит в фазе обострения. Хронический пиелонефрит, период ремиссии».

В процессе наблюдения и терапии на фоне снижения дозы салофалька отмечалось постепенное купирование респираторных жалоб, аускультативной картины, инфильтрации в легких и уменьшение плеврального выпота. Гормональная терапия ребенку не назначалась. Пациент был

выписан в удовлетворительном состоянии, под наблюдением участкового педиатра, гастроэнтеролога, пульмонолога.

Таким образом, необходимо подчеркнуть, что бронхолегочная патология у больных с ВЗК может быть как внекишечным проявлением основного заболевания, так и осложнением лекарственной терапии. Одним из наиболее проблемных вопросов является их дифференциальная диагностика, которая представляет определенную сложность, но крайне важна для выбора оптимальной врачебной тактики. Для лекарственно-индуцированной легочной эозинофилии прекращение приема препарата является основным в терапии. В тяжелых случаях легочной эозинофилии показано использование системных кортикостероидов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Анаев Э.Х., Чучалин А.Г. Легочные эозинофилии: диагностика, подходы к терапии. *Пульмонология*. 2012; 4: 106–115. [Anaev E.Kh., Chuchalin A.G. Pulmonary eosinophilia: diagnosis, approaches to therapy. *Pulmonology*. 2012; 4: 106–115 (in Russ.).]

2. Анаев Э.Х. Легочные эозинофилии: проблемы дифференциальной диагностики. *Астма и аллергия*. 2016; 1: 6–12. [Anaev E.Kh. Pulmonary eosinophilia: problems of differential diagnosis. *Asthma and Allergies*. 2016; 1: 6–12 (in Russ.)].
3. Самсонова М.В., Черняев А.А. Эозинофилии легких. *Практическая пульмонология*. 2016; 1: 56–60. [Samsonova M.V., Chernyaev A.L. Eosinophilia of the lungs. *Practical pulmonology*. 2016; 1: 56–60 (in Russ.)].
4. Campos L.E., Pereira L.F. Pulmonary eosinophilia. *J. Bras. Pneumol.* 2009; 35: 561–573.
5. Jeong Y.J., Kim K.L., Seo I.J. Eosinophilic lung diseases: a clinical, radiologic, and pathologic overview. *Radiographics*. 2007; 27: 617–637.
6. Allen J.N., Davis W.B. Eosinophilic lung diseases. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1994; 150: 1423–1438.
7. Bain G.A., Flower C.D. Pulmonary eosinophilia. *Eur. J. Radiol.* 1996; 23: 3–8.
8. Johkoh T., Muller N.L., Akira M. Eosinophilic lung diseases: diagnostic accuracy of thin section CT in 111 patients. *Radiology*. 2000; 216: 773–780.
9. Михайлова З.Ф. Системная патология при хронических заболеваниях кишечника. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2010; 3: 95–98. [Mikhaylova Z.F. Systemic pathology in chronic intestinal diseases. *Experimental and clinical gastroenterology*. 2010; 3: 95–98 (in Russ.)].
10. Sharma G.D., Vinikoor M.J. Löffler syndrome. Medscape. URL: <http://emedicine.medscape.com/article/1002606-overview>
11. Fernández Pérez E.R., Olson A.L., Frankel S.K. Eosinophilic lung diseases. *Med. Clin. North Am.* 2011; 95: 1163–1187.
- Cottin V. Eosinophilic Lung Diseases. *Clin. Chest Med.* 2016 Sept.; 37 (3): 535–556. DOI: 10.1016/j.ccm.2016.04.015.
12. Saint-Pierre M.D., Moran-Mendoza O. Acetaminophen Use: An Unusual Cause of Drug-Induced Pulmonary Eosinophilia. *Can. Respir. J.* 2016; 2016: 4287270.
13. Park J.E., Hwangbo Y., Chang R., Chang Y.W., Jang J.Y., Kim B.H. et al. Mesalazine-induced eosinophilic pneumonia in a patient with Crohn's disease. *Korean J. Gastroenterol.* 2009 Feb.; 53 (2): 116–120.
14. Yeo J., Woo H.S., Lee S.M., Kim Y.J., Kwon K.A., Park D.K. et al. Drug-induced eosinophilic pneumonia in a patient with Crohn's disease: diagnosis and treatment using fraction of exhaled nitric oxide. *Intest Res.* 2017 Oct.; 15 (4): 529–534. DOI: 10.5217/ir.2017.15.4.529.
15. Timmer R., Duurkens V.A.M., Van Hees P.A.M. Sulphasalazine-induced eosinophilic pneumonia. *Neth. J. Med.* 1992; 41: 153–157.
16. Bitton A., Peppercorn M.A., Hanrahan J.P., Upton M.P. Mesalazine-induced lung toxicity. *Am. J. Gastroenterol.* 1996; 91: 1039–1040.
17. Gupta A., Gulati S. Mesalamine induced eosinophilic pneumonia. *Respir. Med. Case Rep.* 2017 Apr. 12; 21: 116–117. DOI: 10.1016/j.rmcr.2017.04.010.
18. Ferrusquia J., Perez-Martinez I., Gomez de la Torre R., Fernandez-Almira M., de Francisco R., Rodrigo L. et al. Gastroenterology case report of mesalazine-induced cardiopulmonary hypersensitivity. *World J. Gastroenterol.* 2015; 21 (13): 4069–4077. DOI: 10.3748/wjg.v21.i13.4069.
19. Patel K.B., Robbins M.M., Simon M.L., Amorosa J.K. Eosinophilic Pneumonia in a Patient with Ulcerative Colitis. *Radiol. Case Rep.* 2015 Dec. 7; 2 (4): 49. DOI: 10.2484/rcr.2007.v2i4.49.
20. Inoue M., Horita N., Kimura N., Kojima R., Miyazawa N. Three cases of mesalazine-induced pneumonitis with eosinophilia. *Respir. Investig.* 2014; 52 (3): 209–212.
21. Zhang Y., Luo L., Wang X., Liu X., Wang X., Ding Y. Mesalazine-induced eosinophilic pneumonia with bone marrow infiltration: a case report and literature review. *Ther. Clin. Risk Manag.* 2016; 12: 975–981.

Сведения об авторах

Янкина Галина Николаевна, д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной педиатрии, СибГМУ; Детская больница № 1, г. Томск. ORCID iD 0000-0001-5792-2012.

Горленко Людмила Васильевна, канд. мед. наук, ассистент, кафедра госпитальной педиатрии, СибГМУ; Детская больница № 1, г. Томск. ORCID iD 0000-0003-3508-3670.

Лошкова Елена Владимировна, канд. мед. наук, ассистент, кафедра госпитальной педиатрии, СибГМУ; Детская больница № 1, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-3043-8674.

Кондратьева Елена Ивановна, д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной педиатрии, СибГМУ, г. Томск; руководитель научно-консультативного отдела муковисцидоза Медико-гене генетического научного центра, г. Москва. ORCID iD 0000-0002-7913-310X.

Тютеева Елена Юрьевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра госпитальной педиатрии, СибГМУ; Детская больница № 1, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-1972-7010.

Authors information

Yankina Galina N., DM, Professor, Department of Hospital Pediatrics, SSMU; Children's Hospital № 1, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-5792-2012.

Gorlenko Lydmila V., PhD, Assistant Professor, Department of Hospital Pediatrics, SSMU; Children's Hospital № 1, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-3508-3670.

Loshkova Elena V., PhD, Assistant Professor, Head of Affective States Department, SSMU; Children's Hospital № 1, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-3043-8674.

Kondratyeva Elena I., DM, Professor, Department of Hospital Pediatrics, SSMU, Tomsk; Head of the Scientific Advisory Department of Cystic Fibrosis of the Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-7913-310X.

Tuteva Elena Yu., PhD, Associate Professor, Department of Hospital Pediatrics, SSMU; Children's Hospital № 1, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-1972-7010.

Терентьева Алла Александровна, канд. мед. наук, доцент, кафедра госпитальной педиатрии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0003-3241-282X.

Желев Виктор Александрович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой госпитальной педиатрии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-2133-665X.

Михалев Евгений Викторович, д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной педиатрии, СибГМУ; Детская больница № 1, г. Томск. ORCID iD 0000-0003-4439-151X.

Шемякина Татьяна Анатольевна, канд. мед. наук, доцент, кафедра госпитальной педиатрии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0003-0134-4107.

Кривоногова Татьяна Сергеевна, д-р мед. наук, профессор, кафедра госпитальной педиатрии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-8910-8813.

Рыжакова Наталья Александровна, канд. мед. наук, ассистент, кафедра госпитальной педиатрии, СибГМУ, г. Томск. ORCID iD 0000-0002-2550-5844.

Романова Елена Викторовна, ст. преподаватель, кафедра микробиологии и вирусологии, СибГМУ, г. Томск. SPIN-код: 5339-2382, Author ID: 861111, ORCID iD 0000-0002-8769-5743.

(✉) **Лошкова Елена Владимировна**, e-mail: loshkova@rambler.ru.

Terentyeva Tatyana A., PhD, Associate Professor, Department of Hospital Pediatrics, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-1972-7010.

Zhelev Victor A., DM, Professor, Head of the Department of Hospital Pediatrics, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-2133-665X.

Mikhalev Evgeniy V., DM, Professor, Department of Hospital Pediatrics, SSMU; Children's Hospital № 1, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-4439-151X.

Shemyakina Tatyana A., PhD, Associate Professor, Department of Hospital Pediatrics, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-0134-4107.

Krivonogova Tatyana S., DM, Professor, Department of Hospital Pediatrics, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-8910-8813.

Ryzhakova Natalia A., PhD, Assistant Professor, Department of Hospital Pediatrics, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-2550-5844.

Romanova Elena V., Senior Lecturer, Microbiology and Virology Division, SSMU, Tomsk, Russian Federation. SPIN-code: 5339-2382, Author ID: 861111, ORCID iD 0000-0002-8769-5743.

(✉) **Loshkova Elena V.**, e-mail: loshkova@rambler.ru.

Поступила в редакцию 24.01.2019

Подписана в печать 11.06.2019

Received 24.01.2019

Accepted 11.06.2019



Опубликован Московский международный рейтинг вузов «Три миссии университета» (MosIUR) 2019 г., по результатам которого СибГМУ вошел в интервальную группу 701–800 в мировом рейтинге и в интервальную группу 25–32 среди российских вузов. Таким образом, СибГМУ сохранил статус лучшего нестоличного медицинского вуза России, пропустив вперед лишь два медуниверситета Санкт-Петербурга и Москвы.

«Московский международный рейтинг вузов» – принципиально новый академический рейтинг, который впервые включает все три ключевые миссии университета: образование, науку и взаимодействие с обществом. И то, что СибГМУ удастся сохранить третье место в России по данным самых различных рейтингов, свидетельствует об объективности оценки. Рейтинг «Три миссии университета» наряду со стандартными параметрами измеряет вклад в развитие общества. «Для медицинских вузов важность социальной роли очевидна», – отметила ректор СибГМУ Ольга Кобякова.

Рейтинг «Три миссии университета» в 2019 г. стал более представительным, впервые количество вузов в публикуемом списке превысило 1 000, что соответствует современному стандарту ведущих рейтинговых агентств мира. В рейтинге 2019 г. представлены 1 200 университетов из 79 стран, в том числе 74 российских вуза. В 2018 г. список включал 333 университета мира. Еще одно новшество – международная экспертиза результатов рейтинга с участием 16 авторитетных зарубежных экспертов, каждому из которых направлялись предварительные результаты ранжирования.

Инициатива создания рейтинга поддержана ведущими университетами России, Китая, Индии, Ирана, Турции, Японии. Методология рейтинга прошла масштабное общественное обсуждение в России и за рубежом, в нем приняли участие свыше 100 университетов. В состав участников экспертного совета рейтинга входят 25 экспертов из 16 стран.

Для составления рейтинга использовались исключительно объективные критерии, одобренные международными экспертами; репутационные опросы полностью исключены. При этом спектр источников информации для рейтинга гораздо шире традиционно используемых в существующих популярных рейтингах. Источниками информации стали открытые данные официальных сайтов университетов и национальных органов власти, а также данные независимых международных источников: Clarivate Analytics (поставщик данных и метрик из InCites и Global Institutional Profiles Project (GIPP)); Elsevier (владелец библиографической и реферативной базы данных Scopus); онлайн-платформы массового образования Coursera и edX; общедоступная многоязычная универсальная энциклопедия «Википедия»; поисковые системы Google, «Яндекс», Baidu; социальные сети Facebook, Twitter, VK, Sina Weibo; компания Alexa, один из мировых лидеров в области веб-аналитики; веб-сайты международных олимпиад студентов; веб-сайты научных премий из списка IREG List of International Academic Awards.

Формирование рейтинга «Три миссии университета» инициировано Российским союзом ректоров в соответствии с поручением Президента России В.В. Путина. Оператор рейтинга – Ассоциация составителей рейтингов, рэнкингов и иных оценок эффективности (АСР), членами которой являются ведущие рейтинговые и исследовательские центры.

Полная версия материалов рейтинга на русском языке доступна на сайте журнала Rating Review.

Источник www.raex-rr.com



Коломиец Л.А., Чуруксаева О.Н. **Местно-распространенный рак шейки матки.** – Томск: Изд-во СибГМУ, 2018. – 223 с.

ISBN 978-5-98591-135-0

В монографии представлены эпидемиологические аспекты рака шейки матки. Показана роль ВПЧ-инфекции в качестве основного этиологического фактора развития местно-распространенного рака шейки матки (МРРШМ), ее влияние на показатели общей и безрецидивной выживаемости, особенности метастазирования. Оценено значение вирусной нагрузки и физического статуса вируса ВПЧ в качестве прогностических факторов прогрессирования заболевания. Важная роль отводится современным способам лечения местно-распространенного рака шейки матки. Обсуждается роль химиотерапии в комбинированном лечении больных МРРШМ. Подробно излагаются вопросы, касающиеся особенностей диагностики, лечения и прогноза местно-распространенного рака шейки матки у больных пожилого и старческого возрастов. Одним из приоритетных разделов является изучение качества жизни онкогинекологических больных в зависимости от объема проведенного противоопухолевого лечения, обсуждаются психологические и социальные аспекты, приводятся данные о взаимосвязи качества жизни с показателями выживаемости. Анализируются факторы, в том числе иммуногистохимические, влияющие на прогноз заболевания. Разрабатываются математические модели прогноза местно-распространенного рака шейки матки.

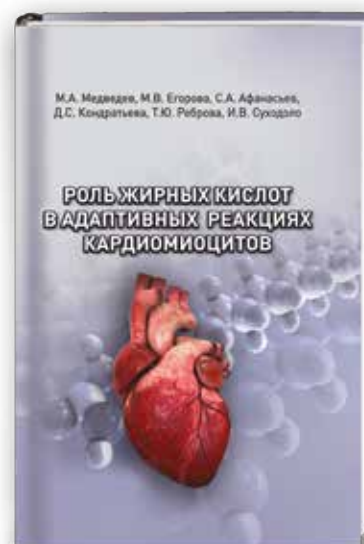
Роль жирных кислот в адаптивных реакциях кардиомиоцитов /

М.А. Медведев, М.В. Егорова, С.А. Афанасьев, Д.С. Кондратьева, Т.Ю. Реброва, И.В. Суходоло. – Томск: Изд-во СибГМУ, 2018. – 146 с.

ISBN 978-5-98591-139-8

Монография посвящена исследованию роли свободных жирных кислот в процессах адаптации сердца. Рассматривается гипотеза о сигнальном значении повышения уровня свободных жирных кислот в крови при стрессорных и патологических воздействиях, как о триггерном механизме, запускающем адаптивные процессы на всех уровнях: субклеточном, клеточном, органном и уровне целого организма. Экспериментальное обоснование данной гипотезы обусловлено результатами обширного анализа литературы, а также собственных биохимических, морфологических исследований на разных сроках прямого и опосредованного повреждения сердца.

Работа рекомендована для широкого круга специалистов: физиологов, патофизиологов, биохимиков, кардиологов, биологов.



Краснуха: современное состояние проблемы / Е.М. Малкова, А.П. Помогаева, И.П. Терещенко, З.А. Хохлова. – Томск: Издательство СибГМУ, 2018. – 332 с.

ISBN 978-5-98591-137-4

В монографии представлены результаты современных исследований по вирусологии, эпидемиологии, патогенезу и клинике врожденной и приобретенной краснухи. Представлены основные методы лабораторной диагностики. Проиллюстрирована динамика патологических изменений в органах, описаны ультраструктурные особенности патологических изменений при вирусной инфекции, вызванной вирусом краснухи.

Книга предназначена для вирусологов, педиатров, инфекционистов, патологов, студентов медицинских учебных заведений высшего образования.

ISSN PRINT: 1682-0363
ISSN ONLINE: 1819-3684
Бюллетень сибирской медицины
Bulletin of Siberian Medicine
bulletin
ENG / РУС

БМ
Бюллетень сибирской медицины
Расширенный поиск

ГЛАВНАЯ
О ЖУРНАЛЕ
МОЙ КАБИНЕТ
ПОИСК
СВЕЖИЙ НОМЕР
АРХИВ
НОВОСТИ
АРХИВ 2002-2011



Научно-практический рецензируемый журнал
Научно-практический журнал общемедицинского профиля «Бюллетень сибирской»

«Бюллетень сибирской медицины» является регулярным рецензируемым печатным изданием, отражающим результаты научных исследований, ориентированных на разработку передовых медицинских технологий.

С целью объединения научной медицинской общественности, распространения актуальной информации и содействия профессиональному росту специалистов журнал публикует оригинальные научные статьи, представляющие результаты экспериментальных и клинических исследований, лекции, научные обзоры, отражающие результаты исследований в различных областях медицины. Приоритет для публикации предоставляется материалам по перспективным направлениям современной медицинской науки:

- молекулярная медицина,
- регенеративная медицина и биоинженерия,
- информационные технологии в биологии и медицине,
- инвазивные медицинские технологии,
- нейронауки и поведенческая медицина,
- фармакология и инновационная фармацевтика,
- ядерная медицина,
- трансляционная медицина.

Журнал выполняет широкий спектр функций, которые в целом дают представление об основных направлениях развития российской медицинской науки и ее достижениях, ее конкурентоспособности и степени интеграции в международное научное сообщество.

Научно-практический рецензируемый журнал «Бюллетень сибирской медицины» / Bulletin of Siberian Medicine издается Сибирским государственным медицинским университетом с 2001 г. при поддержке ТРОО «Академия доказательной доказательной медицины».

Главный редактор — академик РАН В.В. Новицкий.

Журнал зарегистрирован в Министерстве Российской Федерации по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций.

Свидетельство ПИ № 77-7366 от 26.03.2001 г.
ISSN 1682-0363

Журнал включен в Перечень периодических научных и научно-технических изданий, выпускаемых в РФ, в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук (Перечень ВАК, редакция 01.12.2015).

Индексация:

- РИНЦ (RSCI; Science Index)
- КиберЛенинка
- DIRECTORY OF OPEN ACCESS JOURNALS
- WoS (ESCI) с 2016 года
- Scopus с 2018 года.

Продолжая традиции первых медицинских журналов, на

Отправить статью

Правила для авторов

Редакционная коллегия

Рецензирование

Этика публикаций

ПОПУЛЯРНЫЕ СТАТЬИ

Содержание митохондриальной цепи окислительного фосфорилирования в плазме после физической нагрузки различного характера

Том 16, № 1 (2017)



ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР
Новицкий В.В.

ОБЛАКО ТЕГОВ

адаптация артериальная гипертензия
бронхиальная астма воспаление дети

OPEN ACCESS

Антиплагиат

АНРИ

СТУДЕНТИКА

DOI

LIBRARY.RU

EMERSON SOURCE

Global ES

Google

360

NEICON

NLM Catalog

Open Archives

Research Bible

РГБ

Scopus

VERICHS PERIODICALS DIRECTORY

WorldCat

znanium.com