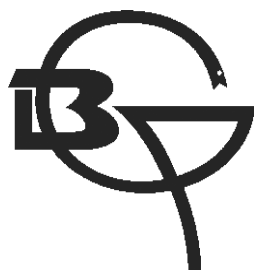


ISSN 2541-9420

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA



Том 3

№5

2018

ИРКУТСК

Главный редактор

Колесников С.И., академик РАН (Россия, Иркутск – Москва)

Зам. главного редактора

Рычкова Л.В., д.м.н., профессор РАН (Россия, Иркутск)

Сороковиков В.А., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск)

Щуко А.Г., д.м.н., профессор, (Россия, Иркутск)

Ответственный секретарь

Карпова Т.Г. (Россия, Иркутск)

Редакционная коллегия

Балахонов С.В., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск)

Григорьев Е.Г., чл.-корр. РАН (Россия, Иркутск)

Колесникова Л.И., академик РАН (Россия, Иркутск)

Мадаева И.М., д.м.н. (Россия, Иркутск)

Малов И.В., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск)

Муамар Аль-Джефут, доктор медицины, профессор (Иордания, Карак)

Никитенко Л.Л., д.б.н. (Великобритания, Оксфорд)

Нямдаваа П., академик Монгольской академии медицинских наук (Монголия, Улан-Батор)

Савилов Е.Д., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск)

Такакура К., доктор наук, профессор (Япония, Токио)

Шпрах В.В., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск)

Юрьева Т.Н., д.м.н. (Россия, Иркутск)

Янагихара Р. доктор наук, профессор (США, Гавайи)

Редакционный совет

Айзман Р.И., д.м.н. (Россия, Новосибирск); Атшабар Б.Б., д.м.н., профессор (Казахстан, Алматы); Белов А.М., д.м.н., профессор (Россия, Москва); Белокрыницкая Т.Е., д.м.н., профессор (Россия, Чита), Бохан Н.А., академик РАН (Россия, Томск); Данчинова Г.А., д.б.н. (Россия, Иркутск); Дзятковская Е.Н., д.б.н., профессор (Россия, Москва); Дубровина В.И., д.б.н. (Россия, Иркутск); Дыгай А.М. академик РАН (Россия, Томск); Колосов В.П., академик РАН (Россия, Благовещенск); Константинов Ю.М., д.б.н., профессор (Россия, Иркутск); Кожевников В.В., д.м.н., профессор (Россия, Улан-Удэ); Мазуцава Т., доктор наук, профессор (Япония, Чиба); Макаров Л.М., д.м.н., профессор (Россия, Москва); Малышев В.В., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск); Манчук В.Т., член-корр. РАН (Россия, Красноярск); Огарков О.Б., д.м.н. (Россия, Иркутск); Плеханов А.Н., д.м.н. (Россия, Улан-Удэ); Погодина А.В., д.м.н. (Россия, Иркутск); Протопопова Н.В., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск); Савченков М.Ф., академик РАН (Россия, Иркутск); Саляев Р.К., член-корр. РАН (Россия, Иркутск); Сутурина Л.В., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск); Сэргэлэн О., д.м.н. профессор (Монголия, Улан-Батор); Такакура К., доктор наук, профессор (Япония, Токио); Уварова Е.В., д.м.н., профессор (Россия, Москва); Хохлов А.Л., член-корр. РАН (Россия, Ярославль); Эпштейн О.И., член-корр. РАН (Россия, Москва).

Авторы опубликованных материалов несут ответственность за подбор и точность приведенных фактов, цитат, статистических данных и прочих сведений, а также за то, что в материалах не содержится данных, не подлежащих открытой публикации.

Мнение автора может не совпадать с мнением редакции.

Адрес редакции: 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16. ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ.

Тел. (3952) 20-90-48.

<http://actabiomedica.ru>

E-mail: journalirk@gmail.com

Журнал «Acta Biomedica Scientifica» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Свидетельство о регистрации СМИ – ПИ № ФС 77-69383 от 06 апреля 2017 г.

До апреля 2017 года журнал имел название «Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской Академии медицинских наук».

Основан в 1993 году.

Учредители – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ) (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16), Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (ФГБНУ ИНЦХТ) (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, д. 1), Федеральное государственное автономное учреждение «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (127486, г. Москва, Бескудниковский б-р, д. 59 А).

Журнал включен в Реферативный журнал и базу данных ВИНТИ. Сведения о журнале публикуются в международной справочной системе по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals Directory». Журнал «Acta Biomedica Scientifica» входит в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук».

Двухлетний импакт-фактор РИНЦ 2015 г. – 0,280.

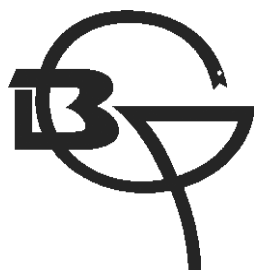
Подписной индекс 24347.

ISSN (Online) 2587-9596

Ключевое название: Acta Biomedica Scientifica

ISSN 2541-9420

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA



Vol. 3

N5

2018

IRKUTSK

Chief Editor

Kolesnikov S.I., Academician of RAS (Russia, Irkutsk – Moscow)

Deputy Chief Editor

Rychkova L.V., Doctor of Medical Sciences, Professor of RAS (Russia, Irkutsk)

Sorokovikov V.A., Doctor of Medical Sciences, Professor (Russia, Irkutsk)

Shchuko A.G., Doctor of Medical Sciences, Professor (Russia, Irkutsk)

Executive secretary

Karpova T.G. (Russia, Irkutsk)

Editorial board

Balakhonov S.V., Doctor of Medical Sciences, Professor (Russia, Irkutsk)

Grigoryev E.G., Corresponding Member of RAS (Russia, Irkutsk)

Kolesnikova L.I., Academician of RAS (Russia, Irkutsk)

Madaeva I.M., Doctor of Medical Sciences (Russia, Irkutsk)

Malov I.V., Doctor of Medical Sciences, Professor (Russia, Irkutsk)

Moamar Al-Jefout, MD, Professor (Jordan, Karak)

Nikitenko L.L., Doctor of Biological Sciences (UK, Oxford)

Nyamdavaa P., Academician of Mongolian Academy of Sciences (Mongolia, Ulaanbaatar)

Savilov E.D., Doctor of Medical Sciences, Professor (Russia, Irkutsk)

Takakura K., MD, Professor (Japan, Tokyo)

Shprakh V.V., Doctor of Medical Sciences, Professor (Russia, Irkutsk)

Yurieva T.N., Doctor of Medical Sciences (Russia, Irkutsk)

Yanagihara R., MD, Professor (USA, Hawaii)

Editorial Council

Aizman R.I., Doctor of Medical Sciences (*Russia, Novosibirsk*); Atshabar B.B., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Kazakhstan, Almaty*); Belov A.M., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Russia, Moscow*); Belokrinitskaya T.E., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Russia, Chita*); Bokhan N.A., Academician of RAS (*Russia, Tomsk*); Danchinova G.A., Doctor of Biological Sciences (*Russia, Irkutsk*); Dzyatkovskaya E.N., Doctor of Biological Sciences, Professor (*Russia, Moscow*); Dubrovina V.I., Doctor of Biological Sciences (*Russia, Irkutsk*); Dygai A.M., Academician of RAS (*Russia, Tomsk*); Kolosov V.P., academician of RAS (Russia, Blagoveshchensk); Konstantinov Yu.M., Doctor of Biological Sciences, Professor (*Russia, Irkutsk*); Kozhevnikov V.V., Doctor of Medical Science, Professor (*Russia, Ulan-Ude*); Mazutsava T., MD, Professor (*Japan, Chiba*); Makarov L.M., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Russia, Moscow*); Malyshev V.V., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Russia, Irkutsk*); Manchouk V.T., Corresponding Member of RAS (*Russia, Krasnoyarsk*); Ogarkov O.B., Doctor of Medical Sciences (*Russia, Irkutsk*); Plekhanov A.N., Doctor of Medical Sciences (*Russia, Ulan-Ude*); Pogodina A.V., Doctor of Medical Sciences (*Russia, Irkutsk*); Protopopova N.V., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Russia, Irkutsk*); Savchenkov M.F., Academician of RAS (*Russia, Irkutsk*); Salyajev R.K., Corresponding Member of RAS (*Russia, Irkutsk*); Sutturina L.V., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Russia, Irkutsk*); Sergelen O., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Mongolia, Ulaanbaatar*); Takakura K., MD, Professor (*Japan, Tokyo*); Uvarova E.V., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Russia, Moscow*); Khokhlov A.L., Corresponding Member of RAS (*Russia, Yaroslavl*); Epshtein O.I., Corresponding Member of RAS (*Russia, Moscow*).

The authors of the published articles account for choice and accuracy of presented facts, quotations, historical data and other information; the authors are also responsible for not presenting data which are not meant for open publication.

The opinion of the authors may not coincide with that of editorial board.

Address of editorial board: SC FHHRP. 16, Timiryazev str., Irkutsk, Russia, 664003

Tel. (3952) 20-90-48.

<http://actabiomedica.ru>

E-mail: journalirk@gmail.com

Acta Biomedica Scientifica is registered in Federal Service of Supervision in communication sphere, information technologies and mass media. Certificate of Mass Media Registration – ПИ № ФС 77-69383 d.d. 06 April 2017.

Title before April 2017 – “Bulletin of Eastern-Siberian Scientific Center of Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences”.

Acta Biomedica Scientifica has been founded in 1993.

Founders – Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (16, Timiryazev str., Irkutsk, Russia, 664003), Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology (1, Bortsov Revolutsii str., Irkutsk, Russia, 664003), Interbranch Scientific and Technical Complex «Eye Microsurgery» named after Academician S.N. Fyodorov (59A, Beskudnikovskiy blvd., Moscow, 127486).

Acta Biomedica Scientifica is included in Abstract Journal and Data base of All-Russian Institute of Scientific and Technical Information. Information about *Acta Biomedica Scientifica* is published in international question-answering system of periodicals and continued publications «Ulrich's Periodicals Directory».

Acta Biomedica Scientifica is included in «List of Russian reviewed scientific periodicals where main scientific results of dissertations for a degree of Candidate and Doctor of Science should be published»

Two-year impact factor by Russian Science Citation Index in 2015 – 0,280.

Subscription index 24347.

ISSN (Online) 2587-9596

Key title: *Acta Biomedica Scientifica*

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Акушерство и гинекология

Obstetrics and gynaecology

Утробин М.В., Юрьев С.Ю. Иммунологические и генетические изменения как предикторы потери беременности при формировании ретрохориальной гематомы в первом триместре 9

Utrobin M.V., Yuryev S.Yu. Immunological and Genetic Changes as Predictors in the Loss of Pregnancy in the Formation of Retrochorial Hematoma in the First Trimester

Биология и медицинская биология

Biology and medical biology

Semenova N.V., Madaeva I.M., Kolesnikova L.I. Insomnia and Circadian Rhythms of Melatonin in Menopausal Women 16

Семёнова Н.В., Мадаева И.М., Колесникова Л.И. Инсомния и циркадные ритмы мелатонина у женщин в менопаузе

Биохимия

Biochemistry

Даренская М.А., Данчинова Я.Л., Ааромал Аджитха, Гребенкина Л.А., Александров С.Г., Сусликова М.И., Сухинина К.В., Колесникова Л.И. Оценка компонентов липидного профиля у студентов-иностранцев, обучающихся на базе Иркутского государственного медицинского университета 22

Darenskaya M.A., Danchinova Ya.L., Aaromal Adjitha, Grebenkina L.A., Aleksandrov S.G., Suslikova M.I., Sukhinina K.V., Kolesnikova L.I. Evaluation of Lipid Profile Components in Foreign Students Studying at the Irkutsk State Medical University

Внутренние болезни

Internal diseases

Федоришина О.В., Протасов К.В., Торунова А.М. Влияние статина при добавлении к антигипертензивной терапии на показатели сосудистой жёсткости у больных артериальной гипертензией высокого сердечно-сосудистого риска 27

Fedorishina O.V., Protasov K.V., Torunova A.M. The Effect of Statin Added to Antihypertensive Therapy on Arterial Stiffness in Hypertensive Patients at High Cardiovascular Risk

Генетика, протеомика и метаболомика

Genetics, proteomics and metabolomics

Арефьева Н.А., Джиоев Ю.П., Борисенко А.Ю., Чемерилова В.И., Вятчина О.Ф., Секерина О.А., Степаненко Л.А., Маркова Ю.А., Юринова Г.В., Саловарова В.П., Приставка А.А., Кузьминова В.А., Рева О.Н., Злобин В.И. Биоинформационный поиск структур CRISPR/Cas-системы в геноме плазмиды pCT281 штамма *Bacillus thuringiensis subsp. chinensis* CT-43 33

Arefyeva N.A., Dzhioev Yu.P., Borisenko A.Yu., Chemerilova V.I., Vyatchina O.F., Sekerina O.A., Stepanenko L.A., Markova Yu.A., Yurina G.V., Salovarova V.P., Pristavka A.A., Kuzminova V.A., Reva O.N., Zlobin V.I. Bioinformatic Search of CRISPR/Cas System Structures in Genome of pCT281 Plasmid of *Bacillus thuringiensis subsp. chinensis* Strain CT-43

Баирова Т.А., Новикова Е.А., Белялов Ф.И., Щедреева Е.А., Иевлева К.Д., Калюжная О.В., Ершова О.А., Пустозеров В.Г., Ковалева О.А., Распутина И.В., Носкова И.А., Батогова Т.В., Кузнецова О.В., Богослова О.Ю., Колесников С.И. Распространённость полиморфизмов генов цитохромов P450 – метаболитов варфарина – в Восточной Сибири 39

Bairova T.A., Novikova E.A., Belyalov F.I., Shchedreeva E.A., Ievleva K.D., Kalyuzhnaya O.V., Ershova O.A., Pustozerov V.G., Kovaleva O.A., Rasputina I.V., Noskova I.A., Batogova T.V., Kuznetsova O.V., Bogoslova O.Yu., Kolesnikov S.I. Frequencies of Polymorphisms in the Cytochrome's P450 Genes of Warfarin Transformation in a European Population of Eastern Siberia

Борисенко А.Ю., Джиоев Ю.П., Перетолчина Н.П., Степаненко Л.А., Кузьминова В.А., Кокорина Л.А., Землянская Ю.М., Арефьева Н.А., Рева О.Н., Wang Y., Qi Z., Злобин В.И. Биоинформационный поиск и анализ структур CRISPR/Cas-систем в геноме

Borisenko A.Yu., Dzhioev Yu.P., Peretolchina N.P., Stepanenko L.A., Kuzminova V.A., Zemlyanskaya Yu.M., Kokorina L.A., Arefyeva N.A., Reva O.N., Wang Y., Qi Z., Zlobin V.I. Bioinformation Search and Analysis of Structures of CRISPR/Cas Systems in Phage *Staphy-*

| | | | |
|--|----|---|--|
| штамма <i>Staphylococcus aureus</i> и оценка профилей фаговых рас, детектируемых через CRISPR-касsetу бактерий | 49 | <i>lococcus aureus</i> Genome and Estimation of Profiles of Phage Detected through CRISPR-Cassette Bacteria | |
| Перетолчина Н.П., Борисенко А.Ю., Джиоев Ю.П., Злобин В.И. Сравнительный анализ CRISPR-систем штаммов <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> IP32953 и IP31758 | 54 | Peretolchina N.P., Borisenko A.Y., Dzhioev Yu.P. ¹ , Zlobin V.I Comparative Analysis of CRISPR-Cas System Structures of <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> IP32953 and IP31758 | |

Микробиология и вирусология

Microbiology and virology

| | | | |
|---|----|--|--|
| Григорова Е.В., Рычкова Л.В., Иванова Е.И., Немченко У.М., Савелькаева М.В. Детекция генетических детерминант патогенности у штаммов <i>Klebsiella</i> spp., выделенных из кишечного биотопа детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами | 60 | Grigorova E.V., Rychkova L.V., Ivanova E.I., Nemchenko U.M., Savelkaeva M.V. Detection of Genetic Determinants of Pathogenicity of Strains of <i>Klebsiella</i> spp. Isolated from the Intestinal Biotope of Children with Functional Gastrointestinal Disorders | |
|---|----|--|--|

Неврология и нейрохирургия

Neurology and neurosurgery

| | | | |
|---|----|--|--|
| Склярёнок О.В., Животенко А.П., Кошкарёва З.В., Ипполитова Е.Г., Верховина Т.К., Цысляк Е.С. Шейно-плечевой синдром у пациентов с остеохондрозом позвоночника | 66 | Sklyarenko O.V., Zhivotenko A.P., Koshkareva Z.V., Ippolito-va E.G., Verkhovina T.K., Tsyslyak E.S. Cervicobrachial Syndrome in Patients with Spinal Osteochondrosis | |
|---|----|--|--|

Офтальмология

Ophthalmology

| | | | |
|--|----|--|--|
| Валуева И.В., Киргизова О.Ю. Эффективность рефлексотерапии при лечении больных глаукомой | 72 | Valueva I.V., Kirgizova O.Yu. Effect of Acupuncture on the Function of the Visual System in Patients of Glaucoma | |
|--|----|--|--|

Педиатрия

Pediatrics

| | | | |
|--|----|--|--|
| Лихолетова Н.В., Анурьев А.М., Горбачева С.М., Павлова Т.И., Павлов А.Б. Влияние гипоксического поражения головного мозга на выживаемость недоношенных детей | 76 | Likholetova N.V., Anuryev A.M., Gorbacheva S.M., Pavlova T.I., Pavlov A.B. The Effect of Hypoxic Brain Damage on the Survival of Premature Infants | |
| Мартынович Н.Н., Толмачева О.П., Хышова В.А. Особенности клинической картины и оценка эффективности лечения иммунных тромбоцитопений у детей Иркутской области | 82 | Martynovich N.N., Tolmacheva O.P., Khyshova V.A. Causes of Development of Acute and Chronic Thrombocytopenia in Children of Irkutsk Region | |

Травматология

Traumatology

| | | | |
|---|----|---|--|
| Кошкарёва З.В., Негреева М.Б. Маркерные показатели дегенеративно-дистрофических процессов позвоночника, таза и тазобедренных суставов диспластического генеза | 87 | Koshkareva Z.V., Negreeva M.B. Marker Indicators of Degenerative-dystrophic Processes of the Spine, Pelvis and Hip Joints of Dysplastic Genesis | |
|---|----|---|--|

Фармакология и фармация

Pharmacology and pharmacy

| | | | |
|---|----|---|--|
| Ромодановский Д.П., Горячев Д.В., Хохлов А.Л., Мирошников А.Е. Влияние половых различий на фармакокинетику лекарственных средств в рамках изучения биоэквивалентности воспроизведённых лекарственных препаратов | 94 | Romodanovsky D.P., Goryachev D.V., Khokhlov A.L., Miroshnikov A.E. Influence of Sex Differences on Pharmacokinetics of Drugs within the Framework of Bioequivalence Studies of Generic Medicinal Products | |
|---|----|---|--|

| | | | |
|---|-----|---|--|
| <i>Хохлов А.Л., Яичков И.И., Джурко Ю.А., Рыска М., Кубеш В., Шитов Л.Н.</i> Подходы к разработке биоаналитических методик для определения нестабильных соединений в биологических жидкостях | 106 | <i>Khokhlov A.L., Yaichkov I.I., Dzhurko Yu.A., Ryska M., Kubeš V., Shitov L.N.</i> Approaches to the Development of Bioanalytical Methods for Determination of Unstable Substances in Biological Fluids | |
| Хирургия | | Surgery | |
| <i>Vorobev V.A., Beloborodov V.A.</i> Modern Methods of Treating Diseases of the Bulbo-Membranous Part of Urethra | 116 | <i>Воробьев В.А., Белобородов В.А.</i> Современные методы лечения поражений бульбо-мембранозного отдела уретры | |
| Экспериментальные исследования | | Experimental researches | |
| <i>Баженов А.А., Прикоп М.В., Аверина А.С., Суховская В.В., Ухова А.В.</i> Отклик биологических систем на геомагнитные возмущения | 126 | <i>Bazhenov A.A., Prikop M.V., Averina A.S., Sukhovskaya V.V., Ukhova A.V.</i> Response of Biological Systems to Geomagnetic Storms | |
| <i>Дубровина В.И., Витязева С.А., Корытов К.М., Пятидесятникова А.Б., Войткова В.В., Прозорова Г.Ф., Поздняков А.С., Иванова А.А., Балахонов С.В.</i> Функциональное состояние клеток иммунофагоцитарной системы под действием сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном и металлосодержащих нанокompозитов | 132 | <i>Dubrovina V.I., Vityazeva S.A., Korytov K.M., Pyatidesyatnikova A.B., Voytkova V.V., Prozorova G.F., Pozdnyakov A.S., Ivanova A.A., Balakhonov S.V.</i> Action of 1-Vinyl-1,2,4-Triazole Copolymer with N-Vinylpyrrolidone and Metal-Containing Nanocomposites on Functional State of Phagocytic Cells | |
| <i>Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г.</i> Влияние JNK MAPK на репарацию повреждённой скелетной мышцы | 137 | <i>Shurygina I.A., Shurygin M.G.</i> Effect of JNK MAPK on the Repair of Damaged Skeletal Muscle | |
| Эпидемиология | | Epidemiology | |
| <i>Беляева Е.В., Токарская О.А., Белохвостикова Т.С., Баирова Т.А.</i> Частота инфицирования вирусом папилломы человека населения города Иркутска | 141 | <i>Belyaeva E.V., Tokarskaya O.A., Belokhvastikova T.S., Bairova T.A.</i> Frequency of Human Papilloma Virus in Irkutsk Population | |
| <i>Савилов Е.Д., Чemezова Н.Н., Астафьев В.А., Малов И.В., Малов С.И., Гаврилова Т.А., Бурданова Т.М., Владыкина А.В., Чубукин Е.А.</i> Парентеральные вирусные гепатиты в Иркутской области | 148 | <i>Savilov E.D., Chemezova N.N., Astafev V.A., Malov I.V., Malov S.I., Gavrilova T.A., Burdanova T.M., Vladykina A.V., Chubukin E.A.</i> Parenteral Viral Hepatitis in the Irkutsk Region | |
| <i>Хромова П.А., Корнилов М.С., Жданова С.Н., Яковлев А.А., Огарков О.Б.</i> Выявление эпидемических субтипов генотипа Beijing <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , циркулирующих в Приморском крае | 154 | <i>Khromova P.A., Kornilov M.S., Zhdanova S.N., Yakovlev A.A., Ogarkov O.B.</i> The Detection of Epidemic Subtypes of Beijing Genotype of <i>Mycobacterium Tuberculosis</i> Circulated in the Primorsky Krai | |
| Случай из практики | | Case reports | |
| <i>Михайлов И.Н., Пусева М.Э., Бальжинимаев Д.Б.</i> Опыт лечения ложного сустава диафиза лучевой кости, сочетающегося с крупным дефектом диафиза локтевой кости (случай из практики) | 159 | <i>Mikhaylov I.N., Puseva M.E., Balzhinimaev D.B.</i> Experience in the Treatment of the False Joint of the Diaphysis of the Radial Bone Combined with a Major Defect in the Ulnar Diaphysis (Case from Practice) | |
| Краткие сообщения | | Brief reports | |
| <i>Rodríguez I., Noda A.A., Fuentes O., Lienhard R., Gern L.</i> Evidences about Human Tick-Borne Infections in Cuba | 164 | <i>Родригес И., Нода А.А., Фуэнтес О., Линхард Р., Герн Л.</i> Распространённость клещевых инфекций среди населения о. Куба | |

История медицины и юбилей

History of medicine and anniversaries

Л.И. Корытов (к 75-летию со дня рождения)

166 L.I. Kotytov (to the 75th anniversary)

Правила оформления статей в «Acta Biomedica Scientifica»

Rules of publication of articles in «Acta Biomedica Scientifica»
168

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2018-3.5.1

УДК 618.39-079.6

Утробин М.В.^{1, 2}, Юрьев С.Ю.^{1, 2}

Иммунологические и генетические изменения как предикторы потери беременности при формировании ретрохориальной гематомы в первом триместре

¹ ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства» (636035, г. Северск, ул. Мира, 4, Россия)

² ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (634050, г. Томск, Московский тракт, 2, Россия)

Обоснование. Беременность с формированием ретрохориальной гематомы в трети случаев заканчивается невынашиванием. Выявление ранних маркёров потери беременности необходимо для профилактики и терапии невынашивания.

Цель. Разработать и патогенетически обосновать новый диагностический алгоритм при формировании ретрохориальной гематомы в первом триместре беременности.

Материалы и методы. Выполнено проспективное когортное исследование женщин репродуктивного возраста с ретрохориальной гематомой, обратившихся на сроке гестации 6–12 недель. Проведено изучение анамнеза, общеклиническое исследование. Полиморфные варианты генов системы гемостаза (протромбина, ингибитора активатора плазминогена, а также мутация Лейдена) и фолатного цикла (метилентетрагидрофолатредуктазы) исследованы методом полимеразной цепной реакции. Уровень эмбриотропных антител определялся тест-системой «ЭЛИ-П-Комплекс-12». Проведён мониторинг течения беременности и родов. *Результаты.* В исследовании приняли участие 113 женщин, которые были разделены на две группы: основная группа – женщины с прогрессирующей беременностью ($n = 84$); группа сравнения – женщины с прервавшей беременностью ($n = 29$). Не выявлено связи между изолированным носительством полиморфных вариантов генов системы гемостаза, фолатного цикла и повышением риска потери беременности ($p > 0,05$). Полиморфные варианты генов системы гемостаза, фолатного цикла в сочетании с повышением уровня ревматоидного фактора или аутоантител к тироглобулину имеют прямую связь с риском невынашивания ($p < 0,05$).

Заключение. Полиморфные варианты генов системы гемостаза, фолатного цикла в сочетании с повышением уровня ревматоидного фактора или аутоантител к тироглобулину являются предикторами неблагоприятного исхода беременности. Следовательно, определение данных маркёров может быть использовано для индивидуализации обследования, лечения на предгравидарном этапе и в течение беременности.

Ключевые слова: ретрохориальная гематома, выкидыш, аутоантитела, тромбофилия, аутоиммунный тиреоидит

Для цитирования: Утробин М.В., Юрьев С.Ю. Иммунологические и генетические изменения как предикторы потери беременности при формировании ретрохориальной гематомы в первом триместре. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 9-15, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.1.

Immunological and Genetic Changes as Predictors in the Loss of Pregnancy in the Formation of Retrochorial Hematoma in the First Trimester

Utrobin M.V.^{1, 2}, Yuryev S.Yu.^{1, 2}

¹ Siberian Federal Scientific Clinical Center of Federal Medicobiological Agency (ul. Mira 4, Seversk 636035, Russian Federation)

² Siberian State Medical University (Moskovskiy trakt 2, Tomsk 634050, Russian Federation)

Background. Pregnancy with a retrochorial hematoma in a third of cases ends prematurely. Detection of early markers of pregnancy loss is extremely necessary for the prevention and therapy of miscarriage.

Aims. The aim of the study is development and pathogenetically substantiation a new diagnostic algorithm in the formation of retrochorial hematoma in the first trimester of pregnancy. *Materials and methods.* A prospective study of women of reproductive age with retrochorial hematoma applied at the gestational age of 6–12 weeks was performed. A study was made of polymorphic variants of genes of hemostasis system, the folate cycle by polymerase chain reaction. The level of embryotropic antibodies was determined by the ELI-P-Complex-12 system test. The course of pregnancy and delivery was monitored.

Results. The study involved 113 women. There was no correlation between the isolated carrier of polymorphisms and an increased risk of pregnancy loss ($p > 0.05$). Polymorphic variants of genes of hemostasis system, the folate cycle in

combination with an increase in the level of rheumatoid factor or autoantibodies to thyroglobulin have a relationship with the risk of miscarriage ($p < 0.05$).

Conclusion. Polymorphic variants of genes of hemostasis system, the folate cycle in combination with an increase in the level of rheumatoid factor or autoantibodies to thyroglobulin are predictors of an unfavorable outcome of pregnancy. Therefore, the definition of these markers can be used for individualization of the survey, treatment at the precognitive stage and during pregnancy.

Key words: retrochorial hematoma, autoantibodies, miscarriage, thrombophilia, autoimmune thyroiditis

For citation: Utrobin M.V., Yuryev S.Yu. Immunological and genetic changes as predictors in the loss of pregnancy in the formation of retrochorial hematoma in the first trimester. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 9-15, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.1.

Репродуктивные потери определяют не только медицинские проблемы, но и социальные и экономические. В последнюю четверть века на фоне успехов перинатальной медицины по-прежнему остаётся актуальным вопрос невынашивания беременности. Отмечено повышенное внимание врачей акушеров-гинекологов к поиску вариантов ранней диагностики, профилактики [6], лечению [8, 11] и реабилитации состояний, связанных с репродуктивными потерями, особенно на предгравидарном этапе и в ранние сроки беременности [12].

В первом триместре беременности заслуживает особого внимания факт формирования ретрохориальной гематомы (РХГ). До 5,2–29,5 % беременностей с РХГ заканчиваются невынашиванием [15, 16].

Патологическая инвазия хориона сопровождается усилением кровотока в микроциркуляторном русле, повышением концентрации кислорода в межворсинчатом пространстве, что в ранние сроки беременности повреждает хориальное дерево, вызывая развитие РХГ, выкидышей [7].

По данным многих авторов, РХГ может служить предиктором невынашивания в ранние [13, 17] и поздние сроки беременности [14]. В последние годы активно изучаются вопросы влияния изолированных полиморфизмов [4] и других факторов на формирование РХГ [2, 3], развитие невынашивания [9]. Известна важная роль патологии свёртывающей системы крови, аутоиммунных процессов, эндокринопатий, в том числе аутоиммунного тиреоидита (АИТ), в невынашивании беременности. Гипотиреоз встречается среди женщин репродуктивного возраста в 2–4 % случаев, и в большинстве из них речь идёт о гипотиреозе в исходе АИТ. В литературе данные о распространённости АИТ в популяции различаются. Носительство антитиреоидных антител в женской популяции составляет около 26 % [10], в первом триместре гестации антитела к тиреопероксидазе определяют у 15–20 % женщин и предлагают расценивать этот факт как АИТ [1]. Риск спонтанного выкидыша на ранних сроках у женщин с АИТ выше, чем у женщин без аутоиммунной патологии, в 2–4 раза [5]. Несмотря на активное изучение данной проблемы, актуален поиск ранних маркёров и предикторов потери беременности, определены не все механизмы невынашивания, подходы к обследованию и лечению.

Цель исследования: разработать и патогенетически обосновать новый диагностический алгоритм при формировании ретрохориальной гематомы в первом триместре беременности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На базе гинекологического отделения ОГАУЗ «Родильный дом имени Н.А. Семашко» г. Томска выполнено проспективное когортное исследование 113 женщин репродуктивного возраста с ретрохориальной гематомой, обратившихся в сроке гестации 6–12 недель. Пациенты разделены на две группы. Основную группу составили 84 женщины с прогрессирующей беременностью, проведён мониторинг течения беременности до родоразрешения. Группа сравнения представлена 29 женщинами с диагностированной неразвивающейся беременностью на момент обращения в гинекологическое отделение, не получавших сохраняющую терапию.

Критерии включения пациентов в основную группу: 1) срок беременности от 6 до 12 недель по данным ультразвукового исследования; 2) прогрессирующая беременность; 3) наличие ретрохориальной гематомы по данным ультразвукового исследования. **Критерии исключения:** острые и хронические в стадии обострения инфекционные процессы; психические, тяжёлые экстрагенитальные заболевания матери, являющиеся противопоказанием для пролонгирования беременности.

Критерии включения пациентов в группу сравнения: 1) срок беременности от 6 до 12 недель по данным ультразвукового исследования; 2) наличие несостоявшегося выкидыша; 3) наличие ретрохориальной гематомы по данным ультразвукового исследования. **Критерии исключения:** острые и хронические в стадии обострения инфекционные процессы; психические, тяжёлые экстрагенитальные заболевания.

Срок гестации, объём и локализацию ретрохориальной гематомы, особенности строения, сердцебиение эмбриона/плода определяли на ультразвуковых аппаратах «Medison Sonoace X8», «Siemens Sonoline G40», «Philips iu22», работающих в режиме импульсного и цветного доплеровского картирования, с помощью трансвагинального и трансабдоминального трансдьюсеров.

Всем пациентам было проведено обследование, согласно Приказу N 572н от 12.11.2012 г. «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи по профилю «Акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)». Углублённое исследование свёртывающей системы крови включало изучение полиморфных вариантов ключевых генов системы гемостаза методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) – полиморфизма 20210 G->A протромбина

(FII), мутации Лейдена 1691 G->A коагуляционного фактора V (FV), полиморфизма 675 4G/5G (5G->4G) ингибитора активатора плазминогена (PAI-1), термолабильного варианта A222V (677 C->T) метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) (РУ 2010/08413, РУ 2010/08414; ООО «ДНК-Технология», г. Москва). Иммуный статус изучался путём определения уровня отклонений аутоантител класса G от нормы. Согласно тестовым системам, за норму принята референсная зона от -20 до +10. Для исследования уровня эмбриотропных антител использован набор реагентов для полуколичественного определения регуляторных аутоантител в сыворотке крови женщин детородного возраста – тест-система «ЭЛИ-П-Комплекс-12» (РУ № ФСР2009/04550; ООО «Медицинский исследовательский центр «ИММУНКУЛУС», г. Москва).

Пациенты с прогрессирующей беременностью получали препараты прогестерона, выбор препарата определялся рандомизацией методом конвертов. Дидрогестерон назначался энтерально первоначально в дозе 40 мг № 1, в дальнейшем в течение госпитализации – по 10 мг через 8 часов, после выписки индивидуально принималось решение о продолжении (по 10 мг 2 раза в сутки до 20-й недели) или прекращении приёма препарата. Микронизированный прогестерон назначался вагинально по 400 мг в сутки в течение госпитализации, решение вопроса о продолжении приёма препарата после госпитализации принималось индивидуально, курс продлялся максимально до 34 недель гестации. Фолиевую кислоту назначали в суточной дозе 0,4 мг в первые 12 недель беременности, при выявлении мутаций по фолатному циклу суточную дозу увеличивали до 5 мг и продляли курс минимум до раннего послеродового периода. При выявлении гиперкоагуляции и/или наличии мутаций в системе гемостаза рекомендовался курс антикоагулянтов (надропарин кальция 0,3 мл подкожно в течение 10 дней) под контролем свёртывающей системы крови во втором и третьем триместрах при отсутствии кровотечения из половых путей. Пациентам с патологией щитовидной железы проведено ультразвуковое исследование щитовидной железы, исследование ТТГ, свободных Т3, Т4, антител к тиреоглобулину и тиреопероксидазе. Врачом-эндокринологом при верификации диагноза гипотиреоз, аутоиммунный тиреоидит дифференцированно назначался левотироксин натрия (25–75 мкг в сутки).

Участники исследования подписывали информированное согласие. Протокол исследования одобрен этическим комитетом (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск, регистрационный номер № 5703, дата регистрации 11.12.2017, дата проведения заседания 18.12.2017).

Расчёт выборки предварительно проводился по формуле:

$$n = 15,4 \times p \times (1-p) / W^2,$$

где: n – требуемый размер выборки; p – ожидаемая частота результата; W – ширина доверительного интервала.

Первоначально ожидалась частота гипотиреоза, ассоциированного с АИТ, не менее 4 %.

$n = 15,4 \times 0,04 \times (1-0,04) = 59,136$, т.е. размер выборки должен быть не менее 60 человек (известно, что частота АИТ во время беременности может повышаться).

Анализ результатов исследования проводили с использованием статистической программы IBM SPSS Statistics 17.0 (USA). В случае нормального распределения (критерий Колмогорова – Смирнова; $p > 0,05$) данные исследования оценивали при помощи средней арифметической и стандартного квадратичного отклонения ($M \pm S$), минимальной и максимальной величины, для оценки значимости различий двух несвязанных выборок использовали параметрический метод – t -критерий Стьюдента. При распределении показателей, не соответствующих нормальному ($p < 0,05$), для оценки данных исследования пользовались медианой (Me) и 5-м, 95-м процентилями (Q_5-Q_{95}), для оценки значимости различий использовали непараметрический метод – U -критерий Манна – Уитни. Качественные показатели выражали в абсолютных и относительных величинах, статистическую значимость различий рассчитывали с помощью критерия χ^2 Пирсона (при необходимости с поправкой Йейтса, точного критерия Фишера). Для сравнения вероятности исхода в зависимости от наличия фактора риска или его отсутствия рассчитывали относительный риск и 95%-й доверительный интервал (RR; 95% CI). Различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Возраст пациентов составил $30,1 \pm 4,7$ лет, минимум – 19 лет, максимум – 42 года. По возрасту статистически значимые различия между группами отсутствовали ($p = 0,056$). Срок беременности, рассчитанный по дате последней менструации, составил 9,0 (6,0–13,0) недель, между группами статистически значимых различий не выявлено ($p = 0,611$). Срок беременности по данным эхографии составил 8,0 (6,0–12,0) недель, причём у женщин с прервавшейся беременностью был меньше, чем с прогрессирующей на момент выявления РХГ – соответственно, 8,0 (6,0–9,7) и 8,5 (6,0–12,0) недель ($p = 0,001$), что связано с более ранним прекращением развития эмбриона.

Изучение анамнеза пациентов выявило гинекологическую патологию у 52,2 % (59/113) пациентов. Предыдущие беременности у 42,5 % (48/113) женщин заканчивались одним и более выкидышами. Спорадический выкидыш встречался в анамнезе 28,3 % (32/113) пациентов, привычный – у 14,2 % (16/113) (табл. 1).

Гинекологическая патология наблюдалась у женщин с РХГ с высокой частотой, различия между группами не имели статистически значимых различий ($p > 0,05$). Потеря желанных беременностей – также частое осложнение у данной группы пациентов, причём анамнез группы женщин с неразвивающейся беременностью тягостен чаще, чем в группе с прогрессирующей беременностью ($p < 0,05$).

Результаты общеклинических анализов, микроскопического исследования, отделяемого женских половых органов показали, что изучаемые параметры не отличаются при сравнении групп ($p > 0,05$).

Таблица 1
Сравнение частоты акушерско-гинекологической патологии у пациентов с прогрессирующей и неразвивающейся беременностью на фоне РХГ

Table 1
Comparison of the frequency of obstetric-gynecological pathology in patients with prolonged and undeveloped pregnancy against the background of RCH

| Показатель | Основная группа (n = 84) | Группа сравнения (n = 29) | p |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-------|
| Гинекологическая патология | 43 (51,2 %) | 16 (55,2 %) | 0,711 |
| ВЗОМТ | 10 (11,9 %) | 6 (20,7 %) | 0,389 |
| ИППП | 13 (15,5 %) | 5 (17,2 %) | 0,944 |
| Спорадический выкидыш | 19 (22,6 %) | 13 (44,8 %) | 0,023 |
| Привычный выкидыш | 6 (7,1 %) | 10 (34,5 %) | 0,001 |

Полиморфные варианты генов системы гемостаза, фолатного цикла (PAI-1, FII, FV, MTHFR) выявлены у 92,0 % (104/113) наблюдаемых пациентов. Один из изучаемых полиморфизмов имел место у 62,8 % (71/113) женщин, сочетание двух – у 27,4 % (31/113), трёх – у 1,8 % (2/113). Гомозиготная мутация в гене PAI-1 выявлена в 22,1 % (25/113) случаев, гетерозиготная – в 39,8 % (45/113); гомо- и гетерозиготные мутации в гене MTHFR – соответственно, в 15,9 % (18/113) и 36,3 % (41/113) случаев; гомо- и гетерозиготные мутации в гене FV – соответственно, в 1,8 % (2/113) и 2,7 % (3/113) случаев; гомо- и гетерозиготные мутации в гене FII – соответственно, в 2,7 % (3/113) и 1,8 % (2/113) случаев. Носители полиморфизмов чаще встречались в основной группе, чем в группе сравнения (соответственно, в 97,6 % (82/84) и 75,9 % (22/29) случаев; $p = 0,001$). Сравнение групп пациентов не выявило статистически значимых различий по частоте наличия одного, трёх изучаемых полиморфизмов, гомо- и гетерозиготных мутаций полиморфных вариантов ключевых генов системы гемостаза, фолатного цикла ($p > 0,05$). Сочетание двух полиморфизмов и гетерозиготная мутация в гене PAI-1 наблюдались чаще в основной группе, чем в группе сравнения (соответственно, в 33,3 % (28/84) и 10,3 % (3/29) случаев ($p = 0,017$) и в 46,4 % (39/84) и 20,7 % (6/29) случаев ($p = 0,027$)). Таким образом, носительство полиморфных вариантов генов PAI-1, FII, FV, MTHFR встречается у женщин с РХГ крайне часто и, несомненно, оказывает влияние на развитие осложнений беременности. Однако рассмотрение наличия генетически детерминированных

полиморфизмов системы гемостаза изолированно от других факторов не имело прогностической ценности; статистически значимой связи с невынашиванием не выявлено ($p > 0,05$).

Изучение иммунного статуса показало, что уровень отклонения аутоантител к Fc-фрагменту иммуноглобулина (АТ к Fc-Ig) составил 5,00 (0,00–17,60) %, минимум – 0,00 %, максимум – 39,00 %. Показатели АТ к Fc-Ig находились в референсной зоне у 83,2 % (94/113) женщин. Снижение уровня аутоантител выявлено у 1,8 % (2/113), повышение – у 15,0 % (17/113), комбинация повышения уровня АТ к Fc-Ig и изучаемых полиморфизмов системы гемостаза, фолатного цикла – у 10,6 % (12/113) (табл. 2).

В группе с прервавшейся беременностью повышение уровня АТ к Fc-Ig наблюдалось чаще, чем в группе с прогрессирующей ($p < 0,05$).

У 14,2 % (16/113) женщин с РХГ анамнез был отягощён патологией щитовидной железы, у 3,6 % (4/113) – гипотиреозом, у 10,6 % (12/113) – аутоиммунным тиреоидитом (АИТ).

Иммунологическое исследование позволило определить уровень аутоантител к тироглобулину (АТ к тироглобулину) у женщин с РХГ, который составил 10,00 (6,00–55,00) %, минимум – 0,00 %, максимум – 83,00 %. Показатели уровня АТ к тироглобулину находились в референсной зоне у 65,5 % (74/113) женщин. Отклонение уровня АТ к тироглобулину выявлено у 34,5 % (39/113) женщин, все случаи отклонения представлены повышением уровня аутоантител. Комбинация повышения АТ к тироглобулину и

Таблица 2
Сравнение отклонений АТ к Fc-Ig у пациентов с прогрессирующей и неразвивающейся беременностью на фоне РХГ

Table 2
Comparison of abnormalities of AT with Fc-Ig in patients with prolonged and an undeveloped pregnancy in the background of RCH

| Показатель | Основная группа (n = 84) | Группа сравнения (n = 29) | p |
|--|--------------------------|---------------------------|--------|
| Уровень отклонения АТ к Fc-Ig, % | 4,00 (0,00–13,75) | 11,00 (0,00–37,00) | 0,003 |
| АТ к Fc-Ig в референсной зоне, чел./% | 78 (92,9 %) | 16 (55,2 %) | 0,0001 |
| Снижение уровня АТ к Fc-Ig, чел./% | 1 (1,2 %) | 1 (3,4 %) | 0,449 |
| Повышение уровня АТ к Fc-Ig, чел./% | 5 (6,0 %) | 12 (41,4 %) | 0,0001 |
| Комбинация повышения уровня АТ к Fc-Ig и изучаемых полиморфизмов, чел./% | 5 (6,0 %) | 7 (24,1 %) | 0,017 |

Таблица 3
Сравнение отклонений АТ к тироглобулину у пациентов с прогрессирующей и неразвивающейся беременностью на фоне РХГ

Table 3
Comparison of abnormalities of AT with thyroglobulin in patients with prolonged and an undeveloped pregnancy in the background of RCH

| Показатель | Основная группа (n = 84) | Группа сравнения (n = 29) | p |
|--|--------------------------|---------------------------|--------|
| Уровень отклонения АТ к тироглобулину, % | 7,00 (0,00–34,75) | 21,00 (5,50–80,50) | 0,0001 |
| АТ к тироглобулину в референсной зоне, чел./% | 66 (78,6 %) | 8 (27,6 %) | 0,0001 |
| Повышение уровня АТ к тироглобулину, чел./% | 18 (21,4 %) | 21 (72,4 %) | 0,0001 |
| Комбинация повышения уровня АТ к тироглобулину и изучаемых полиморфизмов, чел./% | 18 (21,4 %) | 16 (55,2 %) | 0,001 |

полиморфизмов системы гемостаза, фолатного цикла выявлена у 30,1 % (34/113) женщин (табл. 3).

Сравнение групп пациентов с РХГ также выявило более частое повышение уровня АТ к тироглобулину в группе с прервавшейся беременностью, чем с прогрессирующей ($p < 0,05$).

Полиморфные варианты генов системы гемостаза, фолатного цикла, имеющие высокую частоту у женщин с формированием РХГ, при сочетании с повышением уровня АТ к Fc-Ig и тироглобулину имеют прямую связь с риском невынашивания (соответственно RR = 1,772, 95% ДИ 1,105–2,842, RR = 1,787, 95% ДИ 1,172–2,726).

ОБСУЖДЕНИЕ

Ретрохориальная гематома – маркёр тромбофилии и известный фактор невынашивания беременности. Результаты нашего исследования не выявили связи между наличием мутаций в генах PAI-1, FII, FV, MTHFR у женщин с РХГ и невынашиванием ($p > 0,05$). Вопрос влияния определенных полиморфных вариантов генов системы гемостаза и фолатного цикла (PAI-1, FII, FV, MTHFR) на формирование РХГ и течение беременности остаётся дискуссионным [4]. Следовательно, целесообразен поиск «недостающего» звена в инициации формирования РХГ и потери беременности.

Изучение анамнеза пациентов с формированием РХГ в первом триместре выявило высокую частоту акушерско-гинекологической патологии, связанной с воспалительными заболеваниями органов малого таза. Уровень ревматоидного фактора, известного как маркёр системного воспалительного ответа, был повышен у 15,0 % женщин с РХГ, причём наиболее часто в группе с неразвивающейся беременностью ($p = 0,0001$), что согласуется с имеющимися данными о роли системного воспалительного ответа в невынашивании.

В нашем исследовании анамнез 14,2 % (16/113) женщин был отягощён патологией щитовидной железы (гипотиреоз, АИТ), что соответствует данным других авторов [1]. Скрининг отклонения уровня аутоантител к тироглобулину выявил повышение уровня аутоантител у 34,5 % (39/113) женщин с формированием РХГ. Повышение уровня АТ к тироглобулину в группе с неразвивающейся беременностью наблюдалось чаще, чем с прогрессирующей (соответственно, у 72,4 % (21/29) и 21,4 % (18/84); $p = 0,0001$).

Аутоантитела к тироглобулину и тиреопероксидазе совместно с Т-киллерами оказывают цитотоксическое действие на фолликулярный эпителий, фиксируют С1/С3-фракцию комплемента, приводят к образованию патогенных иммунных комплексов, цитотоксичных для тиреоцитов и клеток плаценты, определяя их деструкцию. Увеличение концентрации антител к ткани щитовидной железы зарегистрировано у женщин с привычным невынашиванием, что особенно чётко прослеживается при гипотиреозе [1, 5]. Таким образом, аутоиммунные процессы щитовидной железы часто встречаются у женщин с РХГ и оказывают негативное влияние на течение беременности.

В данном исследовании мы выявили патогенетические механизмы формирования РХГ и невынашивания беременности. Сочетания полиморфных вариантов генов системы гемостаза, фолатного цикла с повышением уровня ревматоидного фактора, аутоантител к тироглобулину имеют прямую связь с риском невынашивания (соответственно, RR = 1,772, 95% ДИ 1,105–2,842 и RR = 1,787, 95% ДИ 1,172–2,726). У пациентов с ретрохориальной гематомой, диагностированной в первом триместре, аутоиммунные процессы препятствуют инвазии цитотрофобласта и определяют развитие эндотелиопатии в спиральных артериях. Циркулирующие иммунные комплексы вызывают повреждение щёточной каймы, обеспечивающей противосвёртывающие свойства трофобласта, сдерживающей реализацию генетически детерминированной патологии системы гемостаза. На морфологическом и биохимическом уровне эти процессы ранее описывает С.А. Груздев (2013), отмечая, что при формировании РХГ складывается принципиально иное неблагоприятное микроокружение системы «эмбрион – плод-хорион – плацента». Формирование ретрохориальной гематомы обусловлено возрастающим притоком материнской крови к эпителиальному покрову ворсин, изменением структуры и функции щёточной каймы синцитиотрофобласта, что сопровождается снижением, отсутствием или локальной гиперэкспрессией плацентарной щелочной фосфатазы (PLAP). Возникают гемореологические условия для гибели эмбриона [2]. Выявление комплекса взаимодействующих факторов наиболее полно отражает механизм формирования РХГ и невынашивания. Сочетание иммунологических и генетических изменений является предиктором потери беременности при формировании РХГ в первом триместре.

Полученные в результате дообследования данные позволили индивидуализировать и обосновать назначение препаратов гормона щитовидной железы, фолатов, низкомолекулярных гепаринов, гестагенов у пациентов с ретрохориальной гематомой. В результате нашего исследования становится очевидной роль гестагенов в пролонгировании беременности у женщин с РХГ в первом триместре. Эффект гестагенов определен иммуномодулирующим действием через активацию синтеза лимфоцитами прогестерон-индуцированного блокирующего фактора (ПИБФ). ПИБФ предотвращает вторичные воспалительные и тромботические реакции на трофобласте [12]. Применение экзогенного прогестерона снижает резистентность сосудов у женщин с идиопатическим привычным невынашиванием, улучшает кровоток в эндометрии, в том числе во время гестации (плацентарный кровоток, трансформацию спиральных артерий) [3, 11].

Дифференцированный подход к обследованию и лечению пациентов основной группы позволил в 79,8 % (67/84) случаев завершить беременность срочными родами, тем не менее, 4,7 % (4/84) беременностей прервались в сроке 10–14 недель, преждевременные роды произошли у 15,5 % (13/84) женщин.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Женщины с формированием РХГ в первом триместре имеют высокий процент репродуктивных потерь в разные сроки гестации, связанный с влиянием комплекса активно взаимодействующих факторов. Учитывая мультидисциплинарность проблемы, продолжается поиск предикторов невынашивания на уровне генома, протеома, метоболома. Выявление комбинации мутаций в генах PAI-1, FV, FII, MTHFR с повышением уровня ревматоидного фактора или аутоантител к тироглобулину является предиктором неблагоприятного исхода беременности. Определение данных маркеров может быть использовано для персонализации обследования, лечения на предгравидарном этапе у женщин с отягощённым акушерско-гинекологическим анамнезом и в течение беременности.

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Акушерство: национальное руководство / Под ред. Э.К. Айламазяна. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 1200 с.
2. Айламазян Э.К. (ed.). (2014). Obstetrics: National guidelines [Akusherstvo: natsional'noe rukovodstvo]. Moskva, 1200 p.
3. Груздев С.А., Милованов А.П., Калашников А.С., Хайруллин Р.М. О роли отдельных продуцентов ворсин плаценты в патогенезе ретрохориальной гематомы при неразвивающейся беременности // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 7-1. – С. 61–66.
4. Груздев С.А., Милованов А.П., Калашников А.С., Хайруллин Р.М. (2013). On the significance of some placental villi producers in the pathogenesis of the subchorionic hematoma at non-developing pregnancy [O roli otdel'nykh pro-

ducers in the pathogenesis of retrochorial'noy gematomy pri nerazvivayushcheysya beremennosti]. *Fundamental'nye issledovaniya*, (7-1), 61-66.

3. Доброхотова Ю.Э., Зубарев А.Р., Залеская С.А., Зубарева Е.А., Сапрыкина Л.В., Демидова А.К. Оценка формирующегося маточно-плацентарного кровотока у пациенток с угрозой прерывания на фоне дефицита прогестерона в I триместре беременности // Акушерство и гинекология. – 2016. – № 6. – С. 54–60.

Dobrokhotova YuE, Zubarev AR, Zalesskaya SA, Zubareva EA, Saprykina LV, Demidova AK. (2016). Assessment of forming utero-placental circulation in patients with threatened miscarriage at progesterone deficiency in the first trimester of pregnancy [Otsenka formiruyushchegosya matochno-platsentarnogo krovotoka u patsientok s ugrozoy preryvaniya na fone defitsita progesterona v I trimestre beremennosti]. *Akusherstvo i ginekologiya*, (6), 54-60. DOI: 10.18565/aig.2016.6.54-60

4. Кузнецова Н.Б., Буштырева И.О., Донников А.Е., Машкина Е.В., Дыбова В.С. Роль полиморфизма генов системы гемостаза и ферментов фолатного цикла в формировании subchorionic hematoma // Акушерство и гинекология. – 2017. – № 3. – С. 62–67.

Kuznetsova NB, Bushtyрева IO, Donnikov AE, Mashkina EV, Dybova VS. (2017). The role of gene polymorphisms of the hemostatic system and folate cycle enzymes in the development of retrochorial hematoma [Rol' polimorfizma genov sistemy gemostaza i fermentov folatnogo tsikla v formirovanii retrochorial'noy gematomy]. *Akusherstvo i ginekologiya*, (3), 62-67. DOI: 10.18565/aig.2017.3.62-7

5. Леваненко А.А. Аутоиммунный тиреодит и репродуктивная система женщины // Молодой ученый. – 2018. – № 13. – С. 77–78.

Levanenko AA. (2018). Autoimmune thyroiditis and woman's reproductive system [Autoimmunnyy tireoidit i reproduktivnaya sistema zhenshchiny]. *Molodoy uchenyy*, (13), 77-78.

6. Липатов И.С., Тезиков Ю.В., Тютюнник В.Л., Кан Н.Е., Протасов А.Д., Мартынова Н.В., Жернакова Е.В., Букреева А.А. Профилактика потерь беременности ранних сроков // Акушерство и гинекология. – 2017. – № 1. – С. 24–32.

Lipatov IS, Tezikov YV, Tyutyunnik VL, Kan NE, Protasov AD, Martynova NV, Zhernakova EV, Bukreeva AA. (2017). Prevention of pregnancy losses at early stages [Profilaktika poter' beremennosti rannikh srokov]. *Akusherstvo i ginekologiya*, (1), 24-32. DOI: 10.18565/aig.2017.1.24-32

7. Милованов А.П., Ожиганова И.Н. Эмбриохориальная недостаточность: анатомофизиологические предпосылки, обоснование, дефиниции и патогенетические механизмы // Архив патологии. – 2014. – Т. 76, № 3. – С. 4–8.

Milovanov AP, Ozhiganova IN. (2014). Embryochorial insufficiency: anatomic and physiologic background, grounding, definitions and pathogenetic mechanisms [Embriokhoriyal'naya nedostatochnost': anatomofiziologicheskie predposylki, obosnovanie, definititsii i patogeneticheskie mekhanizmy]. *Arkhiv patologii*, 76 (3), 4-8.

8. Радзинский В.Е., Ордянец И.М., Побединская О.С., Зыков Е.В. Прогестерон и репродуктивные потери // *Акушерство и гинекология*. – 2017. – № 8. – С. 109–114.

Radzinsky VE, Ordiyants IM, Pobedinskaya OS, Zykov EV. (2017). Progesterone and reproductive losses [Progesteron i reproduktivnye poteri]. *Akusherstvo i ginekologiya*, (8), 109-114. DOI: 10.18565/aig.2017.8.109-14

9. Соловова Л.Д., Линева О.И., Артюх Ю.А., Казакова А.В., Бердникова И.А. Ретрохориальная гематома: принципы комплексной терапии // *Журнал акушерства и женских болезней*. – 2012. – Т. 16, № 4. – С. 104–108.

Solovova LD, Lineva OI, Artyukh YuA, Kazakova AV, Berdnikova IA. (2012). Subchorionic hematoma: principles of complex therapy [Retrokhorial'naya gematoma: printsipy kompleksnoy terapii]. *Zhurnal akusherstva i zhenskih boleznej*, 61 (4), 104-108. DOI: 10.17816/jowd614104-108

10. Хегай О.А. Особенности гипофизарно-яичниковой системы при аутоиммунном тиреоидите у пациенток с нарушением репродуктивной функции // *Молодой ученый*. – 2014. – № 18. – С. 175–178.

Khegay OA. (2014). Features of the pituitary-ovarian system at autoimmune thyroiditis in patients with reproductive failure [Osobennosti gipofizarno-yaichnikovoy sistemy pri autoimmunom tireoide u patsientok s narusheniem reproduktivnoy funktsii]. *Molodoy uchenyy*, (18), 175-178.

11. Carp H. (2015). A systematic review of dydrogesterone for the treatment of recurrent mis-

carriage. *Gynecol Endocrinol*, 31 (6), 422-430. DOI: 10.3109/09513590.2015.1006618

12. Hudić I, Stray-Pedersen B, Szekeres-Bartho J, Fatušić Z, Dizdarević-Hudić L, Tomić V, Polgar B, Hadžiefendić B, Fatušić J. (2015). Maternal serum progesterone-induced blocking factor (PIBF) in the prediction of preterm birth. *J Reprod Immunol*, 109, 36-40. DOI: 10.1016/j.jri.2015.02.006

13. Janowicz-Grelewska A, Sieroszewski P. (2013). Prognostic significance of subchorionic hematoma for the course of pregnancy. *Ginekol Pol.*, 84 (11), 944-949. DOI: 10.17772/gp/1664

14. Palatnik A, Grobman WA. (2015). The relationship between first-trimester subchorionic hematoma, cervical length, and preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*, 213 (3): 403.e1-4. DOI: 10.1016/j.ajog.2015.05.019

15. Soldo V, Cutura N, Zamurovic M. (2013). Threatened miscarriage in the first trimester and retrochorial hematomas: sonographic evaluation and significance. *Clin Exp Obstet Gynecol*, 40 (4), 548-550.

16. Şükür YE, Göç G, Köse O, Açmaz G, Özmen B, Atabekoğlu CS, Koç A, Söylemez F. (2014). The effects of subchorionic hematoma on pregnancy outcome in patients with threatened abortion. *J Turk Ger Gynecol Assoc.*, 15 (4), 239-42. DOI: 10.5152/jtgga.2014.14170

17. Tuuli MG, Norman SM, Odibo AO, Macones GA, Cahill AG. (2011). Perinatal outcomes in women with subchorionic hematoma: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol*, 117 (5), 1205-1212. DOI: 10.1097/AOG.0b013e31821568de

Сведения об авторах Information about the authors

Утробин Максим Владимирович – заведующий отделением медицинской реабилитации пациентов с гинекологическими и урологическими заболеваниями, Томский НИИ курортологии и физиотерапии, ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства»; соискатель кафедры акушерства и гинекологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (636035, г. Северск, ул. Мира, 4; e-mail: umv71@sibmail.com) ● <https://orcid.org/0000-0002-8418-470>

Utrobina Maksim Vladimirovich – Head of the Department of Medical Rehabilitation of Patients with Gynecological and Urological Disorders, Tomsk Research Institute of Balneology and Physiotherapy, Siberian Federal Scientific Clinical Center of Federal Medicobiological Agency; Doctoral Candidate at the Department of Obstetrics and Gynecology, Siberian State Medical University (636035, Seversk, ul. Mira, 4; e-mail: umv71@sibmail.com) ● <https://orcid.org/0000-0002-8418-470>

Юрьев Сергей Юрьевич – доктор медицинских наук, начальник Перинатального центра, Северская клиническая больница, ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр Федерального медико-биологического агентства», профессор кафедры акушерства и гинекологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; e-mail: sergeiyuriev@gmail.com) ● <https://orcid.org/0000-0002-1343-5471>

Yuryev Sergei Yurievich – Doctor of Medical Sciences, Head of the Perinatal Center, Seversk Clinical Hospital, Siberian Federal Scientific Clinical Center of Federal Medicobiological Agency; Professor at the Department of Obstetrics and Gynecology, Siberian State Medical University; e-mail: sergeiyuriev@gmail.com ● <https://orcid.org/0000-0002-1343-5471>

БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ BIOLOGY AND MEDICAL BIOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2018-3.5.2

УДК 616.8-009.836:618.173:612-018.2

Semenova N.V., Madaeva I.M., Kolesnikova L.I.

Insomnia and Circadian Rhythms of Melatonin in Menopausal Women *

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

The aim of the review is to analyze literature data about sleep homeostasis and the role of the one of circadian system key elements – melatonin – in the regulation of the sleep-wake cycle in women in menopause. It was shown that the prevalence and structure of sleep disorders depends on the menopausal phase. It was revealed that the melatonin content in the body, determined in various biological media (blood, saliva, urine), depends on age, sex, race, and chronotype. It was shown that morning melatonin can be used as a biological marker for determining the chronotype. Most studies indicated a decrease in melatonin level with aging. Moreover, women have lower melatonin level than men. In case of insomnia, lower melatonin level was found, although the results of the studies are ambiguous. The shift in the peak of hormone secretion in the early morning hours was described in menopausal women. Also, the dependence of melatonin circadian rhythm on the menopausal phase was revealed, which determines different approaches to insomnia therapy. We revealed the association of melatonin secretion circadian rhythms with Clock 3111T/C gene polymorphism in Caucasian patients with insomnia, which allows considering 3111T allele as risky in the formation of melatonin circadian rhythm disturbances in these patients.

Key words: circadian rhythms, melatonin, menopause, insomnia

For citation: Semenova N.V., Madaeva I.M., Kolesnikova L.I. Insomnia and circadian rhythms of melatonin in menopausal women. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 16-21, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.2.

Инсомния и циркадные ритмы мелатонина у женщин в менопаузе

Семёнова Н.В., Мадаева И.М., Колесникова Л.И.

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

Обзор литературы посвящён анализу полученных к настоящему времени данных относительно гомеостаза сна и роли гормона мелатонина, являющегося одним из ключевых элементов циркадной системы организма, в регуляции цикла «сон-бодрствование» у женщин в менопаузе. Содержание мелатонина определяют в различных биологических средах, таких как моча, кровь, слюна, и исследованиями последних лет показана зависимость уровня данного гормона от пола, возраста, хронотипа, а также расовой принадлежности. Так, более низкий уровень мелатонина отмечен у женщин, представительниц азиатской расы, с возрастом. Более того, мелатонин в 9.00 ч. может быть использован в качестве биологического маркера определения хронотипа человека. Результаты исследований хронобиологических ритмов мелатонина у женщин в менопаузе неоднозначны, однако большинство результатов свидетельствуют о более низком содержании гормона при нарушениях сна. При этом выявлен факт смещения пиков секреции мелатонина, ассоциированного с наличием инсомнических расстройств в перименопаузе и отсутствием данной взаимосвязи в постменопаузе, на ранние утренние часы. Показано, что данная зависимость определяется носительством мажорного аллеля полиморфного варианта гена Clock только у представительниц европеоидной расы.

Ключевые слова: циркадные ритмы, мелатонин, менопауза, инсомния

Для цитирования: Семёнова Н.В., Мадаева И.М., Колесникова Л.И. Инсомния и циркадные ритмы мелатонина у женщин в менопаузе. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 16-21, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.2.

Sleep is a periodically occurring, natural physiological condition characterized by cyclicality, a significant restriction of motor activity, a decrease in muscle tone and in response to stimuli. People spend about a third of their life sleeping, and the wholesomeness of sleep determines the overall level of health and quality of life measured in terms of social, mental, emotional and physical well-

being. At present, sleep is considered as an active state, a complex functional and chronobiological process. Normally, sleep includes a succession of four stages of non-rapid eye movement sleep (NREM) and a phase of rapid eye movement sleep (REM), which is a complete cycle repeated 4–6 times during the entire period of night sleep. The cycle time in a healthy people is relatively stable

* Статья опубликована на основании доклада на III Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, октябрь, 2018).

and equals to 90–100 minutes. The function of non-rapid eye movement sleep is to restore brain homeostasis and to optimize control of internal organs, and the main function of REM-sleep is that of mental adaptation [11].

MENOPAUSE AS A RISK FACTOR OF SLEEP DISORDERS

Menopause is a biopsychosocial process of transition from the reproductive phase to its full decline. During this period women experience physiological changes under the influence of various ethnic, psychological, social and cultural factors. Signs of menopause are depletion of the ovarian follicular apparatus, a decrease in its functional activity, changes in the relations between hormone levels, a decrease of the estrogen level, and anovulation [20].

Given the hormonal and metabolic changes in women during and after menopause, the incidence of sleep problems in this age group increases in comparison with the reproductive phase and is 16–42 % in perimenopausal and 35–60 % in postmenopausal women [50]. A number of studies have shown that perimenopausal women are more likely to complain about sleep disorders than postmenopausal ones [5]. The oxidative stress formed during postmenopause plays a significant role in the formation of insomnia in postmenopausal women [38]. Despite the fact that postmenopause creates independent risks for the development of sleep disorders compared with perimenopause [18], studies on Asian [12] and Hispanic [7] women have not revealed any differences in the frequency characteristics of sleep disorders depending on the climacteric phase. The work of G.W. Pien et al. (2008) which included Caucasian and African American women have shown a greater risk of developing sleep disorders in perimenopausal women [36]. The various results obtained may be due to ethnicity – thus, Asian women have a lesser manifestation of vasomotor symptoms compared with Caucasians [16].

One of the most common sleep disorders in menopausal women is insomnia [2]. The incidence of insomnia in the population is 9–15 %, and this pathology is more often detected in women. Moreover, gender differences in the frequency of sleep disorders are becoming increasingly important with age [26].

The basic model of insomnia pathogenesis considers three groups of factors influencing the development of this pathology – predisposing, provoking and supportive. The predisposing factors include:

- biological factors reflecting the hyperactivity of stress body systems (decrease in activity of inhibitory neurotransmitter systems, desynchronization of EEG rhythms with an increase in the beta spectrum activity and a decrease in the activity of delta and gamma waves, increased tone of the sympathetic nervous system, changes in the hormone secretion profile, increased metabolism during the day, increased heart rate with a decrease in heart rate variability);
- psychological factors (increased anxiety, emotionality, hypochondria);
- social factors (shift and night work, frequent change of time zones, low socioeconomic status, family history);
- behavioral factors (lack of sleep hygiene, alcohol, smoking, low physical activity level).

A provoking factor in the development of insomnia can be any stressful event, accompanied by emotional hyperactivation. In the presence of predisposing factors or of high intensity or duration of stress, supporting factors manifest themselves as somatic and cortical hyperactivation (predominance of the tone of the sympathetic nervous system, imbalance of inhibitory and activating systems of the brain) [42].

At the onset of menopause, hormonal and metabolic changes stressful for women are the causes of insomnia. According to B. Phillips et al. (2005), the main symptom of insomnia in postmenopausal women (physiological or surgical) is difficulty falling asleep [35], while the results of another study have indicated a greater frequency of night awakenings in postmenopause with no difference in relation to the difficulty of falling asleep and to morning and afternoon fatigue between the climacteric phases [24]. The results of L. Kolesnikova et al. (2017) have shown that perimenopausal women have more frequency of the difficulty falling asleep and postmenopausal ones have more the number of nocturnal awakenings [32]. Various works were devoted to the role of vasomotor symptoms in menopausal women in the pathogenesis of insomnia [24, 46]. The presence of vasomotor symptoms in postmenopause makes the risk of night awakenings 1.85 times higher [46]. A correlation has been found between the frequency of night hot flashes and the number of awakenings [48]. In postmenopause, even a slight frequency of night sweats occurrence leads to awakenings, while in perimenopause only frequent bouts of night sweats are associated with these disorders [24]. According to polysomnographic monitoring in women with different menopausal status and pronounced vasomotor reactions, a decrease in sleep efficiency, a change in its 'architecture' and a longer waking time during the night are revealed, although not all the studies confirm this [15]. Violation of the sleep-wake cycle is part of a general disturbance in the vegetative balance regulation and sleep organization in menopausal women. This is confirmed, on the one hand, by the studies showing the association of poor sleep quality with a decrease in estradiol levels and an increase in luteinizing hormone levels in menopausal women [31], and, on the other hand, by clinical studies confirming the positive effect of hormone replacement therapy on the process of maintaining sleep, its duration and efficiency [23].

Another significant factor in the development of insomnia in menopausal women is depressive disorders in the pathogenesis of which a key role belongs to the disruption of the serotonergic brain systems (lack of serotonin in the brain and in receptor sites, the inability of serotonin to reach receptor sites, and a decreased level of tryptophan) [41]. A greater predisposition to depression in women is due to a lower serotonin content in the brain, a decrease in the functional activity of serotonin 5-HT₂ receptors in the frontal, parietal, temporal and cingulate cortices [37]. Deficiency of female sex hormones at the onset of menopause has a major role in the pathogenesis of depression in connection with their neuroprotective role, their effect on synthesis and metabolism of all monoamines, mostly of serotonin, and their participation in the development of many brain functions [28]. In postmenopausal women, depression is associated not only with difficulties of falling

asleep and early morning awakenings [46], but also with night awakenings [48].

The consequences of insomnia can be both social (increased risk of road accidents, decreased productivity), and medical. Insomnia increases the risk of further development of mental disorders, alcoholism and drug dependence. At present, data have shown that insomnia also is interlinked with obesity, cardiovascular diseases, oncology, bronchial asthma, impaired carbohydrate metabolism, pain and mortality [8].

MELATONIN IS THE ONE OF THE KEY ELEMENTS OF THE SLEEP-WAKE CYCLE

A large array of physiological and metabolic processes in the body, such as temperature, sleep-wake cycle, glucose level, cortisol production, blood pressure, heart rate, oxidative stress are controlled by a circadian system consisting of central clocks located in the suprachiasmatic nuclei of the hypothalamus (SCN) and a number of peripheral oscillators such as the liver, lungs, adrenal glands, fibroblasts and other tissues that are synchronized daily with the help of nervous or humoral signals. When the work of the biological clock is disrupted, either the connections between local oscillators in different tissues or between the central oscillator and the rest of the body are torn, which underlies the further malfunction of neuroendocrine rhythms and behavior. At present, it is known that any changes in the circadian system increase the risk of developing pathological conditions such as sleep disorders, affective disorders, diabetes, oncology, obesity, cardiovascular diseases, and reproductive disorders [14].

The one of the key elements of the circadian mechanism is the hormone melatonin produced by the pineal gland [45]. However, in the literature there are substantial data on the study of melatonin after pinealectomy in patients of reproductive age, when the hormone level in the evening decreased, yet the sleep-wake cycle persisted [40]. It was established that the pineal gland is not the only organ capable of synthesizing melatonin. Cells producing this hormone have been found in the retina, gastrointestinal tract, bone marrow, respiratory tract, adrenal gland, thyroid gland, thymus, cerebellum, genitourinary system, placenta, etc. In addition, mast cells, natural killer cells, eosinophilic leukocytes, platelets and endotheliocytes were also proved to synthesize melatonin [1].

The rhythm of melatonin secretion has a clearly expressed circadian character. In healthy people the melatonin level begins to rise in the evening, coinciding with a decrease in illuminance and reaching a maximum in the middle of the night (02.00–03.00 h), progressively decreasing by morning [4]. In this case, the pineal gland acts as a universal mediator of the light information passing through the SCN neurons through the thoracic spine and the sympathetic neurons of the superior cervical ganglion. The synthesis of melatonin is carried out from tryptophan which enters the pinealocytes from the vascular bed and through 5-hydroxytryptophan is converted into serotonin. During the dark phase of the day, the electrical signals coming from the SCN cause an increase in the synthesis and release of norepinephrine from the sympathetic nerve endings, which in turn activates in pinealocytes the arylalkylamine-N-acetyltransferase and

hydroxyindole-O-methyltransferase – the ferments taking part in the conversion of melatonin from serotonin [21].

In many studies, a decrease in the night peak of melatonin concentration with age was noted, which is a consequence of functional changes in the pineal gland and other links of the circadian system of the body during physiological aging [33, 44]. When searching for gender differences in the melatonin level in people aged 60 years and older, a lower melatonin level in women is revealed [32], although in the reproductive age the opposite results were noted [10]. The age-related decrease in melatonin secretion in the female body signals a disorder of the pineal and pituitary control over the ovarian cycle and the progressive decline of the fertile function [43]. E. Toffol et al. (2014) in their study of melatonin effect on mood, sleep, vasomotor symptoms and quality of life in women depending on the menopausal phase have shown that postmenopausal women have lower melatonin concentrations in the serum at night than perimenopausal women. The duration of melatonin secretion was shorter in postmenopausal women, whereas the peak time does not differ [44]. The results of another study showed that the night secretion of melatonin in women aged 17 to 45 years decreased gradually and had a sharp rise at 46 to 50 years. In postmenopause, a sharp, age-related decrease in night melatonin secretion was detected within 15 years after the onset of menopause [33]. E. Waleca-Kapic et al. (2015) not only have confirmed a decrease in urine 6-sulfatoxymelatonin in postmenopausal women, but also have found a negative correlation between its excretion and body mass index, which confirms the melatonin effect on metabolism [47].

Data on the racial differences in the melatonin content are of interest. Studies in this area are few and the results have indicated lower hormone levels in the Asian representatives compared with Caucasians, which can be due to both ethnic characteristics and a darker eye pigment [22].

To date, data have been obtained confirming the relationship between the melatonin level and the sleep-wake cycle. Thus, a number of studies revealed that evening sleepiness and the onset of sleep usually occurs 2 hours after the onset of the endogenous melatonin formation [6]. According to several authors, the role of melatonin is rather to open the so-called 'sleep gate', to create a 'predisposition to sleep', to inhibit the mechanisms of wakefulness than to directly impact the somnogenic structures. The opening of the 'sleep gate' is preceded by a period of increased human activation – the 'forbidden period' for sleep, sharply replaced by the 'opening of the gate'. There is some evidence in favor of the assumption that this 'forbidden period' of sleep is the peak of the daily wake cycle, since it is combined with the daily peak of body temperature. The beginning of the nightly increase in melatonin secretion usually occurs in the middle of the 'forbidden period', and when a certain concentration in the blood corresponding to about half of the maximum nighttime level occurs, the 'sleep pressure' sharply increases, facilitating the transition from wakefulness to sleep [25].

There are several scientific works comparing the melatonin level at certain times between representatives of different chronotypes. Thus, the study by M. Gibertini et al. (1999) where blood was sampled every hour from

00.00 until 07.00 showed no differences in the content of this hormone [17]. A.L. Morera-Fumero et al. (2013) in their study comparing serum melatonin level at three time points (9.00, 12.00 and 00.00) depending on the chronotype revealed a significant increase in the hormone level by almost 2 times in representatives of the 'night owl' chronotype at 9.00; in connection with this the researchers have suggested considering morning melatonin as a biological marker for determining the human chronotype [30]. The results of study by H.J. Burgess et al. (2008) demonstrated that the earlier the subject wakes up, the earlier melatonin secretion begins [9]. When studying the circadian rhythm of melatonin in patients with delayed sleep phase syndrome (a disorder of diurnal rhythms where the onset of a normal sleep pattern is delayed by 2 or more hours compared to most people and is characteristic of the 'night owl' chronotype), the shift in the hormone secretion peak was by 3–5 hours compared to the control group [29].

Studies carried out to date have shown that people with insomnia have a lower melatonin level [49]; moreover, the peak of the hormone secretion is shifted, which was demonstrated in the work on the association of melatonin, menopausal depression and sleep time. A delay in the peak of hormone secretion before morning was revealed in women with menopausal depression, which, according to researchers, may be caused by longer sleep duration as a compensation for insomnia in these women [34]. Similar results were obtained in another study where the shift in the peak of melatonin secretion in the early morning hours in women with sleep disorders in perimenopause was shown. In postmenopause, the morning peak of melatonin was also noted, regardless of the presence of sleep disorders [27]. The present study further revealed the association of melatonin secretion circadian rhythms with Clock 3111T/C gene polymorphism in Caucasian patients with insomnia, consisting of an increased hormone level in early morning hours in carriers of the TT-genotype, which allows considering 3111T allele as risky in the formation of melatonin circadian rhythm disturbances in these patients. Moreover, differences in the circadian rhythms of melatonin in the Asian women with insomnia, depending on the genotype of the Clock 3111T/C polymorphism, were not found [39].

The undoubted influence of the hormone on the sleep-wake cycle was also confirmed by current clinical experiments demonstrating the effectiveness of the use of exogenous melatonin in the treatment of sleep disorders in different groups of patients [6]. Exogenous melatonin acts similarly to endogenous, affecting the MT1 and MT2 receptors located in the SCN, hypothalamus, hippocampus, cerebral cortex, cerebellum, retina and other tissues. The interaction of melatonin with these types of receptors leads to the activation of various cell signaling systems, to the synthesis of secondary messenger - cyclic adenosine monophosphate and to a change in the concentration of calcium ions. By binding to cytosolic calmodulin, the hormone can directly affect calcium signals by interacting with enzymes such as adenylate cyclase and phosphodiesterase, as well as with structural proteins [3]. Experimental studies showed that blocking the MT1 receptor in mice increases the length NREM, while

blocking the MT2 receptor reduces it, i.e., in the process of sleep the receptors perform the opposite roles [13].

CONCLUSION

Given the multiple biological functions of melatonin (biorhythmological, immunomodulating, antioxidant, antistress, thermoregulation, sleep induction, sexual development regulation), the disruption of its production, both quantitatively and rhythmically, can be the trigger mechanism for desynchronization at the initial stages and then to the onset of organic pathology [19]. Considering the menopausal syndrome as disadaptation of the female organism under conditions that require an increased activity of the adaptive system, the study of the melatonin role as an adaptogen of the female reproductive system is now extremely important. Moreover, given the high prevalence of insomnia among menopausal women, the consequences of these disorders, as well as the relationship of this pathology with obesity, disorders of carbohydrate metabolism, cardiovascular diseases, etc., studying one of the main sleep-wake cycle regulators will allow identifying personalized approaches to developing methods for correcting sleep disorders, which will significantly improve the patients' quality of life. Taking into account the ambiguity of the results presented in the literature sources on this issue, as well as the dependence of melatonin level on factors such as sex and ethnicity, studies on the genetic aspects of the circadian system are, indeed, highly promising.

Declaration of interest statement

The authors report no conflicts of interest.

REFERENCES

1. Acuña-Castroviejo D, Escames G, Venegas C, Díaz-Casado ME, Lima-Cabello E, López LC, Rosales-Corral S, Tan DX, Reiter RJ. (2014) Extrapineal melatonin: sources, regulation, and potential functions. *Cell Mol Life Sci*, 71 (16), 2997-3025. DOI: 10.1007/s00018-014-1579-2
2. Ameratunga D, Goldinand J, Hickey M. (2012) Sleep disturbance in menopause. *Int Med J*, 42 (7), 742-747. DOI: 10.1111/j.1445-5994.2012.02723.x
3. Anisimov VN, Popovich IG, Zabezhinski MA, Anisimov SV, Vesnushkin GM, Vinogradova IA. (2006). Melatonin as antioxidant, geroprotector and anticarcinogen. *BBA Bioenergetics*, 1757 (5-6), 573-589.
4. Arendt J. (2009). The pineal gland and pineal tumours. Human melatonin production. Available at: <http://www.endotext.org>.
5. Baker A, Simpson S, Dawson D. (1997). Sleep disruption and mood changes associated with menopause. *J Psychosom Res*, 43 (4), 359-369.
6. Bartlett DJ, Biggs SN, Armstrong SM. (2013) Circadian rhythm disorders among adolescents: assessment and treatment options. *Med J Aust*, 199 (8), S16-S20.
7. Blumel JE, Cano A, Mezones-Holguin E, Barón G, Bencosme A, Benítez Z. (2012). A multinational study of sleep disorders during female mid-life. *Maturitas*, 72 (4), 359-366.
8. Bonnet MH, Burton GG, Arand DL. (2014) Physiological and medical findings in insomnia: Implications for diagnosis and care. *Sleep Med Rev*, 18 (2), 111-122. DOI: 10.1016/j.smrv.2013.02.003.

9. Burgess HJ, Fogg LF. (2008). Individual differences in the amount and timing of salivary melatonin secretion. *PLoS One*, 3 (8), e3055. DOI: 10.1371/journal.pone.0003055
10. Cain SW., Dennison CF, Zeitzer JM, Guzik AM, Khalsa SB, Santhi N, Schoen MW, Czeisler CA, Duffy JF. (2010). Sex differences in phase angle of entrainment and melatonin amplitude in humans. *J Biol Rhythms*, 25 (4), 288-296. DOI: 10.1177/0748730410374943
11. Caverzasio S, Amato N, Manconi M, Prosperetti C, Kaelin-Lang A, Hutchison WD, Galati S. (2017). Brain plasticity and sleep: Implication for movement disorders. *Neurosci Biobehav Rev*, 86, 21-35. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2017.12.009
12. Cheng MH, Hsu CY, Wang SJ, Lee SJ, Wang PH, Fuh JL. (2008) The relationship of self-reported sleep disturbance, mood, and menopause in a community study. *Menopause*, 15 (5), 958-962. DOI: 10.1097/gme.0b013e318160dafa
13. Comai S, Ochoa-Sanchez R, Gobbi G. (2013) Sleep-wake characterization of double MT(1)/MT(2) receptor knockout mice and comparison with MT(1) and MT(2) receptor knockout mice. *Behav Brain Res*, 243, 231-238. DOI: 10.1016/j.bbr.2013.01.008
14. Eckel-Mahan K, Sassone-Corsi P. (2013). Metabolism and the circadian clock converge. *Physiol Rev*, 93 (1), 107-135.
15. Freedman R, Roehrs T. (2004). Lack of sleep disturbance from menopausal hot flashes. *Fertil Steril*, 82 (1), 138-144.
16. Fu SY, Anderson DJ, Courtney M. (2003). Cross-cultural menopausal experience: comparison of Australian and Taiwanese women. *Nurs Health Sci*, 5 (1), 77-84.
17. Gibertini M, Graham C, Cook MR. (1999) Self-report of circadian type reflects the phase of the melatonin rhythm. *Biol Psychol*, 50 (1), 19-33.
18. Gomez-Santos C, Saura CB, Lucas JA, Castell P, Madrid JA, Garaulet M. (2016). Menopause status is associated with circadian- and sleep-related alterations. *Menopause*, 23 (6), 682-690. DOI: 10.1097/GME.0000000000000612
19. Gursoy AY, Kiseli M, Caglar GS. (2015). Melatonin in aging women. *Climacteric*, 18 (6), 790-796. DOI: 10.3109/13697137.2015.1052393
20. Hale GE, Robertson DM, Burger HG. (2014). The perimenopausal women: Endocrinology and management. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 142, 121-131. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2013.08.015.
21. Hardeland R. (2008) Melatonin, hormone of darkness and more — occurrence, control mechanisms, actions, and bioactive metabolites. *Cell Mol Life Sci*, 65 (13), 2001-2018. DOI: 10.1007/s00018-008-8001-x
22. Higuchi S, Motohashi Y, Ishibashi K, Maeda T. (2007). Influence of eye colors of Caucasians and Asians on suppression of melatonin secretion by light. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 292 (6), R2352-R2356.
23. Kravitz HM, Zhao X, Bromberger JT, Gold EB, Hall MH, Matthews KA, Sowers MR. (2008). Sleep disturbance during the menopausal transition in a multi-ethnic community sample of women. *Sleep*, 31 (7), 979-990.
24. Lampio L, Polo-Kantola P, Polo O, Kauko T, Aitokallio J, Saarestranta T. (2014). Sleep in midlife women: effects of menopause, vasomotor symptoms, and depressive symptoms. *Menopause*, 21 (11), 1217-1224. DOI: 10.1097/GME.0000000000000239
25. Lavie P, Luboshitzky R. (1997). Melatonin: possible role in human sleep and reproduction. *Sleep and sleep disorders: from molecule to behavior*, 209-222.
26. Lichstein KL, Taylor DJ, McCrae CS, Petrov ME. (2016) Insomnia: epidemiology and risk factors. *Principles and Practice of Sleep Medicine*. Philadelphia, 761-768.
27. Madaeva IM, Semenova NV, Solodova EI, Kolesnikov SI, Zhambalova RM, Kolesnikova LI. (2017). Circadian rhythms of melatonin secretion in peri- and postmenopausal women with insomnia. *Int J Biomedicine*, 7 (2), 126-130.
28. McEwen BS. (2004). Structural plasticity of adult brain: how animal models help us understand brain changes in depression and systemic disorders related to depression. *Dialogue Clin Neurosci*, 6 (2), 119-133.
29. Micic G, Lovato N, Gradisar M, Burgess HJ, Ferguson SA, Kennaway DJ, Lack L. (2015). Nocturnal melatonin profiles in patients with delayed sleep-wake phase disorder and control sleepers. *J Biol Rhythms*, 30 (5), 437-448. DOI: 10.1177/0748730415591753
30. Morera-Fumero AL, Abreu-Gonzalez P, Henry-Benitez M, Díaz-Mesa E, Yelmo-Cruz S, Gracia-Marco R. (2013). Chronotype as modulator of morning serum melatonin levels. *Actas Esp Psiquiatr*, 41 (3), 149-153.
31. Murphy PJ, Campbell SS. (2007). Sex hormones, sleep, and core body temperature in older postmenopausal women. *Sleep*, 30 (12), 1788-1794.
32. Obayashi K, Saeki K, Tone N, Iwamoto J, Miyata K, Ikada Y, Kurumatani N. (2015). Lower melatonin secretion in older females: gender differences independent of light exposure profiles. *J Epidemiol*, 25 (1), 38-43. DOI: 10.2188/jea.JE20140035
33. Okatani Y, Morioka N, Wakatsuki A. (2000) Changes in nocturnal melatonin secretion in perimenopausal women: correlation with endogenous estrogen concentrations. *J Pineal Res*, 28 (2), 111-118.
34. Parry BL, Meliska CJ, Sorenson DL, López AM, Martínez LF, Nowakowski S, Hauger RL, Elliott JA. (2008). Increased melatonin and delayed offset in menopausal depression: Role of years past menopause, follicle-stimulating hormone, sleep end time, and body mass index. *J Clin Endocrinol Metab*, 93 (1), 54-60.
35. Phillips BA, Mannino D. (2005). Correlates of sleep complaints in adults: The ARIC Study. *J Clin Sleep Med*, 1 (3), 277-283.
36. Pien GW, Sammel MD, Freeman EW, Lin H, DeBlasis TL. (2008). Predictors of sleep quality in women in the menopausal transition. *Sleep*, 31 (7), 991-999.
37. Sassarini DJ. (2016). Depression in midlife women. *Maturitas*, 94, 149-154. DOI: 10.1016/j.maturitas.2016.09.004
38. Semenova N, Kolesnikova L, Madaeva I, Solodova E, Berdina O, Darenskaya M. (2015). Sleep disorders in postmenopausal women: lipid peroxidation and antioxidant system. *Maturitas*, 81, 233-234.
39. Semenova NV, Madaeva IM, Bairova TA, Zhambalova RM, Sholokhov LF, Kolesnikova LI. (2018). Association of the melatonin circadian rhythms with clock 3111T/C gene polymorphism in Caucasian and Asian menopausal women with insomnia. *Chronobiol Int*, 35 (8). DOI: 10.1080/07420528.2018.1456447

40. Slawik H, Stoffel M, Riedl L, Vesely Z, Behr M, Lehmberg J, Pohl C, Meyer B, Wiegand M, Krieg SM. (2016). Prospective study on salivary evening melatonin and sleep before and after pinealectomy in humans. *J Biol Rhythms*, 31 (1), 82-93. DOI: 10.1177/0748730415616678
41. Smagula SF, Stone KL, Fabio A, Cauley JA. (2016). Risk factors for sleep disturbances in older adults: evidence from prospective studies. *Sleep Med Rev*, 25, 21-30. DOI: 10.1016/j.smr.2015.01.003
42. Spielman A, Caruso L, Glovinsky P. (1987). A behavioral perspective on insomnia treatment. *Psychiatric Clinic of North America*, 10 (4), 541-553.
43. Tamura H, Takasaki A, Taketani T, Tanabe M, Lee L, Tamura I, Maekawa R, Aasada H, Yamagata Y, Sugino N. (2014) Melatonin and female reproduction. *J Obstet Gynaecol Res*, 40 (1), 1-11. DOI: 10.1111/jog.12177
44. Toffol E, Kalleinen N, Haukka J, Vakkuri O, Partonen T, Polo-Kantola P. (2014). Melatonin in perimenopausal and postmenopausal women: associations with mood, sleep, climacteric symptoms, and quality of life. *Menopause*, 21 (5), 493-500. DOI: 10.1097/GME.0b013e3182a6c8f3
45. Von Gall C, Weaver DR, Moek J, Jilg A, Stehle JH, Korf HW. (2005). Melatonin plays a crucial role in the regulation of rhythmic clock gene expression in the mouse pars tuberalis. *Ann N Y Acad Sci*, 1040, 508-511. DOI: 10.1196/annals.1327.105
46. Voursora E, Spyropoulou AC, Koundi KL, Tzavara C, Verdeli H, Paparrigopoulos T, Augoulea A. (2015). Vasomotor and depression symptoms may be associated with different sleep disturbance patterns in postmenopausal women. *Menopause*, 22 (10), 1053-1057. DOI: 10.1097/GME.0000000000000442
47. Waleca-Kapic E, Chojnacki J, Stepien A, Wachowska-Kelly P, Klupińska G, Chojnacki C. (2015). Melatonin and female hormone secretion in postmenopausal overweight women. *Int J Mol Sci*, 16 (1), 1030-1042. DOI: 10.3390/ijms16011030.
48. Woods NF, Mitchell ES. (2010). Sleep symptoms during the menopausal transition and early postmenopause: observations from the Seattle midlife women's health study. *Sleep*, 33 (4), 539-549.
49. Xie Z, Chen F, Li WA, Geng X, Li C, Meng X, Feng Y, Liu W, Yu F. (2017) A review of sleep disorders and melatonin. *Neurol Res*, 39 (6), 559-565. DOI: 10.1080/01616412.2017.1315864
50. Xu Q, Lang CP. (2014) Examining the relationship between subjective sleep disturbance and menopause: a systematic review and meta-analysis. *Menopause*, 21 (12), 1301-1318. DOI: 10.1097/GME.0000000000000240.

Information about the authors

Semenova Natalya Viktorovna – Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (664003, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 16, e-mail: natkor_84@mail.ru)

Madaeva Irina Mikhailovna – Doctor of Medical Sciences, Head of Somnological Centre, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: nightchild@mail.ru)

Kolesnikova Lyubov Ilynichna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of RAS, Scientific Advisor, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

БИОХИМИЯ BIOCHEMISTRY

DOI: 10.29413/ABS.2018-3.5.3

УДК 616-073.524:612.123

Даренская М.А.¹, Данчинова Я.Л.², Ааромал Аджитха^{3,4}, Гребенкина Л.А.¹, Александров С.Г.³, Сусликова М.И.³, Сухинина К.В.², Колесникова Л.И.^{1,2}

Оценка компонентов липидного профиля у студентов-иностранцев, обучающихся на базе Иркутского государственного медицинского университета *

¹ ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

² ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1, Россия)

³ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

⁴ Медицинский центр г. Нью-Дели (Delhi, New Delhi, Rajendra place, 6, India)

Обоснование. Социально значимый заказ на подготовку иностранных специалистов, обусловленный, в том числе, продвижением российского образования на международный рынок, безусловно, требует организации процесса адаптации студентов к учебно-информационной среде вуза. Пристального внимания заслуживают компоненты липидного профиля, которые являются частью общего адаптационного синдрома.

Цель исследования: изучение особенностей липидного профиля у студентов-иностранцев, обучающихся на базе Иркутского государственного медицинского университета.

Методы. Всего обследовано 100 студентов медицинского профиля Иркутского государственного медицинского университета, обучающихся на дневной форме обучения: 58 человек (36 юношей и 22 девушки) – студенты русской национальности, 42 человека (32 юноши и 11 девушек) – индийские студенты. Уровни показателей липидного статуса определяли с помощью наборов Сорта на автоматическом анализаторе ВТС-330 методом фотометрии. Результаты. У юношей-индусов отмечались статистически значимо более высокие значения триацилглицеролов, холестерина липопротеидов очень низкой плотности и сниженные уровни холестерина липопротеидов высокой плотности, в сравнении с юношами русской национальности. В группах девушек индийского происхождения изменения касались повышенных показателей триацилглицеролов и холестерина липопротеидов очень низкой плотности, в сравнении с русскими. Гендерные различия были выявлены только среди студентов-русских – в виде повышенных значений общего холестерина и холестерина липопротеидов низкой плотности в группе девушек, в сравнении с юношами.

Заключение. Установленные функциональные изменения в липидном метаболизме у иностранных студентов характеризуют напряжение адаптационных ресурсов организма, что, вероятно, может быть связано с нерациональностью питания. Полученные результаты могут служить базовой информацией для проведения мониторинга за состоянием здоровья студентов, разработки этноспецифических мероприятий по профилактике заболеваний.

Ключевые слова: липидный профиль, иностранные студенты, индийцы, адаптация

Для цитирования: Даренская М.А., Данчинова Я.Л., Ааромал Аджитха, Гребенкина Л.А., Александров С.Г., Сусликова М.И., Сухинина К.В., Колесникова Л.И. Оценка компонентов липидного профиля у студентов-иностранцев, обучающихся на базе Иркутского государственного медицинского университета. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 22-26, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.3.

Evaluation of Lipid Profile Components in Foreign Students Studying at the Irkutsk State Medical University

Darenskaya M.A.¹, Danchinova Ya.L.², Aaromal Adjitha^{3,4}, Grebenkina L.A.¹, Aleksandrov S.G.³, Suslikova M.I.³, Sukhinina K.V.², Kolesnikova L.I.^{1,2}

¹ Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (ul. Timiryazeva 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)

² Irkutsk State University (ul. Karl Marksa 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

* Статья опубликована на основании доклада на III Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, октябрь, 2018).

³ Irkutsk State Medical University
(ul. Krasnogo Vosstaniya 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)
⁴ New Delhi Medical Centre
(Rajendra place 6, New Delhi, Delhi, India)

Background. A socially significant order for the training of foreign specialists, including the promotion of Russian education on the international market, certainly requires the organization of the process of students' adaptation to the educational and information environment of the university. Particular attention deserves the components of the lipid profile, which are part of the overall adaptation syndrome.

Aim: to study the features of the lipid profile in foreign students studying at the Irkutsk State Medical University.

Methods. In total, 100 students of the medical profile of the Irkutsk State Medical University were enrolled in full-time study: 58 students (36 males and 22 females) were students of Russian nationality and 42 students (32 males and 11 females) – Indian students. Levels of lipid status indicators were determined with the help of Cormay kits on the automatic analyzer BTS-330 using the photometry method.

Results. Hindu young men had statistically significantly higher values of triacylglycerols, very low-density lipoproteins and lower levels of high-density lipoproteins in comparison with young Russians. In the groups of girls of Indian origin, the changes concerned increased levels of triacylglycerols and very low-density lipoproteins in comparison with Russians. Gender differences were found only among Russian students – in the form of increased values of cholesterol and low-density lipoproteins in the group of girls compared to boys.

Conclusion. The established functional changes in lipid metabolism in foreign students characterize the stress of the adaptive resources of the body, which, probably, can be due to the irrationality of nutrition.

Key words: lipid profile, foreign students, Indians, adaptation

For citation: Darenskaya M.A., Danchinova Ya.L., Aaromal Adjitha, Grebenkina L.A., Aleksandrov S.G., Suslikova M.I., Sukhinin K.V., Kolesnikova L.I. Evaluation of components lipid profile in students-foreigners studying at the Irkutsk State Medical University. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 22-26, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.3.

ВВЕДЕНИЕ

Наличие иностранцев, обучающихся в качестве студентов в вузах России, является значимым фактором с точки зрения политики, который с одной стороны повышает авторитет страны, а с другой – считается способом интеграции в мировое интеллектуальное сообщество [5]. Процесс обучения студентов-иностранцев в вузах медицинского профиля России может также выступать в качестве стимулирующего фактора развития медицинской науки и практики [7]. Социально значимый заказ на подготовку иностранных специалистов, обусловленный в том числе, продвижением отечественного образования на международный рынок, безусловно, требует организации процесса адаптации студентов к учебно-информационным нагрузкам вузовской среды [1, 5]. Проблема адаптации иностранных студентов к новым для них условиям среды и процессу обучения чрезвычайно значима, так как влияет, в том числе, на академическую успеваемость учащегося [8]. Учебный процесс характеризуется интенсивной умственной нагрузкой и закономерно предъявляет значительные требования к функциональной активности большинства органов и систем организма [4, 5, 6, 22]. Особого внимания заслуживают показатели липидного профиля, так как они являются частью общего адаптационного синдрома [1, 2, 9, 13, 15, 21]. Как структурные компоненты липиды могут составлять до 25 % объёма нервных тканей, поэтому их недостаток либо избыток может привести к серьёзному снижению эффективности умственной и физической деятельности [11, 12, 16, 20]. Показано, что содержание липидов в составе плазмы крови полностью отражает обмен липидов в организме в целом и особенно в печени и жировых депо [3, 14, 17, 18, 19]. Интересным представляется установленный факт, что примерно двое из сотни обучающихся в вузе во всем мире – иностранные студенты, среди которых преобладают граждане развивающихся стран [5].

В связи с чем, целью исследования явилось изучение особенностей липидного профиля у студентов-иностранцев, обучающихся на базе Иркутского государственного медицинского университета

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Всего было обследовано 100 студентов медицинского профиля, обучающихся в Иркутском государственном медицинском университете на дневной форме. Из них 58 студентов русской национальности (36 юношей (средний возраст $18,31 \pm 1,26$ года) и 22 девушки (средний возраст $18,23 \pm 0,62$ года)) и 42 индийских студента (32 юноши (средний возраст $21,88 \pm 1,56$ года) и 11 девушек (средний возраст $21,56 \pm 4,07$ лет)).

Этническая принадлежность индийцев определялась самоидентификацией с учётом элементов фенотипа. Набор материала для исследования осуществлялся в осеннее время года. Материалом исследования служила сыворотка крови. Забор крови проводили из локтевой вены в соответствии с общепринятыми требованиями. Уровни общего холестерина (ОХС), холестерина липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП), триацилглицеридов (ТАГ) определяли с помощью наборов Cormay на автоматическом анализаторе ВТС-330 методом фотометрии. Содержание холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) рассчитывали по формуле: $\text{ХС ЛПНП} = \text{ОХС} - (\text{ХС ЛПВП} + \text{ХС ЛПОНП})$, где уровень холестерина липопротеидов очень низкой плотности (ХС ЛПОНП), рассчитывался как $\text{ХС ЛПОНП} = \text{ТАГ} / 2,2$. Холестериновый коэффициент атерогенности (КА), отражающий баланс между уровнем атерогенных и антиатерогенных липопротеидов, определяли по формуле: $\text{КА} = (\text{ОХС} - \text{ХС ЛПВП}) / \text{ХС ЛПВП}$. За нормальные значения липидов и липопротеинов принимали уровни: $\text{ОХС} < 5,2$ ммоль/л, $\text{ТАГ} < 1,7$ ммоль/л, $\text{ХС ЛПВП} > 0,9$ ммоль/л, $\text{ХС ЛПНП} < 3,89$ ммоль/л, $\text{КА} < 3,0$.

В работе со студентами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (1964, ред. 2013). Все обследуемые подписывали информированное согласие.

Для анализа результатов использовали Statistica 6.1 (StatSoft Inc., США). Мы использовали визуально-графический метод и критерии согласия Колмогорова – Смирнова с коррекцией Лилиефорса и Шапиро – Уилка, чтобы определить нормальное распределение. Проверка общих дисперсий равенства выполнялась с использованием точного теста Фишера (F-тест). Данные были представлены как среднее (*M*) и дисперсия (σ). При анализе межгрупповых различий использовали параметрический (t-критерий Стьюдента) и непараметрический (тест Манна – Уитни) критерии. Критический уровень значимости принимался равным 5 % (0,05).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате анализа средних значений показателей липидного статуса у студентов-медиков нами были зарегистрированы статистически значимые различия по некоторым компонентам с учётом как гендерного, так и этнического факторов (табл. 1).

Так, у юношей-индусов были отмечены статистически значимо более высокие значения ТАГ (в 1,91 раза; $p < 0,0001$), ХС ЛПОНП (в 1,9 раза; $p < 0,0001$) и сниженные уровни ХСЛПВП (в 1,17 раза; $p = 0,049$), в сравнении с юношами-русскими (табл. 1). В группах девушек индийского происхождения изменения касались повышенных показателей ТАГ (в 1,69 раза; $p < 0,0001$) и ХС ЛПОНП (в 1,69 раза; $p < 0,0001$), в сравнении с русскими. Кроме того, в группах русских студентов отмечались гендерные различия: повышенные значения ОХС (в 1,19 раза; $p = 0,009$) и ХС ЛПНП (в 1,25 раза; $p = 0,030$) у девушек, в сравнении с юношами. В группах студентов-индусов гендерных различий отмечено не было ($p > 0,05$). В отношении коэффициента атерогенности статистически значимых различий между группами выявлено не было, при этом было установлено превышение данного показателя относительно общепринятых нормати-

вов, более выраженное у юношей-индусов и девушек русского происхождения.

Многочисленные исследования показали, что особенности липидного обмена обусловлены генетическими факторами, зависят от характера питания, физической активности, возраста, пола и т. д. [3, 8, 18]. Нами было зарегистрировано увеличение ТАГ у студентов-индийцев – как у юношей, так и у девушек. Согласно данным литературы, нейтральные жиры, или триацилглицериды (ТАГ), являются важнейшим источником энергии как при непосредственном использовании, так и потенциально – в виде запасов в жировой ткани, причём последняя является источником гормонов, оказывающих влияние на различные функции организма, в частности, на репродуктивную функцию [6, 12, 14]. Увеличение ТАГ в данном случае можно рассматривать как неблагоприятный фактор, вероятно, связанный с особенностями питания приезжих студентов, которые сменили традиционное питание на тип питания, нехарактерный для них [10, 21]. Обращают на себя внимание также низкие значения ХС ЛПВП у юношей-иностранцев и несколько сниженные уровни данного показателя у девушек. Установлено, что ХС ЛПВП получают холестерин из периферических клеток, а также других липопротеидов, затем холестерин этерифицируется с помощью фермента лецитинхолестеролацилтрансферазы [19]. Позднее эфир холестерина переносится в остаточные частицы, которые поглощаются печенью, откуда холестерин экскретируется. Наблюдаемый нами недостаток ХС ЛПВП может провоцировать рост коэффициента атерогенности, что мы и отметили в исследуемых группах индийских студентов. Для оценки потенциальной атерогенности липопротеинов крови используется коэффициент атерогенности, высчитываемый как отношение разности общего холестерина и ХС ЛПВП к ХС ЛПВП. Повышение риска развития атеросклероза соответствует каждому значению коэффициента атерогенности, превышающему 3,0. Превышение коэффициента наблюдалось также в группе девушек русской национальности, что, вероятно, связано с высокими значениями ОХС в данной группе.

Показатели липидного профиля у юношей и девушек различных этнических групп

Таблица 1

Table 1

Lipid profile in males and females of different ethnic groups

| Показатели | Этнические группы | | | | p |
|------------------|-------------------|-------------|-------------|-------------|----------|
| | Индийцы | | Русские | | |
| | Юноши (1) | Девушки (2) | Юноши (3) | Девушки (4) | |
| ОХС, ммоль/л | 4,04 ± 0,93 | 4,21 ± 0,99 | 4,28 ± 0,95 | 5,10 ± 1,36 | 3–4 |
| ТАГ, ммоль/л | 1,22 ± 0,24 | 1,18 ± 0,29 | 0,64 ± 0,29 | 0,70 ± 0,25 | 1–3, 2–4 |
| ХСЛПВП, ммоль/л | 0,98 ± 0,30 | 1,03 ± 0,25 | 1,15 ± 0,40 | 1,22 ± 0,10 | 1–3 |
| ХСЛПОНП, ммоль/л | 0,55 ± 0,11 | 0,54 ± 0,13 | 0,30 ± 0,13 | 0,32 ± 0,11 | 1–3, 2–4 |
| ХСЛПНП, ммоль/л | 2,50 ± 0,96 | 2,66 ± 1,05 | 2,84 ± 1,01 | 3,56 ± 1,45 | 3–4 |
| КА, усл. ед. | 3,42 ± 1,52 | 3,37 ± 1,54 | 3,03 ± 1,52 | 3,42 ± 0,17 | – |

Примечание. p – статистически значимые различия между показателями исследуемых групп.

Таким образом, установленные функциональные изменения в липидном метаболизме иностранных студентов характеризуют напряжение адаптационных ресурсов организма, что, вероятно, может быть связано с нерациональностью питания последних. Комплексное исследование метаболических реакций у студентов-иностранцев расширяет представления об адаптивных механизмах к изменённым условиям среды и может служить базовой информацией для последующего мониторинга за состоянием здоровья студентов, разработки этноспецифических мероприятий по профилактике заболеваний.

**ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES**

1. Будукоол Л.К.С. Особенности адаптации к обучению студентов республики Тува // Экология человека. – 2013. – № 5. – С. 54–60.

Budukool LKS. (2013). Peculiarities of adaptation of Tuva students to study [Osobennosti adaptatsii k obucheniyu studentov respublik Tuva]. *Ekologiya cheloveka*, (5), 54-60.

2. Высоцкая А.Г., Щербатюк Т.Г. Свободнорадикальная активность и морфология слюнной жидкости студентов разных этнических групп в условиях психоэмоционального стресса // Экология человека. – 2016. – № 6. – С. 21–25.

Vysotskaya AG, Shcherbatyuk TG. (2016). Free-radical activity and morphology of parotid fluid in students of different ethnic groups under conditions of psychoemotional stress [Svobodnoradikal'naya aktivnost' i morfologiya slyunnoj zhidkosti studentov raznyh ehtnicheskikh grupp v usloviyah psioehmocional'nogo stressa]. *Ekologiya cheloveka*, (6), 21-25.

3. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Долгих В.В., Шенин В.А., Дутова С.В., Гребенкина Л.А., Долгих М.И. Про- и антиоксидантный статус у подростков-тофов и европеоидов // Известия Самарского НЦ РАН. – 2010. – Т. 12. – С. 1687–1691.

Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Dolgikh VV, Shenin VA, Dutova SV, Grebenkina LA, Dolgikh MI. (2010). Pro- and antioxidant status in adolescent Tofalars and Caucasians [Pro- i antioksidantnyy status u podrostkov-tofov i evropeoidov]. *Izvestiya Samarskogo NTS RAN*, (12), 1687-1691.

4. Колесникова Л.И., Долгих В.В., Рычкова Л.В., Головки Е.А., Сухинина К.В., Простокишина Н.Н., Гордеева Е.И., Каширин К.О. Состояние здоровья и особенности образа жизни студентов-первокурсников Иркутского государственного университета // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 1-3. – С. 522–527.

Kolesnikova LI, Dolgikh VV, Rychkova LV, Golovko EA, Sukhinina KV, Prostokishina NN, Gordееva EI, Kashirin KO. (2015). State of health and lifestyle peculiarities of first-year students of Irkutsk State University [Sostoyanie zdorov'ya i osobennosti obraza zhizni studentov-pervokursnikov Irkutskogo gosudarstvennogo universiteta]. *Fundamental'nye issledovaniya*, (1-3), 522-527.

5. Кузнецов В.Н., Низовцева Т.Р. Особенности адаптации иностранных студентов в Северном государственном медицинском университете // Экология человека. – 2007. – № 9. – С. 39–41.

Kuznetsov VN, Nizovtseva TR. (2007). Peculiarities of adaptation of foreign students at the Northern State

Medical University [Osobennosti adaptatsii inostrannykh studentov v Severnom gosudarstvennom meditsinskom universitete]. *Ekologiya cheloveka*, (9), 39-41.

6. Ляпин В.А., Флянку И.П., Любошенко Т.М. Состояние здоровья и особенности образа жизни студентов в период обучения в вузе // Научный медицинский вестник. – 2015. – № 1. – С. 29–39.

Lyapin VA, Flyanku IP, Lyuboshenko TM. (2015). State of health and peculiarities of lifestyle of students during their study in the university [Sostoyanie zdorov'ya i osobennosti obraza zhizni studentov v period obucheniya v vuze]. *Nauchnyy meditsinskiy vestnik*, (1), 29-39.

7. Мирчетич М.А., Фомина Н.А. Лингвистические характеристики текстов и психологические особенности речевых действий студентов с преобладанием второй сигнальной системы // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Психология и педагогика. – 2014. – № 1. – С. 60–66.

Mirchetich MA, Fomina NA. (2014). Linguistic characteristics of texts and psychological features of speech in students with predominance of the second signal system [Lingvisticheskie kharakteristiki tekstov i psikhologicheskie osobennosti rechevykh deystviy studentov s preobladaniem vtoroy signal'noy sistemy]. *Vestnik Rossiyskogo universiteta druzhby narodov. Seriya: Psikhologiya i pedagogika*. (1), 60-66.

8. Поборский А.Н., Юрина М.А., Павловская В.С. Функциональные возможности организма студентов, начинающих обучение в неблагоприятных климато-географических условиях среды // Экология человека. – 2010. – № 12. – С. 27–31.

Poborskiy AN, Yurina MA, Pavlovskaya VS. (2010). Functional capability of the students' organisms who begin learning in unfavorable climatic and geographic environmental conditions [Funktional'nye vozmozhnosti organizma studentov, nachinayushchikh obuchenie v neblagopriyatnykh klimatogeograficheskikh usloviyakh sredy]. *Ekologiya cheloveka*, (12), 27-31.

9. Савилов Е.Д., Выборова С.А. Состояния адаптации как показатель здоровья // Гигиена и санитария. – 2006. – № 3. – С. 7–8.

Savilov ED, Vyborova SA. (2006). Adaptation state as an indicator of health [Sostoyaniya adaptatsii kak pokazatel' zdorov'ya]. *Gigiena i sanitariya*, (3), 7-8.

10. Сетко А.Г., Пономарева С.Г., Щербинина Е.П., Фатеева Т.А., Володина Е.А. Роль нутриентной обеспеченности в функционировании основных органов и систем организма студентов // Гигиена и санитария. – 2012. – № 3. – С. 51–53.

Setko AG, Ponomareva SG, Shcherbinina EP, Fateeva TA, Volodina EA. (2012). Role of nutrition in the functioning of the main organs and systems of the students' organisms [Rol' nutrientnoy obespechennosti v funktsionirovanii osnovnykh organov i sistem organizma studentov]. *Gigiena i sanitariya*, (3), 51-53.

11. Тюряпина И.В. Группы риска психической дизадаптации среди студентов-первокурсников вуза с различными типами акцентуации личности // Экология человека. – 2014. – № 3. – С. 28–33.

Tyuryapina IV. (2014). Risk groups of mental disadaptation in first-year students with different types of personality accentuation [Gruppy riska psikhicheskoy dizadaptatsii

sredi studentov-pervokursnikov vuza s razlichnymi tipami aktsentuatsii lichnosti]. *Ekologiya cheloveka*, (3), 28-33.

12. González CS, Díaz YB, Mendizabal-Ruiz AP, Medina ED, Morales JA. (2014). Prevalence of obesity and altered lipid profile in university students. *Nutricion Hospitalaria*, 29 (2), 315-321. DOI: 10.3305/nh.2014.29.2.7054

13. Hamza MA, Abdulla IT, Hamza A. (2018). Effect of oxidative stress on lipid profile and blood parameters to a sample of students at university of Zakho during exams. *Tikrit J Pure Sci*, 23 (1), 78-82.

14. Hertelyova Z, Salaj R, Chmellarova A, Dombrovsky P, Dvorakova MC, Kruzliak P. (2016). The association between lipid parameters and obesity in university students. *J Endocrinol Invest*, 39 (7), 769-778. DOI: 10.1007/s40618-015-0240-8

15. Joseph N, Chettuvatti K, Yadav H, Bharadwaj H, Kotian SM. (2017). Assessment of risk of metabolic syndrome and cardio vascular diseases among medical students in India. *J Cardiovasc Dis Res*, 8 (3), 89-95. DOI: 10.5530/jcdr.2017.3.21

16. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Dolgikh MI, Semenova NV. (2014). Adaptive reactions of lipid metabolism in indigenous and non-indigenous female individuals of Tofalarian population living under extreme environmental conditions. *J Evol Biochem Physiol*, 50 (5), 392-398. DOI: 10.1134/S0022093014050032

17. Kolesnikova LI, Grebenkina LA, Vlasov BY, Darenskaya MA, Labygina AV, Dolgikh MI. (2014). Metabolic role of lipid peroxidation processes and antioxidant defense

system in the pathogenesis of hypothalamic syndrome. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 156 (3), 303-305. DOI: 10.1007/s10517-014-2335-1

18. Kolesnikova LI, Kolesnikov SI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Semenova NV, Osipova EV, Gnusina SV, Bardymova TA. (2015). Lipid status and predisposing genes in patients with diabetes mellitus type 1 from various ethnic groups. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 160 (2), 278-280. DOI: 10.1007/s10517-015-3149-5

19. Kolesnikova LI, Kolesnikov SI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Nikitina OA, Lazareva LM, Suturaeva LV, Danusevich IN, Druzhinina EB, Semendyaev AA. (2017). Activity of LPO processes in women with polycystic ovarian syndrome and infertility. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 162 (3), 320-322. DOI: 10.1007/s10517-017-3605-5


20. Liang W, Wang L, Guo D, Nie Z, Chen Y, Jin Y, He L, Yao Y. (2015). Blood lipid profile and glucose of university students (China). *Nutricion Hospitalaria*, 31 (5), 2182-2186. DOI: 10.3305/nh.2015.31.5.8600


21. Morales G, Guillen-Grima F, Munoz S, Belmar C, Schifferli I, Muñoz A, Soto A. (2017). Cardiovascular risk factors among first and third year university students. *Revista Medica de Chile*, 145 (3), 299-308. DOI: 10.4067/S0034-98872017000300003

22. Tran DMT, Zimmerman LM, Kupzyk KA, Shurmur SW, Pullen CH, Yates BC. (2017). Cardiovascular risk factors among college students: Knowledge, perception, and risk assessment. *J Am Coll Health*, 65 (3), 158-167. DOI: 10.1080/07448481.2016.1266638

Сведения об авторах

Information about the authors

Даренская Марина Александровна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru)  <http://orcid.org/0000-0003-3255-2013>


Darenskaya Marina Aleksandrovna – Doctor of Biological Sciences, Leading Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (664003, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 16; e-mail: marina_darenskaya@inbox.ru)  <http://orcid.org/0000-0003-3255-2013>


Данчинова Яна Леонидовна – студентка биолого-почвенного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1)

Danchinova Yana Leonidovna – Student at the Faculty of Biology and Soil Science, Irkutsk State University (664003, Irkutsk, ul. Karla Marksa, 1)

Ааромал Аджитха – студент, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, ассистент-лаборант Медицинского центра г. Нью-Дели, Индия (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1)

Aaromal Adjitha – Student, Irkutsk State Medical University; Laboratory Assistant, New Delhi Medical Centre (664003, Irkutsk, ul. Krasnogo Vosstaniya, 1)

Гребенкина Людмила Анатольевна – доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»  <http://orcid.org/0000-0002-1263-5527>

Grebenkina Lyudmila Anatolyevna – Doctor of Biological Sciences, Chief Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems  <http://orcid.org/0000-0002-1263-5527>

Александров Сергей Георгиевич – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой нормальной физиологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России


Aleksandrov Sergey Georgievich – Doctor of the Medical Sciences, Head of the Department of Normal Physiology, Irkutsk State Medical University


Сусликова Мария Игоревна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры нормальной физиологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России

Suslikova Maria Igorevna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor at the Department of Normal Physiology, Irkutsk State Medical University

Сухинина Ксения Викторовна – кандидат биологических наук, доцент физкультурно-оздоровительного центра, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет»

Sukhinina Kseniya Viktorovna – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor at the Sports and Recreation Centre, Irkutsk State University

Колесникова Любовь Ильинична – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, научный руководитель ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; профессор кафедры физиологии и психофизиологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет»  <http://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

Kolesnikova Ljubov Ilyinichna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of RAS, Scientific Advisor, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; Professor at the Department of Physiology and Psychophysiology, Irkutsk State University  <http://orcid.org/0000-0003-3354-2992>

ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ INTERNAL DISEASES

DOI: 10.29413/ABS.2018-3.5.4

УДК 616.12-008.331.1-085.2

Федоришина О.В., Протасов К.В., Торунова А.М.

Влияние статина при добавлении к антигипертензивной терапии на показатели сосудистой жёсткости у больных артериальной гипертензией высокого сердечно-сосудистого риска

Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

Обоснование. Повышенная жёсткость сосудов является независимым фактором риска сердечно-сосудистых событий, в том числе при артериальной гипертензии. Положительное влияние на данный показатель в разной степени оказывают все основные группы антигипертензивных препаратов. Данные по влиянию статинов на артериальную жёсткость неоднозначны.

Цель исследования: изучить динамику показателей сосудистой жёсткости у больных артериальной гипертензией высокого или очень высокого сердечно-сосудистого риска при добавлении розувастатина к комбинированной двухкомпонентной антигипертензивной терапии амлодипином и лизиноприлом.

Методы. 60 пациентов были рандомизированно распределены на две группы: первая группа получала фиксированную комбинацию амлодипин/лизиноприл, вторая дополнительно к этому режиму терапии принимала розувастатин. В изучаемых группах оценивали и сравнивали динамику офисного и среднесуточного артериального давления, центрального давления в аорте, скорости распространения пульсовой волны на каротидно-феморальном и каротидно-радиальном сегментах.

Результаты. К окончанию 24-недельного периода лечения отмечено статистически значимое снижение офисного и среднесуточного артериального давления в обеих группах с большей степенью уменьшения офисного диастолического артериального давления в группе добавления статина. Центральное артериальное давление в аорте также снизилось в обеих группах в равной степени. Индекс аугментации статистически значимо уменьшился в обеих группах, в большей степени – во второй группе (–4,8 % и –9,4 % соответственно; $p = 0,036$). Каротидно-феморальная скорость распространения пульсовой волны снизилась в одинаковой степени в обеих группах, а каротидно-радиальная – только во второй (с $9,5 \pm 1,8$ до $8,8 \pm 1,1$ м/с; $p = 0,026$).

Заключение. Добавление розувастатина к фиксированной комбинации амлодипин/лизиноприл в лечении больных артериальной гипертензией высокого и очень высокого сердечно-сосудистого риска сопровождалось более выраженным снижением офисного диастолического давления, индекса аугментации и статистически значимо уменьшало каротидно-феморальную и каротидно-радиальную скорость распространения пульсовой волны.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, розувастатин, лизиноприл, амлодипин, жёсткость сосудов, скорость распространения пульсовой волны

Для цитирования: Федоришина О.В., Протасов К.В., Торунова А.М. Влияние статина при добавлении к антигипертензивной терапии на показатели сосудистой жёсткости у больных артериальной гипертензией высокого сердечно-сосудистого риска. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 27-32, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.4.

The Effect of Statin Added to Antihypertensive Therapy on Arterial Stiffness in Hypertensive Patients at High Cardiovascular Risk

Fedorishina O.V., Protasov K.V., Torunova A.M.

Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (664049, Irkutsk, Yubileyniy, 100, Russian Federation)

Background. Little is known about the effect of statins addition to standard antihypertensive therapy on blood pressure level and vascular stiffness in high-risk hypertensive patients.

The aim of the study was to assess the dynamics of vascular stiffness in hypertensive patients of high or very high cardiovascular risk under the influence of rosuvastatin addition to combined two-component amlodipine and lisinopril antihypertensive therapy.

Materials and methods. We investigated 60 hypertensive patients who were randomized into two groups: the 1st group received a fixed amlodipine/lisinopril combination, the 2nd one followed the same regimen of therapy with addition of 20 mg rosuvastatin. Mean office and ambulatory blood pressure as well as central aortic blood pressure and pulse wave velocity were evaluated in both groups before and after 24-week follow-up period.

Results. At end of follow-up period the office and average daily blood pressure significantly decreased in both groups, with more prominent office diastolic blood pressure decline in the 2nd one. The central aortic blood pressure equally decreased in both groups. The augmentation index significantly reduced in both groups, mostly in the 2nd one. The carotid-femoral pulse wave velocity declined in both groups to the same extent. The carotid-radial pulse wave velocity decreased statistically only in the second group.

Conclusions. Addition of rosuvastatin to a fixed amlodipine/lisinopril combination in high/very high cardiovascular risk hypertensive patients was accompanied by more pronounced decline of diastolic blood pressure and augmentation index, as well as significantly reduction of pulse wave velocity.

Key words: hypertension, rosuvastatin calcium, lisinopril, amlodipine, vascular stiffness, pulse wave velocity

For citation: Fedorishina O.V., Protasov K.V., Torunova A.M. The effect of statin added to antihypertensive therapy on arterial stiffness in hypertensive patients at high cardiovascular risk. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 27-32, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.4.

Целью лечения артериальной гипертензии (АГ) является не только достижение целевого артериального давления (АД), но и максимально возможное снижение риска кардиоваскулярных событий и смертности путём защиты повреждённых органов-мишеней [7]. Состояние сосудистой стенки при данном заболевании привлекает всё больший интерес исследователей с этой точки зрения. Установлено, что у больных АГ повышение ригидности артерий увеличивает риск кардиоваскулярных событий [14, 16, 20]. Скорость распространения пульсовой волны (СРПВ) и индекс аугментации (ИА) относятся к неинвазивным и достаточно точным критериям оценки сосудистой жёсткости. Ряд исследований продемонстрировали способность большинства групп антигипертензивных препаратов уменьшать сосудистую жёсткость, что можно объяснить как снижением АД, так и непосредственным воздействием препаратов на сосудистую стенку [10]. Так, доказано снижение жёсткости аорты под влиянием ингибитора ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) лизиноприла и антагониста кальциевых каналов (АКК) амлодипина как в виде монотерапии [5, 10], так и в комбинации друг с другом [4, 8, 15]. В исследованиях со статинами получены противоречивые данные, однако в метаанализе установлено, что терапия статинами также приводит к уменьшению ригидности сосудов [12]. У пациентов с АГ доказано улучшение эластичности сосудов в виде снижения СРПВ и ИА при переводе на фиксированную комбинацию амлодипин/лизиноприл/розувастатин [1, 2]. В то же время прямые сравнительные исследования, оценивающие эффективность комбинации амлодипин/лизиноприл в отдельности и при добавлении к ней статина по влиянию на сосудистую жёсткость, не проводились. Таким образом, вопрос о выборе оптимальной терапии АГ, которая позволила бы комплексно повлиять на морфофункциональное состояние сосудов и тем самым снизить риск развития осложнений АГ, до сих пор остаётся открытым.

Это определило **цель исследования:** изучить динамику показателей сосудистой жёсткости у больных АГ высокого/очень высокого сердечно-сосудистого риска при добавлении розувастатина к комбинированной двухкомпонентной антигипертензивной терапии амлодипином и лизиноприлом.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследованы 60 пациентов в возрасте от 30 до 65 лет. Критерии включения: впервые выявлен-

ная или не леченная ранее АГ высокого или очень высокого сердечно-сосудистого риска [7]; отсутствие противопоказаний к ингибиторам АПФ, АКК и статинам. В исследование не включали больных с симптоматической АГ, сахарным диабетом, ассоциированными с АГ заболеваниями, связанными с атеросклерозом, аритмиями, требующими медикаментозной терапии, хронической сердечной недостаточностью III–IV функционального класса по NYHA, скоростью клубочковой фильтрации < 30 мл/мин, дисфункцией щитовидной железы, ожидаемой плохой приверженностью пациента к лечению. Пациентами было подписано информированное согласие на участие в исследовании. Протокол исследования одобрен комитетом по этике ИГМАПО.

Исходно проводили суточное мониторирование АД (СМАД, CardioTens-01, Meditech, Венгрия). СРПВ измеряли с помощью автоматизированной системы «SphygmoCor» (AtCor Medical, Австралия). Для оценки показателей центральной гемодинамики в аорте при помощи аппланационного тонометра в составе системы «SphygmoCor» регистрировали пульсовую волну (ПВ) на *a. radialis*. Затем с помощью валидированной генерализованной функции преобразования получали контур пульсовой волны в аорте и рассчитывали центральное систолическое АД (САД), диастолическое АД (ДАД) и пульсовое давление (ПД) в аорте, ИА и давление аугментации (прироста), приведённые к пульсу 75 уд./мин [9, 13].

Методом конвертов всех пациентов рандомизировали в две группы. Первая группа (стандартного лечения) получала фиксированную комбинацию амлодипин/лизиноприл (Экватор®, Гедеон Рихтер, Венгрия) в стартовой дозе 5/10 мг, вторая дополнительно к этой терапии принимала розувастатин (Мертенил®, «Гедеон Рихтер», Венгрия) в дозе 20 мг/сут.

В случае недостижения целевого уровня АД (< 140/90 мм рт. ст.) через две недели лечения дозу препарата Экватор увеличивали до 5/20 мг, а через четыре недели у не достигших целевого АД – до 10/20 мг. Период наблюдения составил 24 недели.

В обеих группах изучали показатели СМАД, клинического АД, центрального АД в аорте, ИА, СРПВ на каротидно-радиальном (СРПВс-г) и каротидно-фemorальном сегментах (СРПВс-ф) исходно и через 24 недели наблюдения. Учитывали побочные эффекты и переносимость лечения. Применяли критерии Манна – Уитни, Вилкоксона, χ^2 для непараметрических данных. Средние значения отображали в виде среднего арифметического (*M*) и среднеквадратиче-

ского отклонения (σ). Для статистической обработки использовали программу Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Группы были сопоставимы по всем исходным клиническим данным (табл. 1).

К окончанию 24-недельного периода лечения средняя доза Экватора в 1-й группе составила $6,7 \pm 2,7/15,0 \pm 5,6$ мг/сут, во 2-й – $6,6 \pm 2,7/15,2 \pm 5,8$ мг/сут ($p > 0,05$).

В таблице 2 представлены показатели периферического и центрального АД, ИА, СРПВ в группах исходно и на фоне приёма препаратов.

Как видно, в обеих группах статистически значительно уменьшилось клиническое и среднесуточное САД и ДАД. Однако к шестому месяцу наблюдения целевой уровень был достигнут у 15 (50,0 %) пациентов в 1-й группе и у 25 (83,3 %) – во второй ($p = 0,056$). На фоне терапии произошло значимое снижение центрального САД, ДАД и ПД, давления прироста и ИА. У пациентов группы стандартного лечения статистически значительно уменьшилась СРПВ_{с-р} а при добавлении к комбинации розувастатина – и СРПВ_{с-т}.

Выраженность сдвигов изучаемых показателей на фоне приёма препаратов отражена в таблице 3.

Из приведённой таблицы следует, что у пациентов 2-й группы отмечена статистически значимо большая эффективность терапии по снижению офисного ДАД и ИА.

Побочные эффекты с одинаковой частотой регистрировались в обеих группах: першение в горле и сухой кашель – у 16 пациентов (7 (23 %) – из 1-й группы, 9 (30 %) – из 2-й группы); отёки нижних конечностей – у 2 пациентов (по одному человеку в каждой группе), – в связи с чем доза препарата Экватор была уменьшена.

ОБСУЖДЕНИЕ

В работе впервые проведён сравнительный анализ динамики показателей сосудистой жёсткости у больных АГ высокого/очень высокого кардиоваскулярного риска под влиянием стандартной комбинации АД-снижающих препаратов и при добавлении к ней розувастатина в дозе 20 мг. Поводом для проведения исследования явилась противоречивость данных литературы о влиянии статинов на уровень АД и сосудистую жёсткость [10, 12].

Таблица 1

Исходная клиническая характеристика групп ($M \pm \sigma$)

Table 1

The baseline clinical characteristic of the groups ($M \pm \sigma$)

| Показатель | 1-я группа: амлодипин/лизиноприл (n = 30) | 2-я группа: амлодипин/лизиноприл + розувастатин (n = 30) |
|--------------------------------------|---|--|
| Пол (мужчин/женщин)* | 14/16 | 17/13 |
| Возраст, лет | 48,9 ± 10,1 | 53,7 ± 6,8 |
| Индекс массы тела, кг/м ² | 30,3 ± 5,0 | 30,0 ± 3,7 |
| Длительность АГ, годы | 8,4 ± 7,5 | 11,3 ± 8,7 |

Примечание. Все $p > 0,05$.

Таблица 2

Динамика изучаемых параметров в течение периода наблюдения

Table 2

The investigated parameters dynamics during follow-up period

| Показатель ($M \pm \sigma$) | 1-я группа: амлодипин/лизиноприл (n = 30) | | 2-я группа: амлодипин/лизиноприл + розувастатин (n = 30) | |
|-------------------------------|---|----------------|--|---------------|
| | исходно | 24 недели | исходно | 24 недели |
| САД офисное, мм рт. ст. | 172,4 ± 24,3 | 136,7 ± 12,8* | 173,3 ± 20,2 | 131,2 ± 10,4* |
| ДАД офисное, мм рт. ст. | 105,4 ± 13,5 | 88,0 ± 9,4* | 104,4 ± 14,0 | 83,5 ± 7,8* |
| САД-24, мм рт. ст. | 146,2 ± 15,6 | 124,5 ± 9,4* | 147,5 ± 18,5 | 124,0 ± 11,4* |
| ДАД-24, мм рт. ст. | 89,6 ± 13,1 | 76,6 ± 6,1* | 89,0 ± 12,6 | 75,2 ± 7,5* |
| Центральное САД, мм рт. ст. | 153,6 ± 22,1 | 118,6 ± 10,5* | 157,0 ± 20,3 | 120,5 ± 12,4* |
| Центральное ДАД, мм рт. ст. | 100,5 ± 13,2 | 82,4 ± 8,5* | 100,0 ± 10,6 | 82,3 ± 8,1* |
| Центральное ПД, мм рт. ст. | 53,2 ± 17,6 | 36,2 ± 6,5* | 56,8 ± 14,0 | 37,9 ± 9,6* |
| Давление прироста, мм рт. ст. | 13,6 ± 7,6 | 7,0 ± 4,9* | 14,9 ± 6,7 | 6,9 ± 4,9* |
| ИА75, % | 26,2 ± 11,0 | 20,4 ± 13,9** | 28,1 ± 8,3 | 19,2 ± 11,8* |
| ИА, % | 30,6 ± 14,0 | 25,8 ± 14,6*** | 35,2 ± 8,2 | 27,0 ± 12,3* |
| СРПВ _{с-р} , м/с | 9,1 ± 1,8 | 8,1 ± 1,3** | 9,5 ± 1,8 | 8,9 ± 1,8*** |
| СРПВ _{с-т} , м/с | 9,7 ± 2,0 | 9,0 ± 1,6 | 9,5 ± 1,8 | 8,8 ± 1,1*** |

Примечание. САД – систолическое АД; ДАД – диастолическое АД; ПД – пульсовое давление; САД-24, ДАД-24 – среднесуточные значения САД, ДАД; ИА – индекс аугментации; ИА75 – индекс аугментации, приведённый к частоте сердечных сокращений 75 уд./мин; СРПВ_{с-р} и СРПВ_{с-т} – скорость распространения пульсовой волны на каротидно-феморальном и каротидно-радиальном сегментах; * – различия статистически значимы при $p < 0,0001$; ** – различия статистически значимы при $p < 0,01$; *** – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

Таблица 3

Сравнительный анализ динамики изучаемых параметров

Table 3

The comparative analysis of investigated parameters dynamics

| Показатель ($M \pm \sigma$) | 1-я группа: амлодипин/лизиноприл ($n = 30$) | 2-я группа: амлодипин/лизиноприл + розувастатин ($n = 30$) |
|--|---|--|
| Δ САД офисное, мм рт. ст. | $-35,8 \pm 26,4$ | $-42,1 \pm 20,3$ |
| Δ ДАД офисное, мм рт. ст. | $-17,3 \pm 14,7$ | $-20,9 \pm 9,8^*$ |
| Δ САД-24, мм рт. ст. | $-21,7 \pm 16,0$ | $-23,4 \pm 15,7$ |
| Δ ДАД-24, мм рт. ст. | $-13,0 \pm 11,6$ | $-13,8 \pm 9,5$ |
| Δ центральное САД, мм рт. ст. | $-35,0 \pm 11,1$ | $-36,8 \pm 18,1$ |
| Δ центральное ДАД, мм рт. ст. | $-18,0 \pm 1,8$ | $-17,7 \pm 8,6$ |
| Δ центральное ПД, мм рт. ст. | $-17,0 \pm 2,3$ | $-18,9 \pm 13,9$ |
| Δ давление прироста, мм рт. ст. | $-6,6 \pm 11,7$ | $-8,0 \pm 5,3$ |
| Δ ИА75, % | $-4,0 \pm 13,0$ | $-8,9 \pm 8,2^*$ |
| Δ ИА, % | $-4,8 \pm 19,0$ | $-9,4 \pm 8,6^*$ |
| Δ СРПВ _{с-г} , м/с | $-0,9 \pm 1,5$ | $-0,7 \pm 1,4$ |
| Δ СРПВ _{с-г} , м/с | $-0,7 \pm 2,3$ | $-0,7 \pm 1,5$ |

Примечание. Δ – разница между исходными показателями и показателями через 24 недели; * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

Согласно полученным нами данным, на фоне приёма сопоставимых доз антигипертензивных препаратов в обеих группах в одинаковой степени уменьшилось клиническое САД и среднесуточное САД и ДАД. В группе дополнительного приёма розувастатина отмечены более выраженное снижение клинического ДАД и тенденция к большему снижению клинического САД. Целевой уровень АД в этой группе был достигнут у существенно большего количества пациентов – 83,3 % против 50,0 % в группе приёма стандартной АД-снижающей терапии. Этот факт находит отражение в работах других авторов [1, 6]. Вероятно, АД-снижающее действие розувастатина реализуется с помощью ряда механизмов: стимуляции выработки окиси азота эндотелием, уменьшения продукции эндотелина-1, снижения экспрессии рецепторов первого типа к ангиотензину-II, подавления синтеза активных форм кислорода, уменьшения уровня провоспалительных цитокинов в крови [18]. В липидснижающей ветви испытания ASCOT снижение АД под влиянием аторвастатина начиналось с 6-й недели терапии [11]. В исследовании CAFÉ-ASCOT было доказано, что комбинация АКК и ингибитора АПФ приводила к увеличению эластичности крупных артерий, в сравнении с терапией бета-блокатором и диуретиком. Это сопровождалось снижением риска осложнений АГ [11, 19]. Уменьшение ригидности сосудов на фоне приёма комбинации амлодипин/лизиноприл изучено в ряде работ. В ходе 6-месячной терапии [8] она превзошла комбинацию эналаприл/гидрохлортиазид по способности снижать СРПВ по аорте. Однако в другом исследовании изучаемая комбинация не оказала существенного влияния на скорость пульсовой волны у мужчин с АГ, но привела к статистически значимому снижению периферического и центрального АД, ПД и ИА [4]. Полученные нами данные подтверждают вазопротективный эффект фиксированной комбинации амлодипин/

лизиноприл в виде снижения АД в аорте (САД, ДАД и ПД), уменьшения давления прироста, ИА и СРПВ на каротидно-фemorальном сегменте.

Вазопротективное действие статинов объясняется липидснижающим эффектом и некоторыми плейотропными механизмами, в частности, стимуляцией продукции окиси азота эндотелием. В исследованиях последних лет изучалось влияние статинов на некоторые параметры сосудистой жёсткости. Так, в рандомизированном исследовании СТРЕЛА (2012) на фоне 5-недельной терапии статинами зафиксировано снижение индекса жёсткости, незначительное уменьшение индексов аугментации и отражения, прирост амплитуды пульсовой волны [3]. Эти изменения были более выраженными в группе розувастатина. По данным других авторов, на фоне приёма статинов выявлено снижение ИА и СРПВ_{с-г} [17]. Данные метаанализа показали снижение СРПВ_{с-г} на фоне приёма статинов [12]. Приём фиксированной комбинации амлодипин/лизиноприл/розувастатин у пациентов с АГ и атеросклерозом брахиоцефальных артерий уменьшал аортальное САД и ДАД, СРПВ, ИА и индекс артериальной жёсткости [2]. В другом исследовании перевод с обычной терапии на данную комбинацию и её последующий приём в течение года сопровождался снижением центрального АД и каротидно-фemorальной СРПВ [1]. В нашей работе впервые в сравнительном аспекте выявлена способность розувастатина в дозе 20 мг усиливать антигипертензивный и вазопротективный эффект комбинации АКК и ингибитора АПФ, что привело к снижению всех изученных показателей сосудистой жёсткости и центральной гемодинамики в группе пациентов, получавших тройную комбинацию розувастатина, амлодипина и лизиноприла.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Добавление розувастатина к фиксированной комбинации амлодипин/лизиноприл в лечении больных

АГ высокого/очень высокого сердечно-сосудистого риска сопровождалось дополнительным снижением диастолического АД и индекса аугментации, а также статистически значимым уменьшением скорости распространения пульсовой волны по аорте и артериям среднего калибра.

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

**ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES**

1. Агеев Ф.Т., Бланкова З.Н., Самсонова Н.С. Эффект перевода пациентов с артериальной гипертензией и высоким сердечно-сосудистым риском с обычной гипотензивной терапии на терапию тройной фиксированной комбинацией с розувастатином: исследование «АЛРОЗА» // Кардиология. – 2018. – № S3. – С. 46–54. DOI: 10.18087/cardio.2470

Ageev FT, Blankova ZN, Samsonova NS. (2018). The effect of changing conventional antihypertensive therapy for a triple fixed combination therapy with rosuvastatin in hypertensive patients with high cardiac risk [Effekt perevoda patsientov s arterial'noy gipertenziei i vysokim serdechno-sosudistym riskom s obychnoy gipotenzivnoy terapii na terapiyu troynoy fiksirovannoy kombinatsiei s rozuvastatinom: issledovanie «ALROZA»]. *Kardiologiya*, (S3), 46-54. DOI: 10.18087/cardio.2470

2. Бланкова З.Н., Асланян Н.С. Влияние комбинированной терапии на состояние сосудистой стенки у больных высокого сердечно-сосудистого риска // Системные гипертензии. – 2017. – Т. 14, № 2. – С. 51–55. DOI: 10.26442/2075-082X_14.2.51-55

Blankova ZN, Aslanyan NS. (2017). The effect of combined therapy on the vessel wall in patients with high cardiac risk [Vliyanie kombinirovannoy terapii na sostoyanie sosudistoy stenki u bol'nykh vysokogo serdechno-sosudistogo riska]. *Sistemnye gipertenzii*, 14 (2), 51-55. DOI: 10.26442/2075-082X_14.2.51-55

3. Драпкина О., Палаткина Л., Зятенкова Е. Плейотропные эффекты статинов. Влияние на жёсткость сосудов // Врач. – 2012. – № 9. – С. 5–8.

Drapkina O, Palatkina L, Zyatenkova E. (2012). Pleiotropic effects of statins. Effect on vascular stiffness [Pleyotropnyye efekty statinov. Vliyanie na zhestkost' sosudov]. *Vrach*, (9), 5-8.

4. Дроздецкий С.И., Кучин К.В. Возможности коррекции сосудистой жёсткости с использованием двух режимов терапии // Международный журнал сердца и сосудистых заболеваний. – 2016. – Т. 4, № 9. – С. 25–36. DOI: 10.15829/2311-1623-4-9

Drozdetkiy SI, Kuchin KV. (2016). Possibilities of using two treatment regimen for vascular stiffness correction [Vozmozhnosti korrektsii sosudistoy zhestkosti s ispol'zovaniem dvukh rezhimov terapii]. *Mezhdunarodnyy zhurnal serdtsa i sosudistyykh zabolevaniy*, 4 (9), 25-36.

5. Кароли Н.А., Ребров А.П., Рощина А.А. Сергеева В.А., Архангельская Е.Е. Эффективность и безопасность амлодипина малеата у больных хронической обструктивной болезнью легких и бронхиальной астмой с сопутствующей артериальной гипертензией // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. –

2010. – Т. 6, № 2. – С. 173-178. DOI: 10.20996/1819-6446-2010-6-2-173-178

Karoli NA, Rebrov AP, Roshchina AA, Sergeeva VA, Arkhangelskaya EE. (2010). Efficacy and safety of amlodipine maleate in patients with chronic obstructive pulmonary disease and bronchial asthma with concomitant arterial hypertension [Effektivnost' i bezopasnost' amlodipina maleata u bol'nykh khronicheskoy obstruktivnoy bolezni'yu legkikh i bronkhial'noy astmoy s soputstvuyushchey arterial'noy gipertoniei]. *Ratsional'naya farmakoterapiya v kardiologii*, 6 (2), 173-178. DOI: 10.20996/1819-6446-2010-6-2-173-178

6. Карпов Ю.А. Исследование ТРИУМВИРАТ: снижение риска развития сердечно-сосудистых осложнений у больных АГ с помощью трехкомпонентной комбинации антигипертензивных и липидснижающих препаратов // Кардиология. – 2015. – Т. 55, № 9. – С. 10–15.

Karpov YuA. (2015). TRIUMVIRATE study: reducing cardiac risk in hypertensive patients using triple combination antihypertensive and lipid-lowering drugs [Issledovanie TRIUMVIRAT: snizhenie riska razvitiya serdechno-sosudistyykh oslozheniy u bol'nykh AG s pomoshch'yu trekhkomponentnoy kombinatsii antigipertenzivnykh i lipidsnizhayushchikh preparatov]. *Kardiologiya*, 55 (9), 10-15.

7. Клинические рекомендации. Диагностика и лечение артериальной гипертензии // Кардиологический вестник. – 2015. – Т. 10, № 1. – С. 3–30.

Clinical guidelines. Diagnostics and treatment of arterial hypertension. (2015). [Klinicheskie rekomendatsii. Diagnostika i lechenie arterial'noy gipertonii]. *Kardiologicheskiy vestnik*, 10 (1), 3-30.

8. Кобалава Ж.Д., Котовская Ю.В., Троицкая Е.А. Комбинация блокатора ренинангиотензиновой системы и дигидропиридинового антагониста кальция в лечении артериальной гипертензии // Русский медицинский журнал. – 2010. – № 3. – С. 123–126.

Kobalava ZhD, Kotovskaya YuV, Troitskaya EA. (2010). Combination of the rennin-angiotensin system blocker and dihydropyridine calcium antagonist in the treatment of arterial hypertension [Kombinatsiya blokatora reninan-giotenzinovy sistemy i digidropiridinovogo antagonista kal'tsiya v lechenii arteri-al'noy gipertonii]. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*, (3), 123-126.

9. Протасов К.В., Синкевич Д.А., Решина И.В., Жижко Н.В., Логовикова С.И., Голубева Л.В. Сосудистые эффекты фиксированной комбинации периндоприла аргинина и индапамида у больных артериальной гипертензией // Кардиология. – 2012. – № 9. – С. 8–14.

Protasov KV, Sinkevich DA, Reshina IV, Zhizhko NV, Logovikova SI, Golubeva LV. (2012). Vascular effects of the perindopril arginine and indapamide fixed combination in patients with arterial hypertension [Sosudistye efekty fiksirovannoy kombinatsii perindoprila arginina i indapamida u bol'nykh arterial'noy gipertenziei]. *Kardiologiya*, (9), 8-14.

10. Asmar R. (2001). Effect of antihypertensive agents on arterial stiffness as evaluated by pulse wave velocity: clinical implications. *Am J Cardiovasc Drugs*, 1 (5), 387-397.

11. Dahlöf B, Sever PS, Poulter NR, Wedel H, Beevers DG, Caulfield M, Collins R, Kjeldsen SE, Kristins-

son A, McInnes GT, Mehlsen J, Nieminen M, O'Brien E, Ostergren J; ASCOT Investigators. (2005). Prevention of cardiovascular events with an antihypertensive regimen of amlodipine adding perindopril as required versus atenolol adding bendroflumethiazide as required, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial-Blood Pressure Lowering Arm (ASCOT-BPLA): a multicenter randomised controlled trial. *Lancet*, 366 (9489), 895-906. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)67185-1

12. D'elia L, La Fata E, Iannuzzi A, Rubba PO. (2018). Effect of statin therapy on pulse wave velocity: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Exp Hypertens*, 8, 1-8. DOI: 10.1080/10641963.2017.1411498

13. Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, Pannier B, Vlachopoulos C, Wilkinson I, Struijker-Boudier H; European Network for Non-invasive Investigation of Large Arteries. (2005). Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J*, 27 (21), 2588-2605. DOI: 10.1093/eurheartj/ehl254

14. Laurent S, Katsahian S, Fassot C, Tropeano AI, Gautier I, Laloux B, Boutouyrie P. (2003) Aortic stiffness is an independent predictor of fatal stroke in essential hypertension. *Stroke*, 34 (5), 1203-1206. DOI: 10.1161/01.STR.0000065428.03209.64

15. Muiesan ML, Salvetti M, Monteduro C, Rizzoni D, Zulli R, Corbellini C, Brun C, Agabiti-Rosei E. (1999). Effect of treatment on flow-dependent vasodilation of the brachial artery in essential hypertension. *Hypertension*, 33 (1 Pt 2), 575-580.

16. Nürnberger J, Keflioglu-Scheiber A, Opazo Saez AM, Wenzel RR, Philipp T, Schäfers RF. (2002). Augmentation index is associated with cardiovascular risk. *J Hypertens*, 20 (12), 2407-2414. DOI: 10.1097/01.hjh.0000045501.82010.f

17. Schaefer CA, Blatzheim AK, Passon SG, Pausewang KS, Schahab N, Nickenig G, Skowasch D, Schueler R, Hammerstingl C, Pingel S. (2017). Modulation of carotid strain by statin therapy in atherosclerosis patients. *Vasa*, 46 (2), 108-115. DOI: 10.1024/0301-1526/a000596


18. Strazzullo P, Kerry SM, Barbato A, Versiero M, D'Elia L, Cappuccio FP. (2007). Do statins reduce blood pressure: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Hypertension*, 49 (4), 792-798. DOI: 10.1161/01.HYP.0000259737.43916.42


19. Williams B, Lacy PS, Thom SM, Cruickshank K, Stanton A, Collier D, Hughes AD, Thurston H, O'Rourke M; CAFE Investigators; Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial Investigators; CAFE Steering Committee and Writing Committee. (2006). Differential impact of blood pressure-lowering drugs on central aortic pressure and clinical outcomes: principal results of the Conduit Artery Function Evaluation (CAFE) study. *Circulation*, 113 (9), 1213-1225. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.595496


20. Willum-Hansen T, Staessen JA, Torp-Pedersen C, Rasmussen S, Thijs L, Ibsen H, Jeppesen J. (2006). Prognostic value of aortic pulse wave velocity as index of arterial stiffness in the general population. *Circulation*, 113 (5), 664-670. DOI: 0.1161/CIRCULATIONAHA.105.579342


Сведения об авторах


Information about the authors


Федоришина Ольга Васильевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры кардиологии и функциональной диагностики, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100; тел. (3952) 46-03-18; e-mail: olff@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0002-0155-676X>

Fedorishina Olga Vasilyevna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor at the Department of Cardiology and Functional Diagnostics, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (664049, Irkutsk, Yubileyniy, 100; tel. (3952) 46-03-18; e-mail: olff@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0002-0155-676X>

Протасов Константин Викторович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой кардиологии и функциональной диагностики, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (тел. (3952) 46-11-35; e-mail: protassov_k@rambler.ru)  <http://orcid.org/0000-0002-6516-3180>

Protasov Konstantin Viktorovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Cardiology and Functional Diagnostics, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (tel. (3952) 46-11-35; e-mail: protassov_k@rambler.ru)  <http://orcid.org/0000-0002-6516-3180>

Торунова Анна Михайловна – ассистент кафедры терапии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (тел. (3952) 63-85-29; e-mail: torunova.am@gmail.com)  <http://orcid.org/0000-0001-9588-1709>

Torunova Anna Mikhailovna – Teaching Assistant at the Department of General Medicine, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (tel. (3952) 63-85-29; e-mail: torunova.am@gmail.com)  <http://orcid.org/0000-0001-9588-1709>

ГЕНЕТИКА, ПРОТЕОМИКА И МЕТАБОЛОМИКА GENETICS, PROTEOMICS AND METABOLOMICS

DOI: 10.29413/ABS.2018-3.5.5

УДК 579.61:616-078 + 575.112

Арефьева Н.А. ¹, Джиоев Ю.П. ², Борисенко А.Ю. ², Чемерилова В.И. ¹, Вятчина О.Ф. ¹,
Секерина О.А. ², Степаненко Л.А. ², Маркова Ю.А. ³, Юринова Г.В. ¹, Саловарова В.П. ¹,
Приставка А.А. ¹, Кузьмина В.А. ¹, Рева О.Н. ⁴, Злобин В.И. ²

Биоинформационный поиск структур CRISPR/Cas-системы в геноме плазмиды pCT281 штамма *Bacillus thuringiensis subsp. chinensis* CT-43 *

¹ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет»
(664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1, Россия)

² ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России
(664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

³ ФГБУН «Сибирский институт физиологии и биохимии растений» СО РАН
(664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132, Россия)

⁴ Центр биоинформатики и компьютерной биологии,
Кафедра биохимии, генетики и микробиологии, Университет Претории
(Pretoria 0002, Private Bag X20, Hatfield, 0028, South Africa)

Введение. Современные методы биоинформатики позволяют проводить поиск и анализ функционально важных участков в геноме. Одними из таких участков в геноме бактерий являются локусы CRISPR/Cas-систем, выполняющих роль «адаптивной иммунной защиты» от чужеродных нуклеиновых кислот. Поиск и анализ структур CRISPR/Cas-систем в геномах плазмид и фагов предоставляет новую информацию об эволюции данных систем в бактериальных хозяевах.

Цель исследования: поиск структур CRISPR/Cas-систем в геноме плазмиды pCT281 штамма *Bacillus thuringiensis subsp. chinensis* CT-43 при помощи методов биоинформатики.

Материалы и методы. Материалом для исследования являлся геном плазмиды pCT281 штамма *B. thuringiensis subsp. chinensis* CT-43, загруженный из базы данных RefSeq. Для идентификации cas-генов была использована программа MacSyFinder (ver. 1.0.5). Детекция CRISPR-кассет проводилась при помощи трёх приложений: CRISPRFinder, PILER-CR, CRISPR Recognition Tool (CRT). Консенсусная структура повторов получена в WebLogo 3. Результаты и обсуждение. В плазмиде pCT281 был выявлен один локус CRISPR/Cas-системы типа I-C. В данном локусе были идентифицированы две CRISPR-кассеты, между которыми расположены последовательности из четырёх cas-генов. В первой CRISPR-кассете зафиксированы последовательности 10 спейсеров размером от 32 до 35 пар нуклеотидов (п. н.) и 11 повторов (32 п. н.). Во второй CRISPR-кассете обнаружены последовательности 5 спейсеров (33–53 п. н.), разделённых шестью повторами по 32 п. н.

Выводы. Используемые биоинформационные методы позволяют эффективно проводить поиск структур CRISPR/Cas-системы в мобильных элементах генома. Наличие CRISPR-кассет и cas-генов в плазмиде pCT281 может свидетельствовать о возможной передаче CRISPR/Cas-системы от бактериальной хромосомы данной плазмиды. Выявленные спейсерные последовательности CRISPR-кассет предоставляют информацию о фагах, с которыми данная бактерия встречалась.

Ключевые слова: CRISPR/Cas-система, *Bacillus thuringiensis subsp. chinensis* CT-43, плаزمида pCT281, методы биоинформатики

Для цитирования: Арефьева Н.А., Джиоев Ю.П., Борисенко А.Ю., Чемерилова В.И., Вятчина О.Ф., Секерина О.А., Степаненко Л.А., Маркова Ю.А., Юринова Г.В., Саловарова В.П., Приставка А.А., Кузьмина В.А., Рева О.Н., Злобин В.И. Биоинформационный поиск структур CRISPR/Cas-системы в геноме плазмиды pCT281 штамма *Bacillus thuringiensis subsp. chinensis* CT-43. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 33–38, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.5.

Bioinformatic Search of CRISPR/Cas System Structures in Genome of pCT281 Plasmid of *Bacillus thuringiensis subsp. chinensis* Strain CT-43

Arefyeva N.A. ¹, Dzhioev Yu.P. ², Borisenko A.Yu. ², Chemerilova V.I. ¹, Vyatchina O.F. ¹,
Sekerina O.A. ², Stepanenko L.A. ², Markova Yu.A. ³, Yurina G.V. ¹, Salovarova V.P. ¹,
Pristavka A.A. ¹, Kuzminova V.A. ¹, Reva O.N. ⁴, Zlobin V.I. ²

¹ Irkutsk State University
(ul. Karla Marksa 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

* Статья опубликована на основании доклада на III Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, октябрь, 2018).

² Irkutsk State Medical University
(ul. Krasnogo Vosstaniya 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

³ Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, SB RAS
(ul. Lermontova 132, Irkutsk 664033, Russian Federation)

⁴ Centre for Bioinformatics and Computational Biology,
Department of Biochemistry, Genetics and Microbiology, University of Pretoria
(Pretoria 0002, Private Bag X20, Hatfield, 0028, South Africa)

Background. CRISPR/Cas systems loci are one of the functionally important patterns in bacterial genome which perform the role of "adaptive immune defense" from foreign nucleic acids. The study of CRISPR/Cas systems structure in genomes of plasmids and phages provide new information about the evolution of this systems in bacterial hosts.

Aims. A search of CRISPR/Cas systems structures in pCT281 plasmid from *Bacillus thuringiensis* subsp. *chinensis* strain CT-43 using bioinformatic methods.

Materials and methods. Search studies using bioinformatics methods were performed with the genome of pCT281 plasmid of *B. thuringiensis* subsp. *chinensis* strain CT-43 from the RefSeq database. To search for the CRISPR/Cas system structure MacSyFinder (ver. 1.0.5) and three combined algorithms were used: CRISPRFinder; PILER-CR; CRISPR Recognition Tool (CRT). The consensus repeat sequence was generated in WebLogo 3.

Results and discussion. In pCT281 plasmid we detected one locus of CRISPR/Cas system of the type I-C which contains 2 CRISPR-cassettes and 4 *cas*-genes located between them. The CRISPR-cassette 1 includes 10 spacers from 32 to 35 bp and 11 repeats 32bp in length. 5 spacers (33–35 bp) separated by 6 repeats 32 bp in length were detected in the CRISPR-cassette 2.

Conclusions. The bioinformatic methods used in this study enable to conduct a search of CRISPR/Cas systems structures in plasmid genomes. The presence of the CRISPR-Cas locus in pCT281 plasmid confirms a possible transfer of this system from the nucleoid to this plasmid. The detected spacers provide information about phages this bacteria was encountered.

Key words: CRISPR/Cas-system, *Bacillus thuringiensis* subsp. *chinensis* CT-43, pCT281 plasmid, bioinformatic methods

For citation: Arefyeva N.A., Dzhioev Yu.P., Borisenko A.Yu., Chemerilova V.I., Vyatchina O.F., Sekerina O.A., Stepanenko L.A., Markova Yu.A., Yurina G.V., Salovarova V.P., Pristavka A.A., Kuzminova V.A., Reva O.N., Zlobin V.I. Bioinformatic Search of CRISPR/Cas System Structures in Genome of pCT281 Plasmid of *Bacillus thuringiensis* subsp. *chinensis* Strain CT-43. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 33-38, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.5.

ВВЕДЕНИЕ

Методы биоинформатики всё шире применяются в различных областях биологии и медицины: при анализе данных высокопроизводительного секвенирования геномов, для предсказания пространственной структуры белков, при изучении фенотипических признаков организмов и т. д. Сегодня для решения конкретной биологической задачи уже рутинными процедурами стали обращение к базам данных нуклеотидных и белковых последовательностей, использование компьютерных программ для обработки биологических данных [7]. Особенно активно ведутся исследования в области фундаментальной природы генетических свойств бактерий [14].

Грамположительные спорообразующие бактерии вида *Bacillus thuringiensis* (Bt) обладают способностью продуцировать инсектицидные белки (также именуемые δ-эндотоксинами или Cгу-токсинами) в виде кристаллических включений. Эти эндотоксины оказались эффективными против многих видов насекомых, являющихся вредителями растений или переносчиками таких болезней человека, как лихорадка денге и малярия. Бактерии вида Bt также обладают уникальными свойствами, обеспечивающими выживание в различных стрессовых условиях, в том числе при встрече с чужеродными вирусными (бактериофагами) и плазмидными агентами [17, 18]. Последнее является особенно интересным, поскольку в хромосоме штаммов Bt, представленных в базах данных CRISPRdb (<http://crispr.u-psud.fr/crispr/CRISPRdatabase.php>) и CRISPI (<http://crispi.genouest.org>), не было найдено системы CRISPR/Cas, являющейся одним из механизмов иммунной

защиты бактерий от чужеродных нуклеиновых кислот [11, 19].

За последние несколько лет были открыты молекулярные механизмы функционирования CRISPR/Cas-систем (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR-associated proteins, или короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами с CRISPR-ассоциированными белками) представляющих собой набор повторяющихся последовательностей (repeat) длиной 21–48 пар нуклеотидов (п. н.), разделённых уникальными сайтами – спейсерами (spacer), комплементарными участкам фагов и плазмид, к которым данная бактерия имеет иммунитет [4, 9, 20]. Функционирование CRISPR-локусов обеспечивается набором *cas*-генов, организованных в адаптационный и эффекторный функциональные модули, кодирующие субъединицы соответствующих комплексов. Адаптационный белковый комплекс добавляет новые спейсеры в CRISPR-кассету. Эффекторный комплекс осуществляет распознавание и уничтожение чужеродных генетических элементов. На основании организации эффекторного комплекса CRISPR/Cas-системы разделяют на два класса, пять типов и шестнадцать подтипов. Первый класс является самым распространённым (около 90 % от всего разнообразия CRISPR/Cas-систем) и включает CRISPR/Cas-системы, имеющие мультибелковый эффекторный комплекс. На основании его сигнатурных субъединиц (Cas3, Cas10, Csf1) первый класс разделён на три типа (Типы I, III, IV). У CRISPR/Cas-систем второго класса (Типы II, V) эффекторный комплекс состоит из одного мультидоменного белка: Cas9 – у типа II, Cpf1 – у типа V [13]. Изучение разноо-

бразия CRISPR-Cas локусов и механизмов их функционирования лежит в основе разработки технологий направленного редактирования геномов прокариот и эукариот [8]. Поиск и анализ структур CRISPR/Cas-систем в геномах плазмид и фагов является новым направлением в исследовании генетической природы формирования и развития данных систем в геноме бактерий.

Целью данной работы был поиск структур CRISPR/Cas-систем в геноме плазмиды pCT281 штамма *Bacillus thuringiensis subsp. chinensis* CT-43 при помощи методов биоинформатики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования стал геном плазмиды pCT281 (NC_017203) штамма *Bacillus thuringiensis subsp. chinensis* CT-43 (NC_017208.1), загруженный из базы данных RefSeq. Бактериальный штамм был выделен в Китае и классифицирован как новый подвид *B. thuringiensis subsp. chinensis* CT-43 [12]. Его геном представлен кольцевой хромосомой длиной 5 486 830 пар оснований, кодирующих 6 105 белков. В цитоплазме штамма выявлено 10 кольцевых плазмид, самой крупной из которых является плазида pCT281 с размером генома 281 231 пар нуклеотидов (п. н.). В данной плазмиде обнаружено четыре ICP-гена: *cry1Aa3* (CT43_P281270), *cry1Aa14* (CT43_P281271), *cry2Aa9* (CT43_P281278) и *cry2Ab1* (CT43_P281265), – и один вегетативный ген инсектицидного белка *vip3Aa10* (CT43_P281262).

Биоинформационный поиск элементов CRISPR/Cas-систем был проведён с использованием ранее разработанного алгоритма, адаптированного для детекции данных структур в геноме плазмид [1]. Идентификацию CRISPR-ассоциированных генов проводили через белковый профиль исследуемого генома при помощи программы MacSyFinder (ver. 1.0.5), осуществляющей поиск гомологичных последовательностей на базе программных пакетов HMMER (ver. 3.1) и makeblastdb (ver. 2.7.1) [2]. Для детекции и анализа структуры CRISPR-кассет использовали три приложения, основанные на разных алгоритмах поиска: CRISPRfinder; PILER-CR; CRISPR Recognition Tool (CRT) [3, 6, 10]. Выравнивание последовательностей межспейсерных повторов и получение их консенсусной структуры было сделано в приложении WebLogo 3 [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При помощи использованных программных средств в плазмиде pCT281 штамма *Bacillus thuringiensis subsp. chinensis* CT-43 был выявлен один локус CRISPR/Cas-системы, отнесённый к типу I подтипу C. Впервые данный подтип систем был структурно и функционально охарактеризован у *Bacillus halodurans* [15]. Субъединицы адапционного комплекса систем подтипа I-C кодируются генами *cas1*, *cas2*, *cas4*. В состав эффекторного комплекса входят продукты генов *cas3*, *cas5d*, *cas7c*, *cas8c* [13]. Размер найденного CRISPR-Cas локуса составил 9303 п. н. Было обнаружено две CRISPR-касеты, локализованные в позициях 175403–176089 п. н. (CRISPR-

касета 1) и 183063–183424 п. н. (CRISPR-касета 2). Между ними расположена последовательность *cas*-генов: *cas3*, *cas5d*, *cas8c* и *cas7c*. Генов адапционного модуля, обеспечивающего приобретение новых спейсеров, в исследуемой плазмиде обнаружено не было.

В результате программного поиска были выявлены 11 межспейсерных повторов по 32 п. н. в первой CRISPR-кассете. Во второй CRISPR-кассете обнаружено 6 повторов также по 32 п. н. (рис. 1). Между чередующимися повторами в CRISPR-кассете 1 были идентифицированы 10 спейсерных последовательностей с варьирующими размерами длин – от 32 до 35 п. н. В CRISPR-кассете 2 было идентифицировано 5 спейсерных последовательностей (33–35 п. н.) (табл. 1).

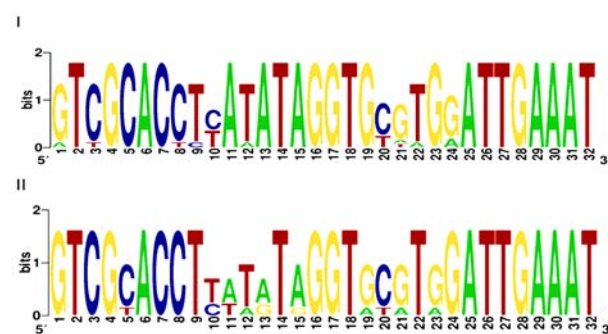


Рис. 1. Консенсусная последовательность повторов в CRISPR-кассете 1 (I) и CRISPR-кассете 2 (II) плазмиды pCT281 штамма *Bacillus thuringiensis serovar chinensis* CT-43.

Fig. 1. The consensus repeat sequence in the CRISPR-cassette 1 (I) and CRISPR-cassette 2 (II) of pCT281 plasmid from *Bacillus thuringiensis serovar chinensis* strain CT-43.

В 2017 году была опубликована работа L.E. Navas et al. по анализу организации плазмиды pFR260 (KX258624.1) из дикого штамма *Bacillus thuringiensis* INTA Fr7-4. В данной плазмиде был обнаружен локус CRISPR/Cas-системы типа I-C. В локусе найдено 3 CRISPR-касеты и 9 *cas*-генов: 3 гена адапционного модуля (*cas1*, *cas2*, *cas4*) и 6 генов эффекторного модуля (*cas3*, *cas8c*, *cas5d* и три копии гена *cas7c*), характерных для систем данного типа. CRISPR-касета 2 содержит 10 повторов, разделённых 9 спейсерами по 33 п. н. Описание структуры повторов и спейсеров в данной кассете, а также информация об организации двух других CRISPR-кассет не были приведены. В работе также сообщалось о том, что гомологичная последовательность *cas*-генов была найдена в плазмидах ещё двух штаммов: *pBT1850294* (NZ_CP014284.1) из *B. thuringiensis* Bt185 и *pVTHD521-5* (NZ_CP010111.1) из *B. thuringiensis serovar indiana* HD521 [16]. Однако структуры CRISPR-локусов в этих плазмидах не были описаны. Опубликованные данные по анализу структур CRISPR/Cas-систем в других плазмидах из *B. thuringiensis* к настоящему времени отсутствуют в известных базах данных научных публикаций.

Согласно полученным результатам, отработанный биоинформационный алгоритм позволяет проводить поиск и анализ CRISPR/Cas-систем в геномах плазмид и фагов, связанных со штаммами вида *B. thuringiensis*, а также рода *Bacillus*. Наличие в плазмиде pCT281 структур CRISPR/Cas-системы

Таблица 1
Нуклеотидные последовательности спейсеров в CRISPR-кассетах плазмиды pCT281 штамма *Bacillus thuringiensis* serovar *chinensis* CT-43

Table 1
The spacer sequences in the CRISPR-cassettes of pCT281 plasmid from *Bacillus thuringiensis* serovar *chinensis* strain CT-43

| № п/п | Позиция | Спейсер | Размер спейсера |
|-------------------------|---------------|-------------------------------------|-----------------|
| CRISPR-кассета 1 | | | |
| 1 | 175435–175468 | ACAAGATACGAGAATTTAATGACGTCACCCACAT | 34 |
| 2 | 175501–175534 | TATTGTTACACCTTTAGAGTATCCGAGTAAAAAA | 34 |
| 3 | 175567–175601 | ACAATGGGAAAGTGTAGTTATGCACGTTTTAAA | 35 |
| 4 | 175634–175665 | GAAGATAGTAGAAGAAATCAAAAAAAGTGTAT | 32 |
| 5 | 175698–175730 | TTTGTTGCTCCAGTCGTTATGATCGTCTTTGCA | 33 |
| 6 | 175763–175795 | TAGGAGTTATTAATGGCTTTAGATGTTAGACCA | 33 |
| 7 | 175828–175861 | TACCTCGGGTTTATATTATCTGGAATGCCATA | 34 |
| 8 | 175894–175926 | TTTGCAACTAGCTCAATTGTTTTCCGTTTTCA | 33 |
| 9 | 175959–175992 | TACCTCGGGTTTATATTATCTGGAACGCTCATA | 34 |
| 10 | 176025–176057 | ATAATATACAATTTTGACAAAATTCAGTCATG | 33 |
| CRISPR-кассета 2 | | | |
| 1 | 183095–183129 | CATTGGCGGTAGTTCATAAGTAACAACAATGGAT | 35 |
| 2 | 183162–183195 | ATGATATTCAAAGAGCCTGAACAAGTGAATCGA | 34 |
| 3 | 183228–183262 | ATAATTGAATATGAGCTGCCGCCGATGGAAGGGAC | 35 |
| 4 | 183295–183327 | ATGGAAATGGAACGTTCTTACGGATCAAAAGAA | 33 |
| 5 | 183360–183392 | ATGTAGCTGGTATTAATGCTTTGTGAAAAACAA | 33 |

может свидетельствовать о возможной передаче функции защиты бактерии от фаговой и плазмидной ДНК данной плазмиде. Также можно предположить, что CRISPR/Cas-система может горизонтально передаваться при помощи плазмид другим видам бактерий. Полученные данные о наличии локусов CRISPR/Cas-системы в плаزمиде важны для понимания роли мобильных элементов генома в эволюции штаммов *Bacillus thuringiensis*. Данная информация является важной для разработки платформы таргетной фаговой терапии инфекционных заболеваний, вызываемых патогенными типами бактерий.

ВЫВОДЫ

1. Используемые биоинформационные методы и разработанный алгоритм поиска позволяют выявлять структуры CRISPR/Cas-систем в геномах бактерий, а также в геномах плазмид и фагов.

2. Наличие CRISPR-кассет и *cas*-генов в плазмиде pCT281 может свидетельствовать о возможной передаче локуса CRISPR/Cas-системы от бактериальной хромосомы данной плазмиде, а также о горизонтальной передаче CRISPR/Cas-систем в бактериальных сообществах.

3. Расшифрованные спейсерные последовательности CRISPR-кассет в исследуемой плазмиде предоставляют информацию о протоспейсерах фагов и чужеродных плазмид, к которым данный бактериальный штамм имеет устойчивость.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Перетолчина Н.П., Джиоев Ю.П., Борисенко А.Ю., Воскресенская Е.А., Парамонов А.И., Степаненко Л.А., Колбасеева О.В., Злобин В.И. Биоинформационный анализ CRISPR/Cas системы штамма *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953 // *Acta biomedica scientifica*. – 2016. – № 5. – С. 64–68.

Peretolchina NP, Dzhioev YuP, Borisenko AYU, Voskresenskaya EA, Paramonov AI, Stepanenko LA, Kolbaseeva OV, Zlobin VI. (2016). Bioinformatics analysis of *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953 CRISPR/Cas system. *Acta biomedica scientifica*, (5), 64-68.

2. Abby SS, Neron B, Menager H, Touchon M, Rocha EPC. (2014). MacSyFinder: A program to mine genomes for molecular systems with an application to CRISPR-Cas systems. *PLoS One*, 9 (10), 110726. DOI: 10.1371/journal.pone.0110726.

3. Bland C, Ramsey TL, Sabree F, Lowe M, Brown K, Kyrpides NC, Hugenholtz P. (2007). CRISPR recognition tool (CRT): a tool for automatic detection of clustered regularly interspaced palindromic repeats. *BMC Bioinformatics*, 8 (209), 1-8. DOI: 10.1186/1471-2105-8-209.

4. Bolotin A, Quinquis B, Sorokin A, Ehrlich SD. (2005). Clustered regularly interspaced short palindrome repeats (CRISPRs) have spacers of extrachromosomal origin. *Microbiology*, 151, 2551-2561. DOI: 10.1099/mic.0.28048-0.

5. Crooks GE, Hon G, Chandonia JM, Brenner SE. (2004). WebLogo: a sequence logo generator. *Genome Res*, 14 (6), 1188-1190. DOI: 10.1101/gr.849004.

6. Edgar RC. (2007). PILER-CR: Fast and accurate identification of CRISPR repeats. *BMC Bioinformatics*, 8 (18), 1-6. DOI: 10.1186/1471-2105-8-18.
7. Fernald GH, Capriotti E, Daneshjou R, Karczewski KJ, Altman RB. (2011). Bioinformatics challenges for personalized medicine. *Bioinformatics*, 27 (13), 1741-1748. DOI: 10.1093/bioinformatics/btr295.
8. Gaj T, Gersbach CA, Barbas CF. (2013). ZFN, TALEN and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends Biotechnol*, 31 (7), 397-405. DOI: 10.1016/j.tibtech.2013.04.004.
9. Gasiunas G, Sinkunas T, Siksnys V. (2014). Molecular mechanisms of CRISPR-mediated microbial immunity. *Cell Mol Life Sci*, 71 (3), 449-465. DOI: 10.1007/s00018-013-1438-6.
10. Grissa I, Vergnaud G, Pourcel C. (2007). CRISPRFinder: a web tool to identify clustered regularly interspaced short palindromic repeats. *Nucleic Acids Research*, 35, W52-W57. DOI: 10.1093/nar/gkm360.
11. Grissa I, Vergnaud G, Pourcel C. (2007). The CRISPRdb database and tools to display CRISPRs and to generate dictionaries of spacers and repeats. *BMC Bioinformatics*, 23 (8), 172.
12. He J, Wang J, Yin W, Shao X, Zheng H, Li M, Zhao Y, Sun M, Wang S, Yu Z. (2011). Complete genome sequence of *Bacillus thuringiensis* subsp. *chinensis* strain CT-43. *J Bacteriol*, 193 (13), 3407-3408. DOI: 10.1128/JB.05085-11.
13. Makarova KS, Wolf YI, Alkhnbashi OS, Costa F, Shah SA, Saunders SJ, Barrangou R, Brouns SJ, Charpentier E, Haft DH, Horvath P, Moineau S, Mojica FJ, Terns RM, Terns MP, White MF, Yakunin AF, Garrett RA, van der Oost J, Backofen R, Koonin EV. (2015). An updated evolutionary classification of CRISPR-Cas systems. *Nat Rev Microbiol*, 13 (11), 722-736. DOI: 10.1038/nrmicro3569.
14. Moore JH, Asselbergs FW, Williams SM. (2010). Bioinformatics challenges for genome-wide association studies. *Bioinformatics*, 26 (4), 445-455. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp713.
15. Nam KH, Haitjema C, Liu X, Ding F, Wang H, Delisa MP, Ke A. (2012). Cas5d protein processes pre-crRNA and assembles into a cascade-like interference complex in subtype I-C/Dvulg CRISPR-Cas system. *Structure*, 20 (9), 1574-1584. DOI: 10.1016/j.str.2012.06.016.
16. Navas LE, Amadio AF, Ortiz EM, Sauka DH, Benintende GB, Berretta MF, Zandomeni RO. (2017). Complete sequence and organization of pFR260, the *Bacillus thuringiensis* INTA Fr7-4 plasmid harboring insecticidal genes. *J Mol Microbiol Biotechnol*, 27 (1), 43-54. DOI: 10.1159/000451056.
17. Pardo-Lopez L, Soberon M, Bravo A. (2013). *Bacillus thuringiensis* insecticidal three-domain Cry toxins: mode of action, insect resistance and consequences for crop protection. *FEMS Microbiol Rev*, 37 (1), 3-22. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2012.00341.x.
18. Roh JY, Choi JY, Li MS, Jin BR, Je YH. (2007). *Bacillus thuringiensis* as a specific, safe, and effective tool for insect pest control. *J Microbiol Biotechnol*, 17 (4), 547-559.
19. Rousseau C, Gonnet M, Le Romancer M, Nicolas J. (2009). CRISPI: a CRISPR interactive database. *Bioinformatics*, 25 (24), 3317-3318. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp586.
20. Van der Oost J, Jore MM, Westra ER, Lundgren M, Brouns SJ. (2009). CRISPR-based adaptive and heritable immunity in prokaryotes. *Trends Biochem Sci*, 34 (8), 401-407. DOI: 10.1016/j.tibs.2009.05.002.

Сведения об авторах Information about the authors

Арефьева Надежда Александровна – студентка 3-го курса кафедры физико-химической биологии биолого-почвенного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1; e-mail: arefieva.n4@gmail.com)

Arefieva Nadezhda Alexandrovna – 3rd year student at the Department of Physicochemical Biology of the Faculty of Biology and Soil Science, Irkutsk State University (664003, Irkutsk, ul. Karla Marksa, 1; e-mail: arefieva.n4@gmail.com)

Джигоев Юрий Павлович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной вирусологии и биотехнологии НИИ биомедицинских технологий, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1; e-mail: alanir07@mail.ru) © <https://orcid.org/0000-0001-5410-5113>

Dzhioev Yuri Pavlovich – Candidate of Biological Sciences, Leading Research Officer, Head of the Laboratory of Molecular Virology and Biotechnology, Research Institute of Biomedical Technologies, Irkutsk State Medical University (664003, Irkutsk, ul. Krasnogo Vosstania, 1; e-mail: alanir07@mail.ru) © <https://orcid.org/0000-0001-5410-5113>

Борисенко Андрей Юрьевич – аспирант, ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: 89500720225@mail.ru) © <https://orcid.org/0000-0001-6094-5864>

Borisenko Andrey Yurievich – Postgraduate, Teaching Assistant at the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Irkutsk State Medical University (e-mail: 89500720225@mail.ru) © <https://orcid.org/0000-0001-6094-5864>

Чемерилова Валентина Ивановна – кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии биолого-почвенного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (e-mail: valchem@yandex.ru)


Chemirilova Valentina Ivanovna – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor at the Department of Microbiology of the Faculty of Biology and Soil Science, Irkutsk State University (e-mail: valchem@yandex.ru)


Вятчина Ольга Федоровна – кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии биолого-почвенного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (olgairk3@rambler.ru)

Vyatchina Olga Fedorovna – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor at the Department of Microbiology of the Faculty of Biology and Soil Science, Irkutsk State University (e-mail: olgairk3@rambler.ru)

Секерина Ольга Александровна – кандидат биологических наук, доцент кафедры медицинской биологии медико-профилактического факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: o.sekerina@ismu.baikal.ru)

Sekerina Olga Aleksandrovna – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor at the Department of Medical Biology of the Public Health Faculty, Irkutsk State Medical University (o.sekerina@ismu.baikal.ru)

Степаненко Лилия Александровна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии и биотехнологии НИИ биомедицинских технологий, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: steplia@mail.ru)  <https://orcid.org/0000-0002-5792-7283>

Stepanenko Lilia Alexandrovna – Candidate of Medical Sciences, Senior Research Officer at the Laboratory of Molecular Virology and Biotechnology, Research Institute of Biomedical Technologies, Irkutsk State Medical University (e-mail: steplia@mail.ru)  <https://orcid.org/0000-0002-5792-7283>

Маркова Юлия Александровна – доктор биологических наук, старший научный сотрудник, заведующая лабораторией растительно-микробных взаимодействий, ФГБУН «Сибирский институт физиологии и биохимии растений» СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132, а/я 317; e-mail: juliam06@mail.ru)

Markova Yulia Alexandrovna – Doctor of Biological Sciences, Senior Research Officer, Head of the Laboratory of Plant Microbial Interactions, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry, SB RAS (664033, Irkutsk, ul. Lermontova, 132, P.O.B. 317; e-mail: juliam06@mail.ru)

Юринова Галина Валерьевна – кандидат биологических наук, доцент кафедры физико-химической биологии биолого-почвенного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (e-mail: yurinova@yandex.ru)

Yurinova Galina Valerievna – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor at the Department of Physicochemical Biology of the Faculty of Biology and Soil Science, Irkutsk State University (e-mail: yurinova@yandex.ru)

Саловарова Валентина Петровна – доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой физико-химической биологии биолого-почвенного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (e-mail: vsalovarova@rambler.ru)

Salovarova Valentina Petrovna – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Physicochemical Biology of the Faculty of Biology and Soil Science, Irkutsk State University (e-mail: vsalovarova@rambler.ru)

Приставка Алексей Александрович – кандидат биологических наук, доцент кафедры физико-химической биологии биолого-почвенного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (e-mail: pristavk@gmail.com)

Pristavka Aleksey Aleksandrovich – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor at the Department of Physicochemical Biology of the Faculty of Biology and Soil Science, Irkutsk State University (e-mail: pristavk@gmail.com)

Кузьминова Валерия Андреевна – студентка 3-го курса кафедры физико-химической биологии биолого-почвенного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (e-mail: ewwwrye@gmail.com)

Kuzminova Valeria Andreevna – 3rd year student at the Department of Physicochemical Biology of the Faculty of Biology and Soil Science, Irkutsk State University (e-mail: ewwwrye@gmail.com)

Рева Олег Николаевич – кандидат биологических наук, доцент Центра биоинформатики и компьютерной биологии, кафедры биохимии, генетики и микробиологии, Университет Претории (ЮАР) (Pretoria 0002, Private Bag X20, Hatfield, 0028, South Africa; e-mail: reva@mail.ru)

Reva Oleg Nikolaevich – PhD in Biology, Associate Professor, Centre for Bioinformatics and Computational Biology, Department of Biochemistry, Genetics and Microbiology, University of Pretoria (Pretoria 0002, Private Bag X20, Hatfield, 0028, South Africa; e-mail: reva@mail.ru)

Злобин Владимир Игоревич – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии, директор НИИ биомедицинских технологий, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: vizlobin@mail.ru)

Zlobin Vladimir Igorevich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of RAS, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Director of the Research Institute of Biomedical Technologies, Irkutsk State Medical University (e-mail: vizlobin@mail.ru)

Баирова Т.А. ¹, Новикова Е.А. ¹, Белялов Ф.И. ², Щедреева Е.А. ⁴, Иевлева К.Д. ¹,
Калюжная О.В. ¹, Ершова О.А. ¹, Пустозеров В.Г. ^{2,3}, Ковалева О.А. ³, Распутина И.В. ⁴,
Носкова И.А. ⁵, Батогова Т.В. ⁴, Кузнецова О.В. ⁴, Богослова О.Ю. ⁴, Колесников С.И. ^{1,6}

Распространённость полиморфизмов генов цитохромов P450 – метаболизаторов варфарина – в Восточной Сибири *

¹ ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»
(664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

² Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО
«Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России
(664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

³ ГБУЗ «Областной гериатрический центр»
(664025, г. Иркутск, ул. Ленина, 20а, Россия)

⁴ ОГАУЗ «Городская клиническая больница № 10»
(664043, г. Иркутск, б. Рябикова, 31А, Россия)

⁵ ОГБУЗ «Иркутская городская поликлиника № 4»
(664058, г. Иркутск, Первомайский, 23А, Россия)

⁶ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»
(119234, г. Москва, Ленинские Горы, 1, Россия)

Обоснование. Гены ферментов цитохрома P450 участвуют в метаболизме непрямых антикоагулянтов, определяя индивидуальную чувствительность к варфарину. Распространённость полиморфизмов указанных генов вариативна в разных расах и этнических группах.

Цель исследования: выявление распространённости носителей генотипов и аллелей полиморфизмов генов биотрансформации варфарина – ферментов цитохрома P450 (CYP2C9 (rs1799853, rs1057910), гена CYP4F2 (rs2108622)) среди европеоидов Восточной Сибири.

Методы. Участники исследования – 147 пациентов (европеоидов), принимающих варфарин для профилактики тромбозомболических осложнений: при фибрилляции предсердий – 77 (52,38 %) человек; после имплантации искусственного механического клапана – 15 (10,20 %); при ишемической болезни сердца – 10 (6,80%); после ТЭЛА – 5 (3,40 %) и др. Средний возраст обследованных – 64,74 ± 14,29 лет; 67 (45,58 %) мужчин, 80 (54,42 %) женщин. Генотипирование каждого образца проводили методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (РТ-ПЦР) с использованием наборов реагентов «ФармакоГенетикаВарфарин» (ДНК-технология, Россия). Амплификацию проводили на приборе «ДТ-прайм» (ДНК-технология, Россия).

Результаты. Среди европеоидов Восточной Сибири распространённость носителей двух функциональных аллелей (*1/*1) (экстенсивные/нормальные метаболизаторы) составляет 69,4 %, промежуточных метаболизаторов (*1/*2; *1/*3) – 29,8 %, медленных метаболизаторов (*3/*3) – 0,68 %. Отсутствуют гомозиготные носители двух нефункциональных аллелей *2 и *3 (*2/*2, *2/*3). Для гена CYP4F2 носительство одной кумаринорезистентной аллели выявлено у 57 (38,7 %) респондентов, двух кумаринорезистентных аллелей – у 10 (6,8 %) респондентов.

Заключение. Распространённость рискованных аллелей генов ферментов системы цитохромов P450, принимающих участие в биотрансформации варфарина, сопоставима с аналогичными показателями в других европеоидных популяциях мира.

Ключевые слова: варфарин, европеоиды, CYP2C9, CYP4F2, фармакогенетика, персонализированная медицина, Восточная Сибирь

Для цитирования: Баирова Т.А., Новикова Е.А., Белялов Ф.И., Щедреева Е.А., Иевлева К.Д., Калюжная О.В., Ершова О.А., Пустозеров В.Г., Ковалева О.А., Распутина И.В., Носкова И.А., Батогова Т.В., Кузнецова О.В., Богослова О.Ю., Колесников С.И. Распространённость полиморфизмов генов цитохромов P450-метаболизаторов варфарина в Восточной Сибири. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 39-48, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.6.

Frequencies of Polymorphisms in the Cytochrome's P450 Genes of Warfarin Transformation in a European Population of Eastern Siberia

Bairova T.A. ¹, Novikova E.A. ¹, Belyalov F.I. ², Shchedreeva E.A. ⁴, Ievleva K.D. ¹,
Kalyuzhnaya O.V. ¹, Ershova O.A. ¹, Pustozеров V.G. ^{2,3}, Kovaleva O.A. ³, Rasputina I.V. ⁴,
Noskova I.A. ⁵, Batogova T.V. ⁴, Kuznetsova O.V. ⁴, Bogoslova O.Yu. ⁴, Kolesnikov S.I. ^{1,6}

¹ Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems
(ul. Timiryazeva 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)

² Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education –
Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education
(Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

* Статья опубликована на основании доклада на III Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, октябрь, 2018).

³ Regional Geriatric Centre
(ul. Lenina 20A, Irkutsk 664025, Russian Federation)

⁴ City Clinical Hospital N 10
(b. Ryabikova 31A, Irkutsk 664043, Russian Federation)

⁵ Irkutsk City Polyclinic N 4
(Pervomayskiy 23A, Irkutsk 664058, Russian Federation)

⁶ Lomonosov Moscow State University
(Leninskie Gory 1, Moscow 119234, Russian Federation)

Background. Genotypes of the cytochrome p450 isoform (CYP2C9 and CYP4F2) determine warfarin dose requirements. Frequencies of risk alleles and genotypes of CYP2C9 and CYP4F2 gene vary in different races and ethnic groups.

Aim. This study analyzed the frequencies of *2, *3 alleles of CYP2C9 gene and the 1347 C>T allele of CYP4F2 gene in the Caucasians of Eastern Siberia, and compare with other populations.

Materials and methods. Participants were 147 patients (Caucasians): 67 (45.58 %) man and 80 (54.42 %) women, taking warfarin for the prevention of thrombosis with a mean age of 64.74 ± 14.29 years. There were patients with atrial fibrillation – 77 (52.38 %) persons, coronary artery disease – 10 (6.80 %), pulmonary embolism – 5 (3.40 %), 15 (10.20 %) patients after implantation of a mechanical heart valve, etc. The subjects were genotyped for CYP2C9 (*1,*2,*3), and CYP4F2 (1347 C>T) by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) using "Pharmacogenetics Warfarin" reagent kits (DNA technology, Russia).

Results. 69.4 % of Caucasians of Eastern Siberia (Russians), have two functional alleles (*1/*1) of CYP2C9 (they're extensive/normal metabolizers), the number of intermediate metabolizers (*1/*2, *1/*3) was 29.8 % and 0.68 % of slow metabolizers (*3/*3). Homozygous carriers of two non-functional alleles *2 and *3 (*2/*2, *2/*3) were absent. Carriers of one coumarin-resistant T-allele of CYP4F2 were 57 (38.7 %) respondents, two coumarin-resistant alleles – 10 (6.8 %) respondents.

Conclusions. Frequencies of polymorphisms in the Cytochrome's p450 genes of warfarin transformation in a European population of Eastern Siberia have no differences with other European populations of the world.

Key words: warfarin, biotransformation, European, CYP2C9, CYP4F2, pharmacogenetics, personalized medicine, Russians, Caucasians

For citation: Bairova T.A., Novikova E.A., Belyalov F.I., Shchedreeva E.A., Ievleva K.D., Kalyuzhnaya O.V., Ershova O.A., Pustozerov V.G., Kovaleva O.A., Rasputina I.V., Noskova I.A., Batogova T.V., Kuznetsova O.V., Bogoslova O.Yu., Kolesnikov S.I. Frequencies of polymorphisms in the cytochrome's P450 genes of warfarin transformation in a European population of Eastern Siberia. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 39-48, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.6.

ВВЕДЕНИЕ

Непрямые антикоагулянты (антагонисты витамина К) в настоящее время широко используются в случаях имплантации искусственного клапана сердца, митрального стеноза, гипертрофической кардиомиопатии, терминальной почечной недостаточности, болезни печени стадии С (по Чайлду – Пью), при ожирении с индексом массы тела ≥ 40 кг/м², беременности (II–III триместр) и лактации, наследственных тромбофилиях, необходимости лабораторного контроля антикоагуляции, а также ограниченных финансовых возможностях [3]. По данным Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (The US Food and Drug Administration, USFDA, FDA), ежегодно около двух миллионов пациентов в США начинают терапию непрямыми антикоагулянтами (варфарином) [36]. Назначение варфарина увеличилось с 1999 по 2005 гг. в 1,5 раза [32], что увеличило риск нежелательных лекарственных реакций (НЛР) [49]. Наиболее серьезной нежелательной реакцией на фоне приема непрямого антикоагулянта является кровотечение, частота которого составляет от 9 до 26,5 %, из них больших кровотечений – от 0,3 до 4,2 % в год [17, 25].

Одним из представителей непрямого антикоагулянта является варфарин, представляющий собой смесь в равных количествах правовращающих (R-) и левовращающих (S-) изомеров варфарина. Левовращающий изомер варфарина обладает большей в 2–5 раз антикоагулянтной активностью, чем правовращающий.

Основным катализатором метаболизма для S-изомера варфарина является фермент системы цитохромов P450 – CYP2C9 [35]. Другим ферментом системы цитохромов P450, связанным с чувствительностью индивидов к варфарину, является CYP4F2, который участвует в инактивации витамина К путем гидроксирования его боковой цепи [44].

Экспрессия изоферментов CYP2C9 и оксидазы CYP4F2 детерминируется соответствующими генами CYP2C9, CYP4F2, полиморфные варианты которых влияют на метаболизм варфарина.

Специалистами Международного консорциума по внедрению клинической фармакогенетики разработано руководство, одобренное FDA, по расчёту терапевтической дозы варфарина в зависимости от аллельных вариантов генотипов, в том числе CYP2C9 («Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for CYP2C9 and VKORC1 Genotypes and Warfarin Dosing») [34]. Сотрудниками Медицинского центра Вашингтонского университета (Washington University Medical Center) предложен калькулятор поддерживающей дозы и дозы насыщения варфарина WarfarinDosing [58], включающий не только вышеуказанные генотипы генов биотрансформации варфарина, но и ряд клинико-анамнестических показателей: пол, возраст пациента, курение, заболевания печени, приём некоторых лекарственных препаратов. Согласно руководству Консорциума и калькулятору WarfarinDosing при подборе терапевтической дозы варфарина значимыми являются аллельные варианты ряда генов, в том числе CYP2C9*2 (rs1799853), CYP2C9*3 (rs1057910) гена CYP2C9, а также полиморфизм 1347 C>T (rs2108622) гена CYP4F2.

Полиморфизмы *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* гена *CYP2C9*

Описано несколько вариантов гена *CYP2C9*, но распространёнными и наиболее изученными из них являются полиморфизмы *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*. Полиморфизм *CYP2C9*2* гена *CYP2C9* образуется в результате замещения *Arg* на *Cys* в 144 положении [10]. *CYP2C9*3* аллель является результатом замены *Leu* на *Leu* в 359 положении [11]. Согласно «Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for *CYP2C9* and *VKORC1* Genotypes and Warfarin Dosing», генотипы в зависимости от наличия или отсутствия рисковей аллели гена *CYP2C9* можно разделить на экстенсивные (нормальные), промежуточные и медленные метаболизаторы варфарина [16].

Экстенсивные или нормальные метаболизаторы варфарина (*extensive metabolizer*) – это гомозиготные носители «дикий» *1-аллели гена фермента *CYP2C9* (генотип *1/*1), активность фермента нормальная, клиренс варфарина соответствует среднестатистическим значениям. Промежуточные метаболизаторы варфарина (*intermediate metabolizer*) – это гетерозиготные носители одной нормально функционирующей аллели *1 и второй аллели *2 (*T*) или *3 (*C*) со сниженной активностью (генотипы *1/*2 (*CT*), *1/*3 (*AC*)). У медленных метаболизаторов варфарина (*poor metabolizer*) – гомозиготных или гетерозиготных носителей рисковей «медленных» аллелей *2, *3 со сниженной активностью (генотипы *2/*2, *2/*3, *3/*3) – ферментативная активность *CYP2C9* снижена значительно, в связи с чем достижение терапевтического эффекта и таргетного международного нормализованного отношения (МНО) происходит быстрее, повышается риск геморрагических осложнений [31, 39, 51].

Таким образом, носители одной или двух нефункциональных аллелей *2, *3 гена *CYP2C9* (полиморфизмы *CYP2C9*2*, *CYP2C9*3*) имеют сниженную активность соответствующих ферментов и высокий риск геморрагических осложнений.

Полиморфизм *1347 C>T* гена *CYP4F2*

Ген *CYP4F2* расположен на 19p13.12 хромосоме [46]. С вариабельностью дозы варфарина связан вариант гена *CYP4F2* – *1347 C>T* (*rs2108622*). Носительство нефункциональной *T*-аллели определяет снижение активности фермента *CYP4F2*, детерминируя кумаринорезистентность [44]. Гомозиготные или гетерозиготные носители *T*-аллели, имеющие более высокий клиренс лекарственного вещества, по сравнению с носителями функциональной *C*-аллели, нуждаются в более высоких дозах варфарина [5, 7, 19].

Пациенты, являющиеся носителями нефункциональных вариантов генов биотрансформации варфарина, нуждаются в индивидуальном подборе дозы варфарина с учётом результатов генотипирования, в том числе *CYP2C9* и *CYP4F2* [26]. Мнения о целесообразности генотипирования противоречивы [12, 18, 37, 42, 48, 57].

Распространённость основных полиморфных вариантов генов биотрансформации варфарина варьирует в разных расах и этнических группах [2, 4, 50].

Территория Восточной Сибири – это регион длительного компактного проживания многочисленных национальностей, основными из которых являются европеоиды (русские) и монголоиды (буряты), что могло предопределить изменение генофонда населяющих данную территорию популяций [1, 14]

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить распространённость полиморфных вариантов генов ферментов P450, участвующих в метаболизме варфарина: *1347 C>T* (*rs2108622*) гена *CYP4F2*, *CYP2C9*2* (*rs1799853*) и *CYP2C9*3* (*rs1057910*) гена *CYP2C9*, – у европеоидов, проживающих на территории Восточной Сибири, и сравнить полученные частоты с мировыми данными.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемая популяция

Обследовано 147 пациентов – представителей русской национальности, проживающих на территории Иркутской области и получающих варфарин для профилактики тромбоэмболических осложнений: при фибрилляции предсердий – 77 (52,38 %) человек, тромбозе – 3 (2,04 %), после имплантации искусственного механического клапана – 15 (10,20 %), при ишемической болезни сердца – 10 (6,80 %), ТЭЛА – 5 (3,40 %), при аритмии и инфаркте миокарда – по 4 (2,72 %) человека, после аортокоронарного шунтирования – 1 (0,68 %), после имплантации кардиостимулятора – 1 (0,68 %) и др. Средний возраст – 64,74 ± 14,29 года; 67 (45,58 %) мужчин, 80 (54,42 %) женщин.

Этническая принадлежность определялась с помощью оценки генеалогии участника исследования в трёх поколениях.

Участники подписывали информированные согласия на участие в исследовании и проведение генетического исследования. Работа одобрена этическим комитетом ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека».

Генотипирование

Материалом для исследования полиморфизмов генов служила ДНК, выделенная из образцов венозной крови. Образцы крови забирали из локтевой вены в пробирки с антикоагулянтом (6%-й раствор этилендиаминтетрауксусной кислоты; ГОСТ 10652-73). ДНК выделяли сорбентным методом, используя наборы «ДНК-сорб-В» (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия).

Типирование полиморфизмов генов *CYP2C9*2*, *CYP2C9*3* и *CYP4F2* (*1347 C>T*) осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Для амплификации использовали наборы реагентов «ФармакоГенетика Варфарин» (ООО НПО ДНК-Технология, Россия). Учёт результатов амплификации полиморфных участков проводили на приборе с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени «ДТ-прайм» («ДНК-технология», Россия).

Статистический анализ

Для обработки полученных результатов применялись методы математической статистики,

реализованные в лицензионном интегрированном статистическом пакете комплексной обработки данных STATISTICA 8.0. Для оценки соответствия распределений генотипов ожидаемым значениям использовали равновесие Харди – Вайнберга (онлайн-калькулятор OEGE Hardy-Weinberg Equilibrium). Для сравнения частот аллелей и генотипов между анализируемыми группами использовали Z-критерий и критерий χ^2 . Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизмов генов CYP2C9 и CYP4F2 в исследуемых группах соответствовало закону распределения Харди – Вайнберга: $\chi^2 < 3,84$; $p < 0,05$ (табл. 1).

Среди европеоидов Восточной Сибири распространённость носителей двух функциональных аллелей (*1*1) (экстенсивные/нормальные метаболизаторы) составляет 69,4 %. Количество промежуточных метаболизаторов (*1*2; *1*3) – 29,8 %. Данные

сопоставимы с выборкой европеоидов Швеции [60]. Выявлен 1 (0,68 %) пациент, являющийся носителем *3/*3 (медленный метаболизатор). Медленных метаболизаторов – носителей генотипов *2/*2, *2/*3 в изучаемой выборке не выявлено.

Распространённость носителей двух функциональных C-аллелей полиморфизма 1347 C>T CYP4F2 (нормальные метаболизаторы) составляет 54,4 %. Частота рисковей кумаринорезистентной аллели T – 26,1 %. Носители рисковей T-аллели гена CYP4F2 нуждаются в повышении дозы варфарина во избежание тромботических состояний. Однако, согласно E. Danese et al. (2012), ген CYP4F2 вносит меньший вклад в вариативность дозы варфарина, чем полиморфизмы генов CYP2C9 [19].

Сопоставление результатов собственных исследований распространённости полиморфных локусов CYP2C9*2 и CYP2C9*3 гена CYP2C9, 1347 C>T гена CYP4F2 с аналогичными с данными в других популяциях европеоидов представлено в таблице 2.

Таблица 1
Распространённость метаболизаторов генов системы цитохромов P450 (CYP2C9, CYP4F2) в популяции европеоидов Иркутской области

Frequencies of genotypes CYP2C9, CYP4F2 in Caucasians population of the Irkutsk region

Table 1

| Генотип | Тип метаболизатора | Частота генотипа (собственные данные) | | Частота генотипа среди европеоидов (Европа) | | p |
|--|---------------------------|---------------------------------------|------|---|------|-------|
| | | абс. значения (n = 147) | % | абс. значения | % | |
| CYP2C9*2, *3 (rs1799853, rs1057910), n = 430 [60] | | | | | | |
| *1/*1 | экстенсивный (нормальный) | 102 | 69,4 | 287 | 66,7 | 0,625 |
| *1/*2 | промежуточный | 18 | 12,2 | 80 | 18,6 | 0,100 |
| *1/*3 | | 26 | 17,6 | 50 | 11,6 | 0,083 |
| *2/*2 | медленный | 0 | 0 | 2 | 0,5 | 0,988 |
| *2/*3 | | 0 | 0 | 8 | 1,9 | 0,209 |
| *3/*3 | | 1 | 0,68 | 3 | 0,7 | 0,580 |
| CYP4F2 1347 C>T (rs2108622), n = 503 [24] | | | | | | |
| CC | экстенсивный (нормальный) | 80 | 54,4 | 261 | 51,9 | 0,215 |
| CT | кумаринорезистентный | 57 | 38,7 | 192 | 38,2 | 0,252 |
| TT | | 10 | 6,8 | 50 | 9,9 | 0,134 |

Примечание. * – статистически значимые различия по критерию χ^2 .

Таблица 2
Распространённость рисковей аллелей полиморфизмов генов CYP2C9, CYP4F2 у представителей европеоидной расы разных мировых популяций

Frequencies of risk alleles CYP2C9, CYP4F2 in Caucasians of different world populations

Table 2

| Страна (популяция) | Кол-во респондентов | Частота рисковей аллели, % | Статистическая значимость, p | Источник данных |
|---------------------------------|---------------------|----------------------------|------------------------------|--------------------|
| CYP2C9*2 (rs1799853) | | | | |
| Россия, Иркутск (русские) | 147 | 6,1 (0,061) | | собственные данные |
| Европеоиды (усреднённые данные) | 503 | 12,4 (0,124) | 0,0320* | [22] |
| Россия, Воронеж (русские) | 290 | 10,5 (0,105) | 0,1300 | [29] |
| Россия, Ставрополь (русские) | 25 | 12,0 (0,120) | 0,2853 | [2] |
| Россия, Ставрополь (армяне) | 25 | 14,0 (0,140) | 0,1609 | |
| Россия, Ставрополь (карачаевцы) | 25 | 4 (0,040) | 0,6783 | |
| Россия, Москва (русские) | 400 | 9,7 (0,097) | 0,1867 | [4] |

Таблица 2 (продолжение)

| Страна (популяция) | Кол-во респондентов | Частота рисковей аллели, % | Статистическая значимость, <i>p</i> | Источник данных |
|---------------------------------|---------------------|----------------------------|-------------------------------------|--------------------|
| США | 140 | 13,2 (0,132) | 0,0418 [*] | [20] |
| | 45 | 11,1 (0,111) | 0,2598 | [33] |
| | 457 | 10,0 (0,100) | 0,1522 | [41] |
| | 59 | 10,2 (0,102) | 0,3069 | [45] |
| | 100 | 8,0 (0,080) | 0,5628 | [54] |
| Великобритания | 100 | 11,0 (0,110) | 0,1668 | [9] |
| | 94 | 19,1 (0,191) | 0,0020 [*] | [27] |
| | 100 | 12,5 (0,125) | 0,0809 | [53] |
| | 561 | 10,6 (0,106) | 0,1007 | [55] |
| Англия и Шотландия | 91 | 8,8 (0,088) | 0,2940 | [22] |
| Дания | 60 | 14,2 (0,142) | 0,0587 | [56] |
| Германия | 127 | 13,4 (0,134) | 0,0407 [*] | [15] |
| | 367 | 10,6 (0,106) | 0,1133 | [8] |
| Венгрия | 143 | 16,4 (0,164) | 0,0057 [*] | [47] |
| Швеция | 430 | 10,7 (0,107) | 0,1016 | [60] |
| Финляндия | 99 | 8,1 (0,081) | 0,4225 | [22] |
| Турция | 499 | 10,6 (0,106) | 0,1037 | [13] |
| Италия | 180 | 18,3 (0,183) | 0,0011 [*] | [43] |
| | 157 | 11,2 (0,112) | 0,1166 | [52] |
| Италия (тосканцы) | 107 | 15,4 (0,154) | 0,0036 [*] | [22] |
| Испания | 102 | 15,6 (0,156) | 0,0146 [*] | [21] |
| | 157 | 14,3 (0,143) | 0,0196 [*] | [30] |
| Испания (иберы) | 107 | 14 (0,140) | 0,0103 [*] | [22] |
| CYP2C9*3 (rs1057910) | | | | |
| Россия, Иркутск (русские) | 147 | 9,5 (0,095) | | собственные данные |
| Европа (усреднённые данные) | 503 | 7,3 (0,073) | 0,3818 | [23] |
| Россия, Ставрополь (русские) | 25 | 6 (0,060) | 0,5724 | [2] |
| Россия, Ставрополь (армяне) | 25 | 14 (0,140) | 0,4920 | |
| Россия, Ставрополь (карачаевцы) | 25 | 10 (0,100) | 0,9375 | [4] |
| Россия, Москва (русские) | 400 | 5,2 (0,052) | 0,0682 | |
| Финляндия (финны) | 99 | 5,6 (0,056) | 0,0916 | [23] |
| Англия и Шотландия | 91 | 7,1 (0,071) | 0,3357 | |
| Великобритания | 100 | 8,5 (0,085) | 0,7887 | [53] |
| | 561 | 5,3 (0,053) | 0,0600 | [55] |
| США | 140 | 4,3 (0,043) | 0,0847 | [20] |
| | 325 | 7,1 (0,071) | 0,3697 | [28] |
| | 461 | 10,0 (0,100) | 0,8596 | [40] |
| | 59 | 15,3 (0,153) | 0,2334 | [45] |
| | 100 | 6,0 (0,060) | 0,3229 | [54] |
| | 295 | 5,6 (0,056) | 0,1281 | [59] |
| Германия | 367 | 7,8 (0,078) | 0,5278 | [8] |
| Дания | 60 | 9,2 (0,092) | 0,9466 | [56] |
| Венгрия | 143 | 9,4 (0,094) | 0,9768 | [47] |
| Швеция | 430 | 7,4 (0,074) | 0,4164 | [60] |
| Турция | 499 | 10,0 (0,100) | 0,8584 | [13] |
| Испания | 102 | 9,8 (0,098) | 0,9371 | [21] |
| | 157 | 16,2 (0,162) | 0,0832 | [30] |

Таблица 2 (окончание)

| Страна (популяция) | Кол-во респондентов | Частота рисковой аллели, % | Статистическая значимость, <i>p</i> | Источник данных |
|--|---------------------|----------------------------|-------------------------------------|--------------------|
| Испания (иберы) | 107 | 8,4 (0,084) | 0,6765 | [23] |
| Италия | 180 | 8,9 (0,089) | 0,8518 | [43] |
| | 157 | 9,2 (0,092) | 0,9285 | [52] |
| Италия (тосканцы) | 107 | 8,4 (0,084) | 0,6765 | [23] |
| <i>CYP4F2 1347 C>T (rs2108622)</i> | | | | |
| Россия, Иркутск (русские) | 147 | 26,1 (0,261) | | собственные данные |
| Европа (усреднённые данные) | 503 | 29,0 (0,290) | 0,4928 | [24] |
| Финляндия | 99 | 21,7 (0,217) | 0,2630 | |
| Англия и Шотландия | 91 | 28,6 (0,286) | 0,5530 | |
| Испания (иберы) | 107 | 35,5 (0,355) | 0,0339* | |
| Италия (тосканцы) | 107 | 33,6 (0,336) | 0,0866 | |

Примечание. * – статистически значимые различия по Z-критерию.

Для гена *CYP2C9* частота рисковой *T*-аллели (*2) полиморфизма *CYP2C9*2 (rs1799853)* составила 6,12 %, что статистически значимо ниже, чем в выборках европеоидов США, Британии, Германии, Венгрии, Испании, Италии и объединённой европеоидной выборке базы данных Ensembl. Вместе с тем при анализе других когорт европеоидов в США, Британии, Германии, Италии, Дании, Швеции, Финляндии, Турции, а также других территорий России не выявлено статически значимых различий с собственными данными частоты *CYP2C9*2*. Частота рисковой *C*-аллели (*3) – 9,52 %, что соотносится с аналогичными данными в других европеоидных популяциях.

Сопоставление частоты встречаемости нефункционального *T*-аллеля полиморфного локуса *1347 C>T CYP4F2* в изучаемой популяции с другими европеоидными популяциями мира показало наличие статически значимых различий с популяцией иберов Испании.

Нежелательные явления

Нежелательные явления, возникшие в ходе проведения исследования, а также любые медицинские события (осложнения в ходе забора биоматериала) отсутствовали.

ОБСУЖДЕНИЕ

Для изучаемых полиморфных локусов *CYP2C9*2* и *CYP4F2* показаны статически значимые различия частот генотипов и аллелей в выборке европеоидов Восточной Сибири. Распространённость рисковой аллели *2 полиморфного локуса *rs1799853* гена *CYP2C9* широко варьирует в европеоидных популяциях: от 4 % у карачаевцев до 19,1 % у британцев. Сопоставление результатов собственных исследований с аналогичными данными других исследователей показали наличие статически значимых различий с европеоидами США, Британии, Германии, Венгрии, Испании, Италии за счёт большей встречаемости аллели *2 в данных выборках. Вместе с тем результаты ряда других исследователей среди европеоидов в этих же странах не выявили различий частот аллели

*2, что указывает на широкую вариативность распространённости данного аллеля в европеоидных популяциях мира. Частотное распределение рисковых аллелей полиморфизмов *CYP2C9*3* не отличалось от аналогичных данных в других европеоидных популяциях. Указанную вариативность распространения рисковых (нефункциональных) аллелей *2 и *3 в популяциях европеоидов необходимо учитывать при назначении и мониторинге дозы варфарина. Так, по данным мета-анализа, проведённого сотрудниками Кембриджского университета, среднее различие в ежедневной дозе варфарина у носителей нефункциональных аллелей *CYP2C9* варьирует: для *2 снижение 0,85 мг (0,60–1,11 мг), что на 17 % меньше, чем для носителей функциональной аллели *1; для *3 – 1,92 мг (1,37–2,47 мг), что на 37 % меньше, в сравнении с носителями функциональной аллели *1 [51].

При сравнении частоты встречаемости полиморфного локуса *CYP4F2* в изучаемой популяции с другими европеоидными популяциями мира показано наличие статически значимых различий с популяцией иберов – древнего населения Южной и Восточной Испании. Происхождение иберов доподлинно неизвестно, есть несколько версий, указывающих на их возможную миграцию со средиземноморского побережья или из Северной Африки [6]. Известно, что в составе европеоидов выделяется две ветви – северная и южная. Различия между ними касаются в основном пигментации кожи, глаз, волос и определяются эволюционным преобразованием фенотипа с формированием специфического популяционного генофонда, детерминирующего, в том числе, вариативность реакций на лекарственные препараты. По результатам представленного исследования 26,1 % населения Иркутской области являются носителями кумаринорезистентного *T*-аллеля, что сопоставимо с распространённостью данного аллеля в других европеоидных популяциях и нуждается во внимании при назначении варфарина. Так, по результатам мета-анализа сотрудников Пекинского университета, носителям одной или двух нефункциональных ал-

лелей (СТ, ТТ-генотипов) требуются большие дозы варфарина – на 10,0 % и 21,0 % соответственно [38].

Ограничение исследования

В исследование включены респонденты-европеоиды, проживающие на территории Иркутской области и принимающие варфарин.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Среди европеоидов Восточной Сибири распространённость носителей двух функциональных аллелей (*1*1) (экстенсивные/нормальные метаболизаторы) составляет 69,4 %, количество промежуточных метаболизаторов (*1*2; *1*3) – 17,8 %, медленных (*3*3) – 0,68 %. Отсутствуют гомозиготные носители двух нефункциональных аллелей *2/*2, *2/*3.

Распространённость рискованных аллелей генов ферментов системы цитохромов P450, принимающих участие в биотрансформации варфарина, сопоставима с аналогичными показателями в других европеоидных популяциях мира.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Баирова Т.А., Долгих В.В., Колесникова Л.И., Первушина О.А. Нутрициогенетика и факторы риска сердечно-сосудистой патологии: ассоциативные исследования в популяциях Восточной Сибири // Acta biomedica scientifica. – 2013. – № 4 (92). – С. 87–92.

Bairova TA, Dolgikh VV, Kolesnikova LI, Pervushina OA. (2013). Nutritional genetics and cardiovascular disease risk factors: associative researches in the Eastern Siberia populations [Nutritsiogenetika i faktory riska serdechno-sosudistoy patologii: assotsiativnye issledovaniya v populyatsiyakh Vostochnoy Sibiri]. *Acta biomedica scientifica*, 4 (92), 87-92.

2. Батурин В.А., Царукян А.А., Колодийчук Е.В. Исследование полиморфизма гена CYP2C9 в этнических группах населения Ставропольского края // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2014. – Т. 9, № 1. – С. 45–48.

Baturin VA, Tsarukyan AA, Kolodiychuk EV. (2014). Study of CYP2C9 gene polymorphism in ethnic groups of the Stavropol Territory population [Issledovanie polimorfizma gena CYP2C9 v etnicheskikh gruppakh naseleniya Stavropol'skogo kraya]. *Meditsinskiy vestnik Severnogo Kavkaza*, 9 (1), 45-48.

3. Белялов Ф.И. Клинические рекомендации по кардиологии и коморбидным заболеваниям; 9-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа. – 350 с.

Belyalov FI. (2018). Clinical recommendations on cardiology and comorbid diseases [*Klinicheskie rekomendatsii po kardiologii i komorbidnym zabolevaniyam*]. Moskva, 350 p.

4. Зотова И.В., Никитин А.Г., Фаттахова Э.Н., Бровкин А.Н., Ходырев Д.С., Лаврикова Е.Ю., Исаева М.Ю., Косухина А.С., Носиков В.В., Затеищиков Д.А. Влияние полиморфизма генов CYP2C9 и VKORC1 на безопасность терапии Варфарином // Клиническая практика. – 2013. – № 4. – С. 3–10.

Zotova IV, Nikitin AG, Fattakhova EN, Brovkin AN, Khodyrev DS, Lavrikova EY, Isaeva MYu, Kosukhina AS, Nosikov VV, Zateyshchikov DA. (2013). Influence of CYP2C9 and VKORC1 genes polymorphism on the safety of warfarin therapy [Vliyanie polimorfizma genov CYP2C9 i VKORC1 na bezopasnost' terapii Varfarinom]. *Klinicheskaya praktika*, (4), 3-10.

5. Мусин А.Г., Хазиева А.В., Нигматуллина А.Э., Константинова Е.Е., Гарипов М.Р. Полиморфизм генов системы детоксикации ксенобиотиков, его роль в биотрансформации лекарственных препаратов // Медицинский вестник Башкортостана. – 2014. – Т. 9, № 2. – С. 211–216.

Musin AG, Khazieva AV, Nigmatullina AE, Konstantinova EE, Garipov MR. (2014). Xenobiotics detoxication system gene polymorphism, its role in biotransformation of medicines [Polimorfizm genov sistemy detoksikatsii ksenobiotikov, ego rol' v biotransformatsii lekarstvennykh preparatov]. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana*, 9 (4), 211-216.

6. Орлов А.А. Глубинные исторические корни проблемы национализма и сепаратизма в современной Испании // Вестник МГИМО Университета. – 2013. – № 4 (31). – С. 177–186.

Orlov AA. (2013). Features of pre-roman history of Spain and modern time: where are sources of separatism? [Glubinnye istoricheskie korni problemy natsionalizma i separatizma v sovremennoy Ispanii]. *Vestnik MGIMO Universiteta*, (4), 177-186.

7. Сычѳв Д.А., Раменская Г.В., Игнатѳев И.В., Кукес В.Г. Клиническая фармакогенетика. – М.: ГЭОТАР Медиа, 2007. – 248 с.

Sychev DA, Ramenskaya GV, Ignatyev IV, Kukes VG. (2007). Clinical pharmacogenetics [*Klinicheskaya farmakogenetika*]. Moskva, 248 p.

8. Ackermann E, Cascorbi I, Sachse C, Brockmüller J, Mrozikiewicz PM, Roots I. (1997). Frequencies and the allelic linkage of CYP2C9 mutations in a German population, and the detection of a C/T mutation in intron 2 [abstract]. *Eur J Clin Pharmacol*, (52), A71.

9. Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ, Daly AK. (1999). Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet*, 353 (9154), 717-719. DOI: 10.1016/S0140-6736(98)04474-2

10. ALFRED (the Allele Frequency Database): rs1799853. Available at: <https://alfred.med.yale.edu/alfred/recordinfo.asp?UNID=SI000386R>.

11. ALFRED (the Allele Frequency Database): rs1057910. Available at: https://alfred.med.yale.edu/alfred/recordinfo.asp?condition=sites.site_uid=%27SI000387S.

12. Anderson JL, Horne BD, Stevens SM, Woller SC, Samuelson KM, Mansfield JW, Robinson M, Barton S, Brunisholz K, Mower CP, Huntinghouse JA, Rollo JS, Siler D, Bair TL, Knight S, Muhlestein JB, Carlquist JF. (2012). A randomized and clinical effectiveness trial comparing two pharmacogenetic algorithms and standard care for individualizing warfarin dosing (CoumaGen-II). *Circulation*, 125 (16), 1997-2005. DOI: 10.1161/circulationaha.111.070920

13. Aynacioglu AS, Brockmüller J, Bauer S, Sachse C, Güzelbey P, Ongen Z, Nacak M, Roots I. (1999). Frequency

of cytochrome P450 CYP2C9 variants in a Turkish population and functional relevance for phenytoin. *Br J Clin Pharmacol*, 48 (3), 409-415.

14. Bairova TA, Kolesnikov SI, Kolesnikova LI, Peruvshina OA, Darenskaya MA, Grebenkina LA. (2015). Lipid peroxidation and mitochondrial superoxide dismutase-2 gene in adolescents with essential hypertension. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 158 (2), 181-184. DOI: 10.1007/s10517-014-2717-4

15. Brockmüller J, Rost KL, Gross D, Schenkel A, Roots I. (1995). Phenotyping of CYP2C19 with enantio-specific HPLC-quantification of (R)- and (S)-mephenytoin and comparison with the intron 4/exon 5 G→A-splice site mutation. *Pharmacogenetics*, 5 (2), 80-88.

16. Caudle KE, Rettie AE, Whirl-Carrillo M, Smith LH, Mintzer S, Lee MTM, Klein TE, Callaghan JT. (2014). Clinical pharmacogenetics implementation consortium guidelines for CYP2C9 and HLA-B genotypes and phenytoin dosing. *Clin Pharmacol Ther*, 96 (5), 542-548. DOI: 10.1038/clpt.2014.159

17. Copland M, Walker ID, Tait RC. (2001). Oral anticoagulation and hemorrhagic complications in an elderly population with atrial fibrillation. *Arch Intern Med*, 161 (17), 2125-2128.

18. Dahal K, Sharma SP, Fung E, Lee J, Moore JH, Unterborn JN, Williams SM. (2015). Meta-analysis of randomized controlled trials of genotype-guided vs standard dosing of warfarin. *Chest*, 148 (3), 701-710. DOI: 10.1378/chest.14-2947

19. Danese E, Montagnana M, Johnson JA, Rettie AE, Zambon CF, Lubitz SA, Suarez-Kurtz G, Cavallari LH, Zhao L, Huang M, Nakamura Y, Mushiroda T, Kringen MK, Borgiani P, Ciccacci C, Au NT, Langae T, Siguret V, Loriot MA, Sagreiya H, Altman RB, Shahin MH, Scott SA, Khalifa SI, Chowbay B, Suriapranata IM, Teichert M, Stricker BH, Taljaard M, Botton MR, Zhang JE, Pirmohamed M, Zhang X, Carlquist JF, Horne BD, Lee MT, Pengo V, Guidi GC, Minuz P, Fava C. (2012). Impact of the CYP4F2 p.V433M polymorphism on coumarin dose requirement: systematic review and meta-analysis. *Clin Pharmacol Ther*, 92 (6), 746-756. DOI: 10.1038/clpt.2012.184

20. Dickmann LJ, Rettie AE, Kneller MB, Kim RB, Wood AJJ, Stein CM, Wilkinson GR, Schwarz UI. (2001). Identification and functional characterization of a new CYP2C9 variant (CYP2C9*5) expressed among African Americans. *Mol Pharmacol*, 60 (2), 382-387.

21. Dorado P, Berecz R, Norberto MJ, Yasar U, Dahl ML, Llerena A. (2003). CYP2C9 genotypes and diclofenac metabolism in Spanish healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol*, 59 (3), 221-225.

22. Ensembl (the genome browser): rs1799853. Available at: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=10:94941790-94942790;v=rs1799853;vdb=variation;vf=1242072

23. Ensembl (the genome browser): rs1057910. Available at: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=10:94980796-94981796;v=rs1057910;vdb=variation;vf=768358

24. Ensembl (the genome browser): rs2108622. Available at: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=19:15879121-15880121;v=rs2108622;vdb=variation;vf=1523616

25. Fihn SD, McDonnell M, Martin D, Henikoff J, Vermes D, Kent D, White RH. (1993). Risk factors for complications of chronic anticoagulation. A multicenter study. Warfarin Optimized Outpatient Follow-up Study Group. *Ann Intern Med*, 118 (7), 511-520.

26. Finkelman BS, Gage BF, Johnson JA, Brensiner CM, Kimmel SE. (2011). Genetic warfarin dosing: tables versus algorithms. *J Am Coll Cardiol*, 57 (5), 612-618. DOI: 10.1016/j.jacc.2010.08.643

27. Furuya H, Fernandez-Salguero P, Gregory W, Taber H, Steward A, Gonzalez FJ, Idle JR. (1995). Genetic polymorphism of CYP2C9 and its effects on warfarin maintenance dose requirement in patients undergoing anticoagulation therapy. *Pharmacogenetics*, 5 (6), 389-392.

28. Gaedigk A, Casley WL, Tyndale RF, Sellers EM, Jurima-Romet M, Leeder JS. (2001). Cytochrome P4502C9 (CYP2C9) allele frequencies in Canadian Native Indian and Inuit populations. *Can. J Physiol Pharmacol*, 79 (10), 841-847.

29. Gaikovitch EA, Cascorbi I, Mrozikiewicz PM, Brockmüller J, Frötschl R, Köpke K, Gerloff T, Chernov JN, Roots I. (2003). Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP1A1, NAT2 and of P-glycoprotein in a Russian population. *Eur J Clin Pharmacol*, 59 (4), 303-312. DOI: 10.1007/s00228-003-0606-2

30. García-Martín E, Martínez C, Ladero JM, Gamiño FJ, Agúndez JA. (2001). High frequency of mutations related to impaired CYP2C9 metabolism in a Caucasian population. *Eur J Clin Pharmacol*, 57 (1), 47-49.

31. Hummers-Pradier E, Hess S, Adham IM, Papke T, Pieske B, Kochen MM. (2003). Determination of bleeding risk using genetic markers in patients taking phenprocoumon. *Eur J Clin Pharmacol*, 59 (3), 213-219. DOI: 10.1007/s00228-003-0580-8

32. IMS Health National Prescription Audit PLUS TM Data. (2005). Extracted September 2005.

33. Inoue K, Yamazaki H, Imiya K, Akasaka S, Guengerich FP, Shimada T. (1997). Relationship between CYP2C9 and 2C19 genotypes and tolbutamide methyl hydroxylation and S-mephenytoin 4-hydroxylation activities in livers of Japanese and Caucasian populations. *Pharmacogenetics*, 7 (2), 103-113.

34. Johnson JA, Gong L, Whirl-Carrillo M, Gage BF, Scott SA, Stein CM, Anderson JL, Kimmel SE, Lee MT, Pirmohamed M, Wadelius M, Klein TE, Altman RB. (2011). Clinical pharmacogenetics implementation consortium guidelines for CYP2C9 and VKORC1 genotypes and warfarin dosing. *Clin Pharmacol Ther*, 90 (4), 625-629. DOI: 10.1038/clpt.2011.185

35. Kaminsky LS, Zhang ZY. (1997). Human P450 metabolism of warfarin. *Pharmacol Ther*, 73 (1), 67-74.

36. Kim MJ, Huang SM, Meyer UA, Rahman A, Lesko LJ. (2009). A regulatory science perspective on warfarin therapy: a pharmacogenetic opportunity. *J Clin Pharmacol*, 49 (2), 138-146. DOI: 10.1177/0091270008328098

37. Kimmel SE, French B, Kasner SE, Johnson JA, Anderson JL, Gage BF, Rosenberg YD, Eby CS, Madigan RA, McBane RB, Abdel-Rahman SZ, Stevens SM, Yale S, Mohler ER 3rd, Fang MC, Shah V, Horenstein RM, Limdi NA, Muldowney JA 3rd, Gujral J, Delafontaine P, Desnick RJ, Ortel TL, Billett HH, Pendleton RC, Geller NL, Halperin JL, Goldhaber SZ, Caldwell MD, Califf RM, Ellenberg JH; COAG

- Investigators. (2013). A pharmacogenetic versus a clinical algorithm for warfarin dosing. *N Engl J Med*, 369 (24), 2283-2293. DOI: 10.1056/NEJMoa1310669
38. Liang R, Wang C, Zhao H, Huang J, Hu D, Sun Y. (2012). Influence of CYP4F2 genotype on warfarin dose requirement—a systematic review and meta-analysis. *Thromb Res*, 130 (1), 38-44. DOI: 10.1016/j.thromres.2011.11.043
39. Lindh JD, Holm L, Andersson ML, Rane A. (2009). Influence of CYP2C9 genotype on warfarin dose requirements—a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Pharmacol*, 65 (4), 365-375. DOI: 10.1007/s00228-008-0584-5
40. London SJ, Daly AK, Leathart JB, Navidi WC, Idle JR. (1996). Lung cancer risk in relation to the CYP2C9*1/CYP2C9*2 genetic polymorphism among African-Americans and Caucasians in Los Angeles County, California. *Pharmacogenetics*, 6 (6), 527-533.
41. London SJ, Sullivan-Klose T, Daly AK, Idle JR (1997). Lung cancer risk in relation to the CYP2C9 genetic polymorphism among Caucasians in Los Angeles County. *Pharmacogenetics*, 7 (5), 401-404.
42. Makar-Aušperger K, Krželj K, Lovrić Benčić M, Radačić Aumiler M, Erdeljić Turk V, Božina N. (2018). Warfarin dosing according to the genotype-guided algorithm is most beneficial in patients with atrial fibrillation: a randomized parallel group trial. *Ther Drug Monit*, 40 (3), 362-368. DOI: 10.1097/ftd.0000000000000501
43. Margaglione M, Colaizzo D, D'Andrea G, Brancaccio V, Ciampa A, Grandone E, Di Minno G. (2000). Genetic modulation of oral anticoagulation with warfarin. *Thromb Haemost*, 84 (5), 775-778.
44. McDonald MG, Rieder MJ, Nakano M, Hsia CK, Rettie AE. (2009). CYP4F2 is a vitamin K1 oxidase: An explanation for altered warfarin dose in carriers of the V433M variant. *Mol Pharmacol*, 75 (6), 1337-1346. DOI: 10.1124/mol.109.054833
45. Nafziger AN, Kim JS, Gaedigk A, Leeder JS, Kerns GL, Bertino JS Jr. (2000). CYP2C9 mutant allele frequencies in a rural US Caucasian population [abstract]. *Clin Pharmacol Ther*, 67 (2), 120.
46. OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man): CYP4F2. Available at: <http://www.omim.org/entry/604426>.
47. Ozawa S, Shoket B, McDaniel LP, Tang YM, Ambrosone CB, Kostic S, Vincze I, Kadlubar FF. (1999). Analyses of bronchial bulky DNA adduct levels and CYP2C9, GSTP1 and NQO1 genotypes in a Hungarian study populations with pulmonary diseases. *Carcinogenesis*, 20 (6), 991-995.
48. Pirmohamed M, Burnside G, Eriksson N, Jorgensen AL, Toh CH, Nicholson T, Kesteven P, Christerson C, Wahlström B, Stafberg C, Zhang JE, Leathart JB, Kohnke H, Maitland-van der Zee AH, Williamson PR, Daly AK, Avery P, Kamali F, Wadelius M; EU-PACT Group. (2013). A randomized trial of genotype-guided dosing of warfarin. *N Engl J Med*, 369 (24), 2294-2303. DOI: 10.1056/NEJMoa13111386
49. Pirmohamed M, James S, Meakin S, Green C, Scott AK, Walley TJ, Farrar K, Park BK, Breckenridge AM. (2004). Adverse drug reactions as cause of admission to hospital: prospective analysis of 18 820 patients. *BMJ*, 329 (7456), 15-19.
50. Rychkova L, Bairova T, Novikova E, Sargaeva D, Ievleva K, Kalyuzhnaya O, Ershova O. (2018) Prediction of bleeding complications during warfarin intake [abstract]. *Eur J Prevent Cardiol*, 25 (2), S100. DOI: 10.1177/2047487318786182
51. Sanderson S, Emery J, Higgins J. (2005). CYP2C9 gene variants, drug dose, and bleeding risk in warfarin-treated patients: a HuGenet systematic review and meta-analysis. *Genet Med*, 7 (2), 97-104. DOI: 10.109701.gim.0000153664.65759.cf
52. Scordo MG, Aklillu E, Yasar U, Dahl ML, Spina E, Ingelman-Sundberg M. (2001). Genetic polymorphism of cytochrome P450 2C9 in a Caucasian and a black African population. *Br J Clin Pharmacol*, 52 (4), 447-450.
53. Stubbins MJ, Harries LW, Smith G, Tarbit MH, Wolf CR. (1996). Genetic analysis of the human cytochrome P450 CYP2C9 locus. *Pharmacogenetics*, 6 (5), 429-439.
54. Sullivan-Klose TH, Ghanayem BI, Bell DA, Zhang Z-Y, Kaminsky LS, Shenfield GM, Miners JO, Birkett DJ, Goldstein JA. (1996). The role of the CYP2C9-Leu359 allelic variant in the tolbutamide polymorphism. *Pharmacogenetics*, (6), 341-349.
55. Taube J, Halsall D, Baglin T. (2000). Influence of cytochrome P-450 CYP2C9 polymorphisms on warfarin sensitivity and risk of over-anticoagulation in patients on long-term treatment. *Blood*, 96 (5), 1816-1819.
56. Van der Weide J, Steijns LS, van Weelden MJ, de Haan K. (2001). The effect of genetic polymorphism of cytochrome P450 CYP2C9 on phenytoin dose requirement. *Pharmacogenetics*, 11 (4), 287-291.
57. Verhoeve TI, Ragia G, de Boer A, Barallon R, Kolovou G, Kolovou V, Konstantinides S, Le Cessie S, Maltezos E, van der Meer FJ, Redekop WK, Remkes M, Rosendaal FR, van Schie RM, Tavridou A, Tziakas D, Wadelius M, Manolopoulos VG, Maitland-van der Zee AH; EU-PACT Group. (2013). A randomized trial of genotype-guided dosing of acenocoumarol and phenprocoumon. *N Engl J Med*, 369 (24), 2304-2312. DOI: 10.1056/NEJMoa13111388
58. Warfarin Dosing. Available at: <http://www.warfarindosing.org/Source/Home.aspx>.
59. Xie HG, Prasad H, Landau R, Kim RB, Cai WM, Treatleiri I, Smiley RM, Wilkinson GR, Stein CM, Wood AJ. (2002). Frequency of the defective CYP2C9 variant alleles indifferent ethnic groups [abstract]. *Clin Pharmacol Ther*, 71 (2), 102.
60. Yasar U, Eliasson E, Dahl ML, Johansson I, Ingelman-Sundberg M, Sjöqvist F. (1999). Validation of methods for CYP2C9 genotyping: frequencies of mutant alleles in a Swedish population. *Biochem Biophys Res Commun*, 254 (3), 628-631. DOI: 10.1006/bbrc.1998.9992

Байрова Татьяна Ананьевна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел. (3952) 20-73-67; e-mail: tbairova38@mail.ru) <https://orcid.org/0000-0003-3704-830X>

Bairova Tatyana Ananyevna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (664003, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 16; tel. (3952) 20-73-67; e-mail: tbairova38@mail.ru) <https://orcid.org/0000-0003-3704-830X>

Новикова Евгения Анатольевна – аспирант, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: europe411@mail.ru) <https://orcid.org/0000-0002-9353-7928>

Novikova Evgeniya Anatolyevna – Postgraduate, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: europe411@mail.ru) <https://orcid.org/0000-0002-9353-7928>

Белялов Фарид Исмагильевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры геронтологии и гериатрии, руководитель Кардиоаритмологического центра, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100; тел. (3952) 46-53-26) <https://orcid.org/0000-0001-9131-6534>

Belyalov Farid Ismagilyevich – Doctor of Medical Sciences, Professor at the Department of Gerontology and Geriatrics, Head of the Center of Cardioarrhythmology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (664049, Irkutsk, Yubileyniy, 100; tel. (3952) 46-53-26) <https://orcid.org/0000-0001-9131-6534>

Щедреева Елена Анатольевна – врач, ОГАУЗ «Городская клиническая больница № 10» (664043, г. Иркутск, б. Рябикова, 31А; тел. (3952) 30-33-41)

Shchedreeva Elena Anatolyevna – Physician, City Clinical Hospital N 10 (664043, Irkutsk, b. Ryabikova, 31A; tel. (3952) 30-33-41)

Иевлева Ксения Дмитриевна – аспирант, врач клинической лабораторной диагностики, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: asiy91@mail.ru) <https://orcid.org/0000-0002-0177-234X>

Ievleva Kseniia Dmitrievna – Postgraduate, Physician at the Clinical Laboratory, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: asiy91@mail.ru) <https://orcid.org/0000-0002-0177-234X>

Калужная Ольга Викторовна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: kaluzhnayao@ya.ru)

Kalyuzhnaya Olga Viktorovna – Candidate of Biological Sciences, Junior Research Officer at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: kaluzhnayao@ya.ru)

Ершова Оксана Александровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: oksana111088@mail.ru)

Ershova Oksana Aleksandrovna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: oksana111088@mail.ru)

Пустозеров Виктор Георгиевич – кандидат медицинских наук, главный врач, ГБУЗ «Областной гериатрический центр»; заведующий кафедрой геронтологии и гериатрии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664025, г. Иркутск, ул. Ленина, 20А; тел. (3952) 24-30-30; e-mail: Dr.Pystozеров@bk.ru)

Pustozеров Viktor Georgievich – Candidate of Medical Sciences, Head Physician, Regional Geriatric Centre; Head of the Department of Gerontology and Geriatrics, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (664025, Irkutsk, ul. Lenina, 20A; tel. (3952) 24-30-30; e-mail: Dr.Pystozеров@bk.ru)

Ковалева Ольга Анатольевна – врач, ГБУЗ «Областной гериатрический центр»

Kovaleva Olga Anatolyevna – Physician, Regional Geriatric Centre

Распутина Ирина Викторовна – врач, ОГАУЗ «Городская клиническая больница № 10»

Raspulina Irina Viktorovna – Physician, City Clinical Hospital N 10

Носкова Инетта Александровна – врач, ОГБУЗ «Иркутская городская поликлиника № 4» (664058, г. Иркутск, Первомайский, 23А; тел. (3952) 36-38-29)

Noskova Inetta Aleksandrovna – Physician, Irkutsk City Polyclinic N 4 (664058, Irkutsk, Pervomayskiy, 23A; tel. (3952) 36-38-29)

Батогова Татьяна Васильевна – врач, ОГАУЗ «Городская клиническая больница № 10»

Batogova Tatyana Vasilyevna – Physician, City Clinical Hospital N 10

Кузнецова Ольга Валерьевна – врач, ОГАУЗ «Городская клиническая больница № 10»

Kuznetsova Olga Valeryevna – Physician, City Clinical Hospital N 10

Богослова Ольга Юрьевна – врач, ОГАУЗ «Городская клиническая больница № 10»

Bogoslova Olga Yuryevna – Physician, City Clinical Hospital N 10

Колесников Сергей Иванович – академик РАН, заместитель главного учёного секретаря, Президиум РАН; профессор, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (119234, г. Москва, Ленинские Горы, 1; тел. (495) 939-10-00; e-mail: Sikolesnikov2012@gmail.com) <https://orcid.org/0000-0003-2124-6328>

Kolesnikov Sergei Ivanovich – Academician of RAS, Deputy Chief Academic Secretary, Presidium of the Russian Academy of Sciences; Professor, Lomonosov Moscow State University (119234, Moscow, Leninskie Gory, 1; tel. (495) 939-10-00; e-mail: Sikolesnikov2012@gmail.com) <https://orcid.org/0000-0003-2124-6328>

Борисенко А.Ю.¹, Джиоев Ю.П.¹, Перетолчина Н.П.¹, Степаненко Л.А.¹, Кузьминова В.А.²,
Кокорина Л.А.¹, Землянская Ю.М.¹, Арефьева Н.А.², Рева О.Н.³, Wang Y.⁴, Qu Z.⁴,
Злобин В.И.¹

Биоинформационный поиск и анализ структур CRISPR/Cas-систем в геноме штамма *Staphylococcus aureus* и оценка профилей фаговых рас, детектируемых через CRISPR-кассету бактерий *

¹ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

² ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1, Россия)

³ Центр биоинформатики и компьютерной биологии, Кафедра биохимии, генетики и микробиологии, Университет Претории (Pretoria 0002, Private Bag X20, Hatfield, 0028, South Africa)

⁴ Кафедра микробиологии, Медицинский университет Харбина (Harbin 157, Baojian Rd, Nangang Qu, Haerbin Shi, Heilongjiang Sheng, China)

Устойчивость к медицинским препаратам среди важных бактериальных патогенов признаётся одной из основных угроз для общественного здравоохранения. Увеличение количества резистентных инфекции остаётся серьёзной проблемой современного здравоохранения. Самыми распространёнными микроорганизмами являются устойчивые к пенициллину *Streptococcus pneumoniae*, устойчивые к ванкомицину энтерококки и метициллин- и ванкомицин-резистентные штаммы *Staphylococcus aureus*. Эти резистентности в условно-патогенных бактериях сделали невозможной антимикробную терапию многих инфекций. По этим причинам учёным необходимо разрабатывать новые способы лечения бактериальных инфекций. В выполненной научной работе демонстрируется совершенно новый способ для оценки устойчивости золотистого стафилококка к бактериофагам при помощи биоинформационного алгоритма из поисковых биоинформационных программ. В результате удалось обнаружить и представить гены CRISPR-системы и две CRISPR-кассеты, состоящие из спейсеров, разделённых повторами. В выполненной работе удалось не только обнаружить, но и выявить тип CRISPR/Cas-системы штамма *S. aureus* (тип IIIA). Обнаруженные последовательности спейсеров в CRISPR-кассетах оказались идентичны протоспейсерам бактериофагов рода *Staphylococcus*, *Mycobacterium*, *Streptococcus*, *Vacillus*, *Gordonia*, *Arthrobacter*, *Streptomyces*. Алгоритм программных методов поиска локусов CRISPR/Cas-систем может быть применён на многих других расшифрованных бактериальных геномах с целью возврата бактериофаговой терапии.

Ключевые слова: геном штамма *Staphylococcus aureus*, программные методы биоинформатики, CRISPR/Cas-система, спейсеры, повторы, протоспейсеры, бактериофаги

Для цитирования: Борисенко А.Ю., Джиоев Ю.П., Перетолчина Н.П., Степаненко Л.А., Кузьминова В.А., Кокорина Л.А., Землянская Ю.М., Арефьева Н.А., Рева О., Wang Y., Qu Z., Злобин В.И. Биоинформационный поиск и анализ структур CRISPR/Cas-систем в геноме штамма *Staphylococcus aureus* и оценка профилей фаговых рас, детектируемых через CRISPR-кассету бактерий. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 49-53, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.7.

Bioinformation Search and Analysis of Structures of CRISPR/Cas Systems in Phage *Staphylococcus aureus* Genome and Estimation of Profiles of Phage Detected through CRISPR-Cassette Bacteria

Borisenko A.Yu.¹, Dzhioev Yu.P.¹, Peretolchina N.P.¹, Stepanenko L.A.¹, Kuzminova V.A.²,
Zemlyanskaya Yu.M.¹, Kokorina L.A.¹, Arefieva N.A.², Reva O.N.³, Wang Y.⁴, Qu Z.⁴,
Zlobin V.I.¹

¹ Irkutsk State Medical University (ul. Krasnogo Vosstaniya 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

² Irkutsk State University (ul. Karla Marksa 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

³ Centre for Bioinformatics and Computational Biology, Department of Biochemistry, Genetics and Microbiology, University of Pretoria (Pretoria 0002, Private Bag X20, Hatfield, 0028, South Africa)

⁴ Department of Microbiology, Harbin Medical University (Harbin 157, Baojian Rd, Nangang Qu, Haerbin Shi, Heilongjiang Sheng, China)

The emergence of resistance among the most important bacterial pathogens is generally recognized as one of the major public health problems. The most important of these organisms are penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*,

* Статья опубликована на основании доклада на III Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, октябрь, 2018).

vancomycin-resistant enterococci and methicillin- and vancomycin-resistant Staphylococcus aureus. These antibiotic resistance in common pathogens have made antimicrobial therapy of many infections. Scientists need to look for new ways of treating bacterial infections in the work, using the developed algorithm from the methods of search software in the genomic structure of Staphylococcus aureus subsp. aureus ST228, the CRISPR/Cas locus and the division structures of its CRISPR cassette. The results of the bacteriophage search through the decoded spacer sequences of CRISPR-cassettes of this strain were also obtained using the developed algorithm of the software methods of bioinformatics. It was determined that the CRISPR/Cas system of strain of ST228 of S. aureus was of type IIIA. It is shown that cas-genes are in the immediate vicinity of CRISPR cassettes. The spacer structures in the detected CRISPR cassette are the Staphylococcus, Mycobacterium, Streptococcus, Bacillus, Gordonia, Arthrobacter, Streptomyces. The implementation of the algorithm of program methods for locating CRISPR/Cas-loci can be applied to many other decoded bacterial genomes to return bacteriophage therapy.

Key words: genome of *Staphylococcus aureus*, program methods of bioinformatics, CRISPR/Cas-system, spacers, repeats, protospacers, bacteriophages

For citation: Borisenko A.Yu., Dzhioev Yu.P., Peretolchina N.P., Stepanenko L.A., Kuzminova V.A., Zemlyanskaya Yu.M., Kokorina L.A., Arefieva N.A., Reva O.N., Wang Y., Qu Z., Zlobin V.I. Bioinformation Search and Analysis of Structures of CRISPR/Cas Systems in Phage *Staphylococcus Aureus* Genome and Estimation of Profiles of Phage Detected through CRISPR-Cassette Bacteria. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 49-53, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.7.

За прошлые несколько десятилетий в медицине, ветеринарии и сельском хозяйстве возросло нерациональное использование антибиотиков. Появление резистентных инфекционных бактерий становится важной проблемой, которая приводит к возрождению инфекционных болезней с более тяжёлыми последствиями. Среди наиболее опасных остаются инфекции, вызываемые золотистым стафилококком [3, 9]. Сегодня в медицинской практике тяжёлые и летальные инфекции вызываются ассоциациями бактерий. Данные группы бактерий Американское сообщество по инфекционным болезням (IDSA) охарактеризовало как «ESCAPE» патогены (англ. *escape* – избегать, ускользнуть). В данную группу *Staphylococcus aureus* входит одним из первых [2, 8]. С появлением множественной лекарственной резистентности патогенов к препаратам актуальным становится поиск новых способов защиты и лечения. В практической медицине проявляется заинтересованность в использовании бактериофагов для лечения инфекций с целью уничтожения патогенов [4, 5]. На сегодняшний день доступно моделирование процессов патогенности, изменчивости, адаптации к условиям среды и устойчивости к препаратам у бактерий на генетическом уровне благодаря накопленным базам данных геномов бактерий и компьютерных биоинформационных программ [1]. Благодаря молекулярно-генетическим методам была открыта молекулярная система бактериального «адаптивного иммунитета». Эту систему назвали CRISPR/Cas (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats; CRISPR-associated proteins, или малые нуклеотидные повторы, собранные в группы с CRISPR-ассоциированными генами, кодирующими cas-белки) [7]. CRISPR реализует интеграцию в геном бактерий фрагменты ДНК бактериофагов и плазмид (спейсеры), что в будущем придаёт бактериям защиту к данным фагам и плазмидам при повторном заражении [1, 6].

На основании вышеизложенного **целью данной работы** являлась демонстрация биоинформационного программного алгоритма поиска структур CRISPR/Cas-системы в геноме *S. aureus* и оценка возможностей идентифицировать фаговые расы через протоспейсерные последовательности в CRISPR-кассетах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве материала для исследования использовали геном *Staphylococcus aureus* sub. *aureus* USA300_FPR3757 (№ NC_007793.1 в GenBank) в виде нуклеотидной и аминокислотной последовательностей. Благодаря моделированию в программе Macromolecular System Finder (MacSyF, ver. 1.0.2) реализовали обнаружение CRISPR/Cas-системы. За молекулярные совпадения отвечали дополнительные пакеты обеспечения makeblastDB (ver. 3.0) и HMMER (ver. 2.2.28). Данные пакеты позволили определить функциональные и структурные характеристики cas-генов. Обнаружение кластерных участков (CRISPR-кассет) производили посредством программ: CRISPR RT (<http://www.room220.com/crt/>); CRISPI: CRISPR-interactive database (<http://crispi.genouest.org>); CRISPRsFinder (<http://crispr.u-psud.fr/>); CRISPRDetect: A flexible algorithm to define CRISPR arrays (http://brownlabtools.otago.ac.nz/CRISPRDetect/predict_crispr_array.html).

Посредством биоинформационных алгоритмов BLASTn по молекулярным базам Gen_Bank-Phage использовали программы CRISPRTarget (http://bioanalysis.otago.ac.nz/CRISPRTarget/crispr_analysis.html) и Mycobacteriophage Database (<http://phagesdb.org/blast/>) для детекции бактериофагов и плазмид в обнаруженных спейсерных участках.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выяснено, что в анализируемом геноме присутствует CRISPR/Cas-система, относящаяся к типу IIIA. В подтверждение полученного результата удалось обнаружить и визуализировать cas-гены, представленные в таблице 1.

CRISPR-система IIIA типа уничтожает синтезирующиеся фрагменты аминокислот и разрезает чужеродную DNA-мишень за счёт уникальных аминокислотных участков Cas-10, не связанных с распознаванием мишени. Активируемый Cmr-4 и Csm-3, комплексами CMR и CSM, осуществляется гидролиз RNA. В связи с этим важным для генома *S. aureus* остаётся то, что комплекс III-A разрушает DNA и RNA. Вблизи с комплексом cas-генов обнаружены 2 CRISPR-касеты, вбирающие в себя межспейсерные повторы размером до 28 н. о. (рис. 1).

Таблица 1

Характеристика cas-, csm-генов в геноме штамма *S. aureus* NC_007793.1

Table 1
Structural and functional characteristics of cas-, csm-genes in the genome of *S. aureus* strain NC_007793.1

| Sequence ID | Position | System | Protein length (aa) | Score | i-evalue | Profile coverage | Sequence coverage | Begin match | End match |
|--|----------|--------|---------------------|-------|-----------|------------------|-------------------|-------------|-----------|
| lcl NC_007793.1_prot_WP_001548033.1_806 | 806 | CAS | 360 | 43.5 | 3.3e-12 | 0.55 | 0.53 | 133 | 321 |
| lcl NC_007793.1_prot_WP_001062180.1_1686 | 1686 | CAS | 448 | 40 | 3.8e-11 | 0.57 | 0.44 | 0.44 | 343 |
| lcl NC_007793.1_prot_WP_001178942.1_2245 | 2245 | CAS | 506 | 25.3 | 0.0000012 | 0.54 | 0.38 | 0.38 | 336 |
| lcl NC_007793.1_prot_WP_001548033.1_806 | 806 | CAS | 360 | 43.5 | 3.3e-12 | 0.55 | 0.53 | 133 | 321 |
| lcl NC_007793.1_prot_WP_001062180.1_1686 | 1686 | CAS | 448 | 40 | 3.8e-11 | 0.57 | 0.44 | 0.44 | 343 |
| lcl NC_007793.1_prot_WP_001178942.1_2245 | 2245 | CAS | 506 | 25.3 | 0.0000012 | 0.54 | 0.38 | 0.38 | 336 |

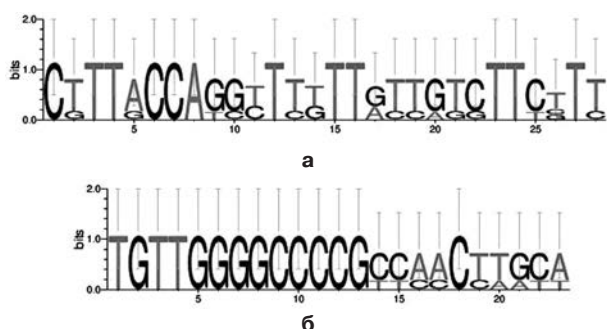


Рис. 1. Консенсусные структуры повторов в геноме штамма *S. aureus* USA300_FPR3757: а – 1 CRISPR-cassette; б – 2 CRISPR-cassette.

Fig. 1. Consensus patterns of repeats in the genome of *S. aureus* strain USA300_FPR3757: а – 1 CRISPR-cassette; б – 2 CRISPR-cassette.

Первая CRISPR-кассета содержит 4 спейсера (позиция в геноме: 128457–128712), вторая кассета содержит 3 спейсерных последовательности (позиция: 2388923–2389116).

В результате биоинформационного анализа последовательностей спейсеров CRISPR-кассет был осуществлён анализ бактериофагов из базы National Center for Biotechnology Information (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), идентичных данным спейсерным последовательностям. Через соответствующие прото-

спейсеры обнаруженных бактериофаговых участков определили их принадлежность к следующим родам: *Mycobacterium phage*, *Streptococcus phage*, *Gordonia phage* (табл. 2).

Используемый программный алгоритм позволяет выявлять CRISPR/Cas-системы в геномах бактерий, осуществлять оценку степени их устойчивости к чужеродным РНК и ДНК бактериофагов и плазмид. Кроме того, удалось выявить спейсерные последовательности в обнаруженных CRISPR-кассетах и определить межспейсерные повторы. Используемые программы позволили выявить и охарактеризовать cas-гены и определить принадлежность CRISPR/Cas-системы бактерии – IIIA тип. Благодаря используемым биоинформационным программам удалось идентифицировать бактериофагов по спейсерам у *S. aureus*. Дальнейший анализ бактериофагов, идентичных спейсерным участкам CRISPR-системы, позволяет оценить степень бактериофаговой устойчивости штамма. Полученная информация о количестве спейсеров и степень их идентичности к протоспейсерам демонстрируют межвидовые генетические взаимодействия. Выявлено, что на анализируемый штамм *S. aureus* USA300_FPR3757, наибольшее генетическое влияние оказывали бактериофаги рода *Mycobacterium*, *Streptococcus*, *Gordonia*. Разработанный алгоритм программных методов поиска локусов

Таблица 2

Структуры спейсеров в CRISPR-кассетах штамма *S. aureus* NC_007793.1 и детектируемые ими бактериофаги

Table 2

Spacer structures in CRISPR cassettes of *S. aureus* strain NC_007793.1 and the bacteriophages detected by them

| № | CRISPR-кассета | Совпадение н. о. | Комплементарные бактериофаги | № GenBank |
|---------------------------------|---|------------------|---|-------------|
| Spacers 1 CRISPR-кассеты | | | | |
| 1 | GCCATCTTCTTGGCAGGCTGTTGCCGTCTT | 30 | <i>Mycobacterium phage Xavia</i> | MH230879.1 |
| 2 | ACCAGGCTTGTGCCATCTT | 28 | <i>Streptomyces phage phiSASD1</i> | NC_014229.1 |
| 3 | ACCAGGCTTGTGCCGTCTTCTTGGCAGGCTGTTGTTGTCTT | 30 | <i>Mycobacterium phage Ph8s</i> | MG099947.1 |
| 4 | GCCAGGCTGTTATTGTCTT | 29 | <i>Mycobacterium phage ShedlockHolmes</i> | NC_028846.1 |
| Spacers 2 CRISPR-кассеты | | | | |
| 1 | CATTATTGTATGCTGACTTTTCGTACCTTCTG | 28 | <i>Streptomyces phage ToastyFinz</i> | KY676784.1 |
| 2 | TGCATTGTCTGTAGAATTTCTTTTGAATTCTCTA | 32 | <i>Gordonia phage Kabluna</i> | MF919510.1 |
| 3 | CATTATTGTAAGCTGACTTTCTGTCTGCTTCTG | 32 | <i>Mycobacterium phage TM4</i> | NC_003387.1 |

CRISPR/Cas-систем может быть применён на многих других расшифрованных бактериальных геномах. Структуры спейсеров в CRISPR-системах позволяют определять степень устойчивости бактерий к специфичным бактериофагам, что важно для разработки технологии бактериофаговой терапии.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Иркутской области в рамках научного проекта № 17-415-380005.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Борисенко А.Ю., Джиоев Ю.П., Парамонов А.И., Букин Ю.С., Степаненко Л.А., Колбасеева О.В., Злобин В.И. Использование биоинформационных программных методов для поиска CRISPR/Cas-систем в геномах штаммов *Staphylococcus aureus* // Сибирский медицинский журнал. – 2015. – Т. 133, № 2. – С. 71–74.

Borisenko AYU, Dzhioev YuP, Paramonov AI, Bukin YuS, Stepanenko LA, Zlobin VI. (2015). Using bioinformatics software methods for searching CRISPR/Cas systems in the genomes of *Staphylococcus aureus* strains [Ispol'zovanie bioinformatsionnykh programmnykh metodov dlya poiska CRISPR/Cas-sistem v genomakh shtammov *Staphylococcus aureus*]. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*, 133 (2), 71-74.

2. Борисенко А.Ю., Джиоев Ю.П., Перетолчина Н.П., Злобин В.И., Воскресенская Е.А., Степаненко Л.А., Зелинская Н.Е., Колбасеева О.В., Шмидт Н.В., Малов И.В. Биоинформационные алгоритмы поиска и анализа CRISPR/Cas-систем и фаговых профилей в геноме штамма *Staphylococcus aureus* M1216 // Журнал инфектологии. – 2016. – Т. 8, № 2. – С. 27–28.

Borisenko AYU, Dzhioev YuP, Peretolchina NP, Zlobin VI, Voskresenskaya EA, Stepanenko LA, Zelinskaya NE, Kolbaseeva OV, Schmidt NV, Malov IV. (2016). Bioinformatics algorithms for searching and analysis of CRISPR/Cas-systems and phage profiles in the genome of

Staphylococcus aureus strain M1216 [Bioinformatsionnye algoritmy poiska i analiza CRISPR/Cas-sistem i fagovykh profiley v genome shtamma *Staphylococcus aureus* M1216]. *Zhurnal infektologii*, 8 (2), 27-28.

3. Козлов Р.С. Селекция резистентных микроорганизмов: концепция параллельного ущерба // Клиническая микробиология, антимикробная химиотерапия. – 2010. – Т. 12, № 4. – С. 284–292.

Kozlov RS. (2010). Selection of resistant microorganisms: the concept of parallel damage [Seleksiya rezistentnykh mikroorganizmov: kontseptsiya parallel'nogo ushcherba]. *Klinicheskaya mikrobiologiya, antimikrobnaya khimioterapiya*, 12 (4), 284-292.

4. Biswas A, Gagnon JN, Brouns SJ, Fineran PC, Brown CM. (2013). CRISPR Target: Bioinformatic prediction and analysis of crRNA targets. *RNA Biology*, 10 (5), 817-827. DOI: 10.4161/rna.24046

5. Bondy-Denomy J, Garcia B, Strum S, Du M, Rollins MF, Hidalgo-Reyes Y, Wiedenheft B, Maxwell KL, Davidson AR. (2015). Multiple mechanisms for CRISPR-Cas inhibition by anti-CRISPR proteins. *Nature*, 526 (7571), 136-139. DOI: 10.1038/nature15254


6. Choi JY, Kim Y, Ko EA, Park YK, Jheong WH, Ko G, Ko KS. (2012). Acinetobacter species isolates from a range of environments: species survey and observations of antimicrobial resistance. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 74 (2), 177-180. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2012.06.023


7. Gasiunas G, Sinkunas T, Siksnys V. (2014). Molecular mechanisms of CRISPR-mediated microbial immunity. *Cell Mol Life Sci*, 71 (3), 449-465. DOI:10.1007/s00018-013-1438-6


8. Leon LM, Mendoza SD, Bondy-Denomy J. (2017). How bacteria control the CRISPR-Cas arsenal. *Curr Opin Microbiol*, 20 (3), 87-95. DOI: 10.1016/j.mib.2017.11.005


9. Nosheen S, Ejaz H, Zafar A, Ikram H. (2017). Antibacterial activity of penicillins alone and in combination with different agents against *Staphylococcus aureus*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 30 (2), 393-397. PMID:28649062


Сведения об авторах Information about the authors

Борисенко Андрей Юрьевич – аспирант, ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, тел. (3952) 24-30-16; e-mail: 89500720225@mail.ru)  <https://orcid.org/0000-0001-6094-5864>


Borisenko Andrey Yurievich – Postgraduate, Teaching Assistant at the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Irkutsk State Medical University (664003, Irkutsk, ul. Krasnogo Vosstania, 1, tel. (3952) 24-30-16; e-mail: 89500720225@mail.ru)  <https://orcid.org/0000-0001-6094-5864>


Джиоев Юрий Павлович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной вирусологии и биотехнологии НИИ биомедицинских технологий, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: alanir07@mail.ru)  <https://orcid.org/0000-0001-5410-5113>

Dzhioev Yuri Pavlovich – Candidate of Biological Sciences, Leading Research Officer, Head of the Laboratory of Molecular Virology and Biotechnology, Research Institute of Biomedical Technologies, Irkutsk State Medical University (e-mail: alanir07@mail.ru)  <https://orcid.org/0000-0001-5410-5113>

Перетолчина Надежда Павловна – аспирант кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: nadine1lenz@gmail.com)  <https://orcid.org/0000-0001-9426-5197>

Peretolchina Nadezhda Pavlovna – Postgraduate at the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Irkutsk State Medical University (e-mail: nadine1lenz@gmail.com)  <https://orcid.org/0000-0001-9426-5197>

Степаненко Лилия Александровна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной вирусологии и биотехнологии НИИ биомедицинских технологий, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: steplia@mail.ru)  <https://orcid.org/0000-0002-5792-7283>

Stepanenko Lilia Alexandrovna – Candidate of Medical Sciences, Senior Research Officer at the Laboratory of Molecular Virology and Biotechnology, Research Institute of Biomedical Technologies, Irkutsk State Medical University (e-mail: steplia@mail.ru)  <https://orcid.org/0000-0002-5792-7283>

Кузьмина Валерия Андреевна – студентка 3-го курса кафедры физико-химической биологии биолого-почвенного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1; e-mail: ewwwrye@gmail.com)

Kuzmina Valeria Andreevna – 3rd year student at the Department of Physicochemical Biology of the Faculty of Biology and Soil Science, Irkutsk State University (664003, Irkutsk, ul. Karla Marksa, 1; e-mail: ewwwrye@gmail.com)

Кокорина Любовь Александровна – ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: l.kokorina@ismu.baikal.ru)

Kokorina Lyubov Alexandrovna – Teaching Assistant at the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Irkutsk State Medical University (e-mail: l.kokorina@ismu.baikal.ru)

Землянская Юлия Михайловна – кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: yu.zemlyanskaya@ismu.baikal.ru)


Zemlyanskaya Yulia Mikhailovna – Candidate of Medical Sciences, Senior Lecturer at the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Irkutsk State Medical University (e-mail: yu.zemlyanskaya@ismu.baikal.ru)


Арефьева Надежда Александровна – студентка 3-го курса кафедры физико-химической биологии биолого-почвенного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (e-mail: arefieva.n4@gmail.com)

Arefieva Nadezhda Alexandrovna – 3rd year student at the Department of Physicochemical Biology of the Faculty of Biology and Soil Science, Irkutsk State University (e-mail: arefieva.n4@gmail.com)

Рева Олег Николаевич – кандидат биологических наук, доцент Центра биоинформатики и компьютерной биологии, кафедра биохимии, генетики и микробиологии, Университет Претории (ЮАР) (Pretoria 0002, Private Bag X20, Hatfield, 0028, South Africa; e-mail: reva@mail.ru)


Reva Oleg Nikolaevich – PhD in Biology, Associate Professor, Centre for Bioinformatics and Computational Biology, Department of Biochemistry, Genetics and Microbiology, University of Pretoria (Pretoria 0002, Private Bag X20, Hatfield, 0028, South Africa; e-mail: reva@mail.ru)


Инчин Ванг – аспирант кафедры микробиологии, Харбинский медицинский университет (Harbin 157, Baojian Rd, Nangang Qu, Haerbin Shi, Heilongjiang Sheng, China; e-mail: dino1987@163.com)  <http://orcid.org/0000-0003-3376-6224>

Yingchen Wang – Postgraduate at the Department of Microbiology, School of Public Health, Harbin Medical University (Harbin 157, Baojian Rd, Nangang Qu, Haerbin Shi, Heilongjiang Sheng, China; e-mail: dino1987@163.com)  <http://orcid.org/0000-0003-3376-6224>

Чжан Ку – профессор, заведующий кафедрой микробиологии, Харбинский медицинский университет (e-mail qurainbow@126.com)

Zhangyi Qu – Professor, Director of the Department of Microbiology, School of Public Health, Harbin Medical University (e-mail qurainbow@126.com)

Злобин Владимир Игоревич – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии, директор НИИ биомедицинских технологий, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: vizlobin@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0002-0164-5113>

Zlobin Vladimir Igorevich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of RAS, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Director of the Research Institute of Biomedical Technologies, Irkutsk State Medical University (e-mail: vizlobin@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0002-0164-5113>

Перетолчина Н.П.^{1,2}, Борисенко А.Ю.¹, Джиоев Ю.П.¹, Злобин В.И.¹

Сравнительный анализ CRISPR-систем штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953 и IP31758 *

¹ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

² ФКУЗ Иркутский ордена научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78, Россия)

*Псевдотуберкулёз сохраняет свою актуальность для здравоохранения России и многих зарубежных стран. Для мониторинга популяций *Y. pseudotuberculosis* перспективно использование CRISPR-типирования, обладающего, как показано при изучении *Y. pestis*, высокой разрешающей способностью.*

*Цель настоящего исследования: охарактеризовать и сравнить CRISPR-локусы штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953 и IP31758, вызывающих, соответственно, классическую псевдотуберкулёзную инфекцию и дальневосточную скарлатиноподобную лихорадку.*

*Материалы и методы. Проанализированы полногеномные последовательности штаммов *Y. pseudotuberculosis* IP329353 и IP31758 (NC_006155 и NC_009708 соответственно). Поиск, идентификация и анализ CRISPR-систем выполнены с использованием онлайн-приложений CRISPROne, CRISPRDetect и CRISPRTarget.*

*Результаты. В геноме исследуемых штаммов обнаружены CRISPR-Cas системы, которые включают в себя один набор cas-генов и несколько локусов, значительно удалённых друг от друга. В геноме штамма *Y. pseudotuberculosis* IP329353 три локуса: YP1, находящийся в непосредственной близости от cas-генов, YP2 и YP3. CRISPR/Cas-система *Y. pseudotuberculosis* IP31758 представлена только двумя кассетами – YP1 и YP2. CRISPR-системы исследуемых штаммов не имеют одинаковых спейсеров. CRISPR/Cas-системы исследованных штаммов отличаются количеством CRISPR-локусов, их спейсерным составом и структурой cas-белков.*

*Заключение. Полученные результаты определяют перспективу использования CRISPR-локусов в качестве специфических молекулярных маркеров штаммов при изучении внутривидового разнообразия и эволюции *Y. pseudotuberculosis*.*

Ключевые слова: CRISPR-Cas система, псевдотуберкулёз, *Y. pseudotuberculosis*

Для цитирования: Перетолчина Н.П., Борисенко А.Ю., Джиоев Ю.П., Злобин В.И. Сравнительный анализ CRISPR-систем штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953 и IP31758. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 54-58, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.8.

Comparative Analysis of CRISPR-Cas System Structures of *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953 and IP31758

Peretolchina N.P.^{1,2}, Borisenko A.Y.¹, Dzhioev Yu.P.¹, Zlobin V.I.¹

¹ Irkutsk State Medical University (ul. Krasnogo Vosstaniya 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

² Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor (ul. Trilissera 78, Irkutsk 664047, Russian Federation)

*Background. Pseudotuberculosis is still relevant problem in medical science and public health of Russia and other countries. Typing of *Y. pseudotuberculosis* strains by their CRISPR systems is a perspective tool for monitoring of *Yersinia* populations as was shown in *Y. pestis*.*

*Aims. Here we describe and compare CRISPR-Cas systems of *Yersinia pseudotuberculosis* strains IP32953 and IP31758 causing classic pseudotuberculosis and Far-East scarlet-like fever (FESLF) respectively.*

*Materials and methods. Complete genomes of *Y. pseudotuberculosis* IP329353 and IP31758 (NC_006155 and NC_009708 respectively) were obtained from NCBI Nucleotide Database. Search, identification, and analysis of CRISPR systems were carried out by online-tools CRISPROne, CRISPRDetect, and CRISPRTarget.*

*Results and discussion. Analyzed strains have CRISPR-Cas systems that include one set of cas-genes and arrays situated at the long distances from each other. We defined three CRISPR arrays in *Y. pseudotuberculosis* IP32953 by the combination of program methods. CRISPR-Cas system of this strain consist of array YP1 located near cas-genes, arrays YP2 and YP3. CRISPR-Cas system of *Y. pseudotuberculosis* IP31758 includes two arrays – YP1 and YP3. CRISPR systems do not share similar spacers. CRISPR systems of the analyzed strains differ in CRISPR loci and cas-protein structures that can be used as specific marks of analyzed strains.*

*Conclusions. We suggest that acquisition of certain spacers may play a role in evolution and divergence of *Y. pseudotuberculosis* strains.*

Key words: CRISPR-Cas system, pseudotuberculosis, *Y. pseudotuberculosis*

For citation: Peretolchina N.P., Borisenko A.Yu., Dzhioev Yu.P., Zlobin V.I. Comparative analysis of CRISPR-Cas system structures of *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953 and IP31758. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 54-58, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.8.

* Статья опубликована на основании доклада на III Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, октябрь, 2018).

CRISPR-Cas система (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-CRISPR-associated proteins, короткие регулярно расположенные палиндромные повторы/CRISPR-ассоциированные белки) является специфическим адаптивным иммунитетом бактерий, действие которого направлено против мобильных генетических элементов (МГЭ). CRISPR-система состоит из CRISPR-локусов и cas-генов. CRISPR-локусы представлены набором коротких палиндромных повторов (21–47 п. н.), разделённых штамм-специфичными спейсерными последовательностями (спейсеры). Данные последовательности комплементарны участкам нуклеиновых кислот фагов и плазмид, с которыми спейсеры способны взаимодействовать и индуцировать разрушение генетического материала МГЭ (рис. 1).

При этом cas-гены, расположенные в непосредственной близости от кассеты, необходимы для синтеза белков, участвующих в трёх этапах «иммунного ответа» бактерий: адаптации, транскрипции и процессинге CRISPR РНК (сrРНК) и интерференции [13] (см. рис. 1).

Во время первичной инфекции бактериофага CRISPR-система с помощью белков cas1 и cas2 вырезает и вставляет небольшой фрагмент ДНК бактериофага в начало CRISPR-кассеты бактерии со стороны лидерной последовательности. При вторичном инфицировании бактерии бактериофагом, содержащим интегрированный фрагмент ДНК, запускается транскрипция CRISPR-локуса и синтезируется молекула пре-crРНК, состоящая из всех спейсерных последовательностей и повторов. В процессе созревания пре-crРНК разрезается на фрагменты, включающие в себя одну спейсерную последовательность и фланкирующие её повторы. Зрелая crРНК связывается с комплексом белков, образуя Cascade, эффекторный CRISPR-ассоциированный комплекс противовирусной

защиты. Образованная структура узнаёт протоспейсерную последовательность в геноме бактериофага и активирует нуклеазы, которые разрушают молекулу ДНК бактериофага [7].

Установлено, что CRISPR-система иерсиний включает в себя от одного до трёх локусов и один набор cas-генов, состоящий из универсального для всех типов систем гена *cas1* и типоспецифических (IF) генов *cas3f*, *cas8f*, *cas5f*, *cas7f* и *cas6f* [1, 9] (рис. 2).

Представители рода *Yersinia* часто используются исследователями в качестве объекта для изучения меж- и внутривидовой эволюции, так как включают большое число разнообразных патогенных и непатогенных видов: возбудителя особо опасной инфекции – чумы, *Yersinia pestis*; возбудителей псевдотуберкулёза и кишечного иерсиниоза *Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia enterocolitica*, и ряд непатогенных видов иерсиний. Полидетерминантная природа патогенных свойств *Y. pseudotuberculosis* обуславливает многообразие клинических форм инфекции. В своих предыдущих публикациях К.А. Koskela et al. (2015) и Т. Seecharran et al. (2017) охарактеризовали CRISPR-локусы *Y. pseudotuberculosis* и предположили возможные механизмы приобретения CRISPR/Cas системы и её роль в эволюции бактерии [8, 12].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Сравнение CRISPR-систем двух штаммов, выделенных на различных территориях от пациентов с разными клиническими проявлениями псевдотуберкулёза, и определение специфических различий в спейсерном составе и структуре cas-белков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучены полногеномные последовательности штаммов *Y. pseudotuberculosis* IP329353 и IP31758 из базы данных NCBI Nucleotide (NC_006155 и NC_009708

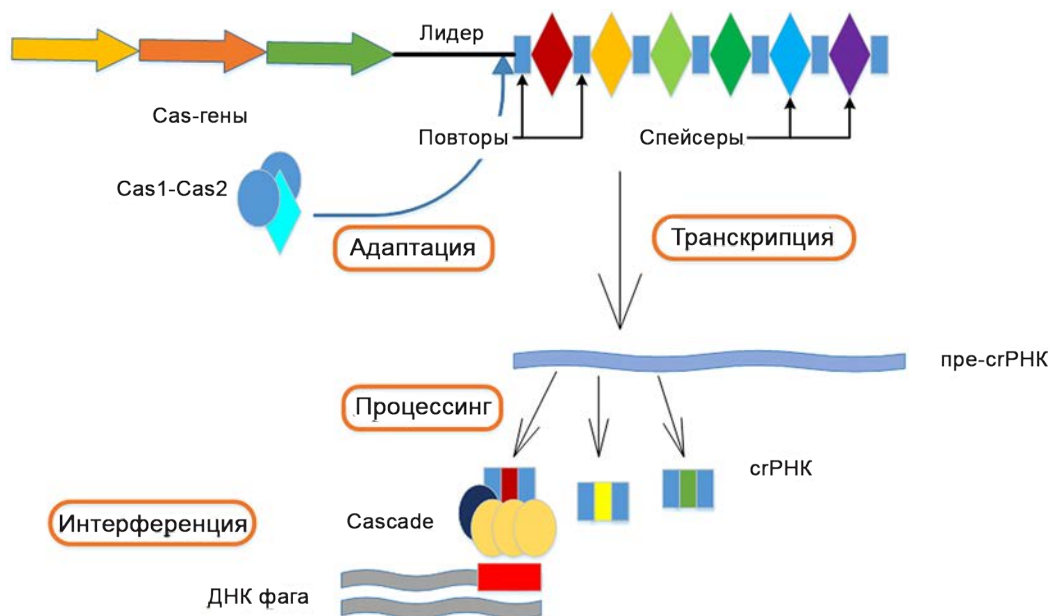


Рис. 1. Структура и принцип функционирования CRISPR-Cas системы первого класса.

Fig. 1. Structure and mechanism of immunity of class 1 CRISPR-Cas system.

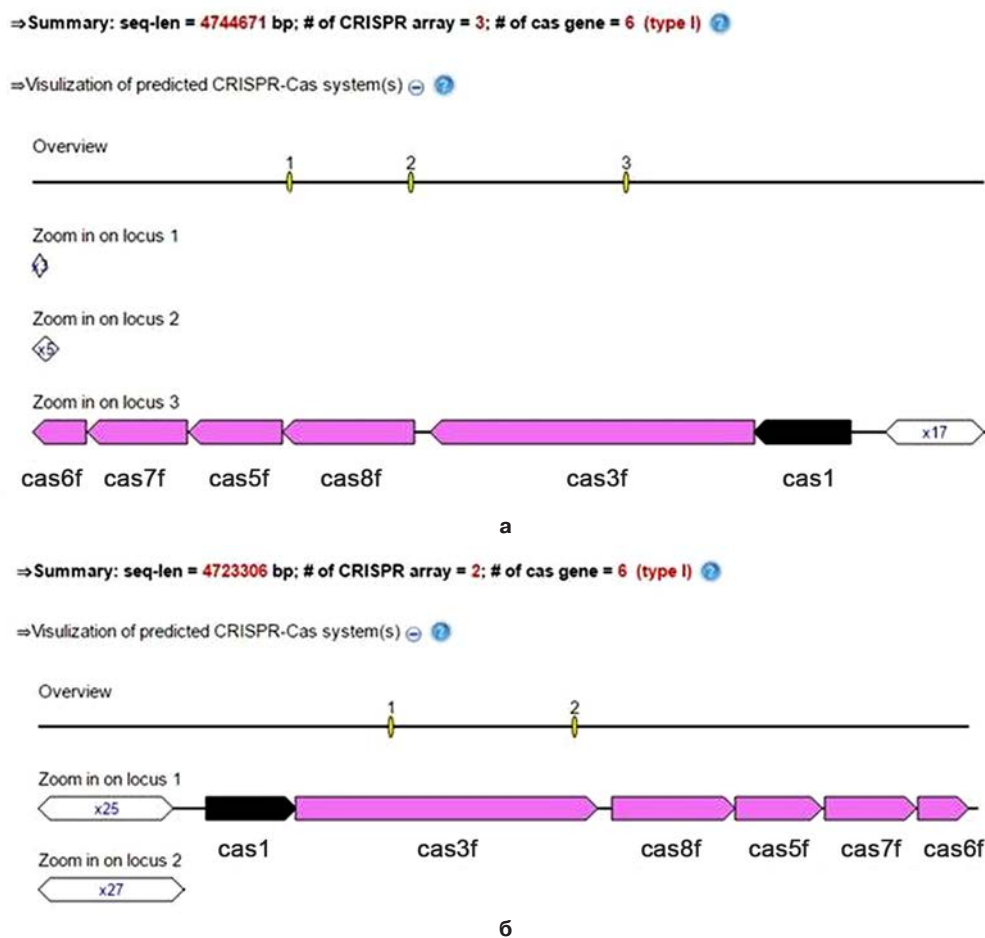


Рис. 2. Структура CRISPR-Cas системы *Y. pseudotuberculosis*: **а** – штамм IP32953; **б** – штамм IP31758.
Fig. 2. Structure of CRISPR-Cas system of *Y. pseudotuberculosis*: **a** – strain IP32953; **b** – strain IP31758.

соответственно) и проанализированы с помощью пакета программ. Для идентификации CRISPR-локусов и cas-генов использованы онлайн-приложения CRISPROne (<http://omics.informatics.indiana.edu/CRISPRone>) и CRISPRDetect (http://brownlabtools.otago.ac.nz/CRISPRDetect/predict_crispr_array.html) [4, 14]. Скрининг фагов и плазмид через спейсерные структуры проводился при помощи онлайн-приложения CRISPRTarget (http://bioanalysis.otago.ac.nz/CRISPRTarget/crispr_analysis.html) [3]. Использованы следующие критерии для отбора протоспейсерных последовательностей: совпадение нуклеотидов между спейсером и протоспейсером не менее 90 %; наличие PAM “GG” со стороны 3'-конца (3'-end PAM-GG-IF). Определение профаговых последовательностей в геномах бактерий проводилось с использованием онлайн-приложения PHASTER (<http://phaster.ca>) [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ

В геномах штаммов *Y. pseudotuberculosis* IP32953 и IP31758 обнаружены CRISPR-Cas системы типа I_F. CRISPR-системы представлены шестью cas-генами и кассетами, количество которых различно: штамм IP32953 имеет три локуса – YP1, YP2 и YP3, штамм IP31758 – два, YP1 и YP3 (см. рис. 2). Количество повторов и спейсеров в локусах различно, не было обнаружено гомологичных спейсерных последовательно-

стей в локусах данных штаммов. Последовательности повторов, наоборот, полностью идентичны, несмотря на встречаемость замен в повторах в конце кассеты. К. Rougach et al. в 2010 г. показали, что транскрипция кассет начинается с лидерной последовательности, поэтому все CRISPR-фрагменты ориентированы со стороны лидерной последовательности [11, 13].

CRISPR-Cas система *Y. pseudotuberculosis* IP32953

В геноме штамма *Y. pseudotuberculosis* IP32953 обнаружено три локуса, удалённых друг от друга. Локус YP1 (2965418–2964428) расположен в непосредственной близости от cas-генов и состоит из 17 повторов, разделённых 16 спейсерами; локусы YP2 (1284328–1284476) и YP3 (1891010–1891277) небольшие по длине и включают в себя 2 и 4 спейсера соответственно. Скрининг гомологичных последовательностей в геномах бактериофагов и плазмид показал соответствия 8 спейсеров с бактериальными и плазмидными последовательностями. Как правило, в месте локализации протоспейсера в геноме бактерии обнаружен профаг (табл. 1).

CRISPR-Cas система *Y. pseudotuberculosis* IP31758

В геноме штамма *Y. pseudotuberculosis* IP31758 обнаружено только два локуса – YP1 и YP3. Локус YP1 (1786721–1788193) также локализован в непосредственной близости от cas-генов, локус

Соответствующие протоспейсерные последовательности спейсерам CRISPR-Cas-системы *Y. pseudotuberculosis* IP32953

Таблица 1

Corresponding protospacers and spacers of CRISPR-Cas system of *Y. pseudotuberculosis* IP32953

Table 2

| Спейсер | PAM-3' | Протоспейсер | Бактериофаг | Совпадение |
|---------|--------|--|--|------------|
| YP1-1 | GG | CP009780 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> PB1/+ | NC_022747, Vibrio phage VPUSM 8 (intact) | 1,00 |
| YP1-4 | | CP009801 <i>Yersinia intermedia</i> Y228 | NC_016158, Escherichia phage HK639 (intact) | 1,00 |
| | | CP007448 <i>Yersinia enterocolitica</i> LC20 | NC_022749, Shigella phage SfIV (intact) | 1,00 |
| | | CP009364 <i>Yersinia frederiksenii</i> Y225 | NC_019927, Cronobacter phage ENT47670 (intact) | 0,97 |
| | | CP009997 <i>Yersinia kristensenii</i> Y231 | NC_019927, Cronobacter phage ENT47670 (intact) | 0,97 |
| YP1-15 | | CP009792 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> YPIII | NC_005886, Burkholderia phage BcepB1A (questionable) | 0,97 |
| | GG | CP007230 <i>Yersinia similis</i> strain 228 | NC_005886, Burkholderia phage BcepB1A (questionable) | 0,97 |
| YP1-16 | | CP007230 <i>Yersinia similis</i> strain 228 | NC_005886, Burkholderia phage BcepB1A (incomplete) | 0,97 |
| YP2-1 | GG | NC_009705 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> IP31758 plasmid_153kb | | 0,91 |
| YP2-2 | GG | NZ_CP028488 <i>Yersinia massiliensis</i> strain GTA plasmid unnamed1 | | 0,97 |
| YP3-1 | GG | CP013913.1 <i>Serratia fonticola</i> strain GS2 | NC_019501, Enterobacteria phage IME10 (intact) | 0,94 |
| YP3-4 | GG | CP007230 <i>Yersinia similis</i> strain 228 | NC_005886, Burkholderia phage BcepB1A (incomplete) | 0,97 |

Соответствующие протоспейсерные последовательности спейсерам CRISPR-Cas-системы *Y. pseudotuberculosis* IP31758

Таблица 2

Corresponding protospacers and spacers of CRISPR-Cas system of *Y. pseudotuberculosis* IP31758

Table 2

| Спейсер | PAM-3' | Протоспейсер | Бактериофаг | Совпадение |
|---------|--------|---|--|------------|
| YP1-12 | | CP010067 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> str. PA3606 | | 0,97 |
| YP1-14 | GG | CP009786 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> strain 1 | NC_003444, Enterobacteria phage SfV (intact) | 1,00 |
| | GG | CP009792 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> YPIII | NC_021857, Shigella phage SfII (intact) | 1,00 |
| | GG | CP008943 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> ATCC6904 | NC_003444, Enterobacteria phage SfV (intact) | 1,00 |
| YP1-20 | GG | CP009780 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> PB1/+ | NC_022747, Vibrio phage VPUSM 8 (intact) | 0,97 |
| | GG | CP009712 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> IP32953 | NC_022747, Vibrio phage VPUSM 8 (intact) | 0,97 |
| YP3-2 | | CP009364 <i>Yersinia frederiksenii</i> Y225 | NC_019927, Cronobacter phage ENT47670 (intact) | 0,94 |
| YP3-4 | GG | CP010067 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> PA3606 | NC_028699, Salmonella phage SEN34 (intact) | 1,00 |
| YP3-5 | GG | CP009757 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> MD67 | NC_005886, Burkholderia phage BcepB1A (questionable) | 0,97 |
| YP3-10 | GG | CP009792 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> YPIII | NC_022747, Vibrio phage VPUSM 8 (intact) | 0,94 |
| YP3-17 | GG | CP007230 <i>Yersinia similis</i> strain 228 | NC_016160, Escherichia phage HK75 (intact) | 1,00 |
| YP3-20 | GG | CP009780 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> PB1/+ | NC_022747, Vibrio phage VPUSM 8 (intact) | 1,00 |
| | GG | CP009781 <i>Yersinia aldovae</i> 670-83 | NC_009542, Aeromonas phage phiO18P (intact) | 1,00 |
| | GG | CP009792 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> YPIII | NC_022747, Vibrio phage VPUSM 8 (intact) | 1,00 |
| | GG | CP007448 <i>Yersinia enterocolitica</i> LC20 | NC_022747, Vibrio phage VPUSM 8 (intact) | 1,00 |
| | GG | CP009846 <i>Yersinia enterocolitica</i> 8081 | NC_022747, Vibrio phage VPUSM 8 (intact) | 0,94 |

YP3 (2726751–2728338) удалён от них. Локус YP2 не удалось идентифицировать программными методами, однако спейсеров в локусах представлено больше: 24 спейсера в локусе YP1 и 26 – в локусе YP3. В результате скрининга протоспейсеров в геномах бактериофагов и плазмид обнаружено 9 соответствий спейсеров с бактериальными и фаговыми последовательностями. Протоспейсеров в плаزمидах не обнаружено (табл. 2).

ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе проанализированы два штамма *Y. pseudotuberculosis*, принципиально различающихся между собой. *Y. pseudotuberculosis* IP32953 выделен на территории Франции, штамм IP31758 – на территории Дальнего Востока России. Оба штамма выделены от больных, но клинические проявления псевдотуберкулёза отличаются по тяжести: штамм IP32953 вызывает типичную картину псевдотуберкулёза с преимущественным поражением желудочно-кишечного тракта; штамм IP31758 является возбудителем дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки (ДСЛ) [6].

Основная роль CRISPR-Cas-систем – защита бактерий от внедрения чужеродных МГЭ. Поэтому 72 спейсера исследованных систем проанализированы с целью определения оригинальных протоспейсерных последовательностей. В результате выявлено всего 8 и 9 совпадений протоспейсер-спейсер систем штаммов *Y. pseudotuberculosis* IP32953 и *Y. pseudotuberculosis* IP31758 соответственно. Невозможность идентификации большинства спейсеров может быть объяснена отсутствием секвенированных последовательностей в базе данных NCBI Nucleotide или частыми точечными мутациями в протоспейсерных последовательностях бактериофагов, которые позволяют им избежать узнавания фрагмента ДНК активным комплексом [5].

Однако отмечено, что спейсеры наиболее часто отбираются CRISPR-системой из консервативных частей фагов, например, фрагменты гена, кодирующего структурный белок хвоста бактериофага (см. табл. 1, 2). В результате при скрининге протоспейсеров в геномах бактериофагов встречаются совпадения не только с оригинальным бактериофагом, но и с другими вирусами, имеющие эту же последовательность ДНК. Данный факт, безусловно, затрудняет определение источника спейсера.

Плазмидные последовательности также могут быть источником спейсеров CRISPR-систем. В частности, локус YP2 штамма *Y. pseudotuberculosis* IP32953 состоит из 2 спейсеров, один из которых на 91 % совпадает с фрагментом плазмиды pVM82 *Y. pseudotuberculosis* IP31758. Данная плаزمида кодирует несколько факторов патогенности (система секреции *icm/dot*, *tox*-оперон), участвующих в развитии инфекционного процесса [6, 10]. Возможной причиной приобретения данного спейсера является наличие в геноме плазмиды гена интегразы бактериофага, который является свидетелем предшествующих явлений горизонтального переноса в плазмидной последовательности. Таким образом, можно предположить, что

приобретение спейсера к данной плазмиде может являться точкой расхождения штаммов иерсиний.


Результаты проведённого исследования являются основой для использования CRISPR-типирования при мониторинге циркулирующих штаммов на отдельных территориях и выявления возможной связи структурно-функциональных характеристик выявленных сайтов CRISPR/Cas-систем с клиническими проявлениями иерсиниозов, обусловленных изучаемыми штаммами.


ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Перетолчина Н.П., Джиоев Ю.П., Борисенко А.Ю., Воскресенская Е.А., Парамонов А.И., Степаненко Л.А., Колбасеева О.В., Злобин В.И. Биоинформационный анализ CRISPR/Cas системы штамма *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953 // *Acta biomedica scientifica*. – 2016. – Т. 1, № 5. – С. 64–67. DOI: 10.12737/23384
2. Peretolchina NP, Dzhioev YuP, Borisenko AY, Voskresenskaya EA, Paramonov AI, Stepanenko LA, Kolbaseeva OV, Zlobin VI. (2016). Bioinformation analysis of *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953 CRISPR/Cas system [Bioinformatsionnyy analiz CRISPR/Cas sistemy shtamma *Yersinia pseudotuberculosis* IP32953]. *Acta biomedica scientifica*, 1 (5), 64-67. DOI: 10.12737/23384
3. Arndt D, Grant JR, Marcu A, Sajed T, Pon A, Liang Y, Wishart DS. (2016). PHASTER: a better, faster version of the PHAST phage search tool. *Nucleic Acids Res*, 44 (W1), W16-W21. DOI: 10.1093/nar/gkw387
4. Biswas A, Gagnon JN, Brouns SJ, Fineran PC, Brown CM. (2013). CRISPRTarget: bioinformatic prediction and analysis of crRNA targets. *RNA Biol*, 10 (5), 817-827. DOI: 10.4161/rna.24046
5. Biswas A, Staals RH, Morales SE, Fineran PC, Brown CM. (2016). CRISPRDetect: a flexible algorithm to define CRISPR arrays. *BMC genomics*, 17 (1), 356. DOI: 10.1186/s12864-016-2627-0
6. Datsenko KA, Pougach K, Tikhonov A, Wanner BL, Severinov K, Semenova E. (2012). Molecular memory of prior infections activates the CRISPR/Cas adaptive bacterial immunity system. *Nature Commun*, 3, 945. DOI: 10.1038/ncomms1937
7. Eppinger M, Rosovitz MJ, Fricke WF, Rasko DA, Kokorina G, Fayolle C, Ravel J. (2007). The complete genome sequence of *Yersinia pseudotuberculosis* IP31758, the causative agent of Far East scarlet-like fever. *PLoS Genet*, 3 (8), e142. DOI: 10.1371/journal.pgen.0030142
8. Hille F, Richter H, Wong SP, Bratović M, Ressel S, Charpentier E. (2018). The biology of CRISPR-Cas: backward and forward. *Cell*, 172 (6), 1239-1259. DOI: 10.1016/j.cell.2017.11.032
9. Koskela KA, Mattinen L, Kalin-Mänttari L, Vergnaud G, Gorgé O, Nikkari S, Skurnik M. (2015). Generation of a CRISPR database for *Yersinia pseudotuberculosis* complex and role of CRISPR-based immunity in conjugation. *Environ Microbiol*, 17 (11), 4306-4321. DOI: 10.1111/1462-2920.12816
10. Medina-Aparicio L, Dávila S, Rebollar-Flores JE, Calva E, Hernández-Lucas I. (2018). The CRISPR-Cas system in *Enterobacteriaceae*. *Pathogens Dis*, 76 (1), fty002. DOI: 10.1093/femspd/fty002


10. Nörenberg D, Wieser A, Magistro G, Hoffmann C, Meyer C, Messerer M, Schubert S. (2013). Molecular analysis of a novel Toll/interleukin-1 receptor (TIR)-domain containing virulence protein of *Y. pseudotuberculosis* among Far East scarlet-like fever serotype I strains. *Int J Med Microbiol*, 303 (8), 583-594. DOI: 10.1016/j.ijmm.2013.08.002
11. Pougach K, Semenova E, Bogdanova E, Datsenko KA, Djordjevic M, Wanner BL, Severinov K. (2010). Transcription, processing and function of CRISPR cassettes in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol*, 77 (6), 1367-1379. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2010.07265.x
12. Seecharran T, Kalin-Manttari L, Koskela K, Nikkari S, Dickens B, Corander J, Skurnik M, McNally A. (2017). Phylogeographic separation and formation of sexually discrete lineages in a global population of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Microb Genom*, 3 (10). DOI: 10.1099/mgen.0.000133
13. Westra ER, Buckling A, Fineran PC. (2014). CRISPR-Cas systems: beyond adaptive immunity. *Nature Rev Microbiol*, 12 (5), 317-326. DOI: 10.1038/nrmicro3241
14. Zhang Q, Ye Y. (2017). Not all predicted CRISPR-Cas systems are equal: isolated cas genes and classes of CRISPR like elements. *BMC Bioinformatics*, 18 (1), 92. DOI: 10.1186/s12859-017-1512-4


Сведения об авторах
Information about the authors


Перетолчина Надежда Павловна – аспирант кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России; лаборант-исследователь, ФКУЗ Иркутский орденна научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, тел. (3952) 24-30-16; e-mail: nadine1lenz@gmail.com)  <https://orcid.org/0000-0001-9426-5197>


Peretolchina Nadezhda Pavlovna – Postgraduate at the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Irkutsk State Medical University; Clinical Research Assistant, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор (664003, Irkutsk, ul. Krasnogo Vosstania, 1, tel. (3952) 24-30-16; e-mail: nadine1lenz@gmail.com)  <https://orcid.org/0000-0001-9426-5197>


Борисенко Андрей Юрьевич – аспирант, ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: 89500720225@mail.ru)  <https://orcid.org/0000-0001-6094-5864>

Borisenko Andrey Yurievich – Postgraduate, Teaching Assistant at the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Irkutsk State Medical University (e-mail: 89500720225@mail.ru)  <https://orcid.org/0000-0001-6094-5864>

Джиев Юрий Павлович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной вирусологии и биотехнологии НИИ биомедицинских технологий, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: alanir07@mail.ru)  <https://orcid.org/0000-0001-5410-5113>

Dzhioev Yuri Pavlovich – Candidate of Biological Sciences, Leading Research Officer, Head of the Laboratory of Molecular Virology and Biotechnology, Research Institute of Biomedical Technologies, Irkutsk State Medical University (e-mail: alanir07@mail.ru)  <https://orcid.org/0000-0001-5410-5113>

Злобин Владимир Игоревич – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии, директор НИИ биомедицинских технологий, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: vizlobin@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0002-0164-5113>

Zlobin Vladimir Igorevich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Academician of RAS, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Director of the Research Institute of Biomedical Technologies, Irkutsk State Medical University (e-mail: vizlobin@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0002-0164-5113>

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2018-3.5.9

УДК 1579.61, 579.842.16, 616.345, 616.3-008.1

Григорова Е.В., Рычкова Л.В., Иванова Е.И., Немченко У.М., Савелькаева М.В.

Детекция генетических детерминант патогенности у штаммов *Klebsiella* spp., выделенных из кишечного биотопа детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами

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

В статье представлена характеристика микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами (ФГИР), а также результаты выявления с помощью молекулярно-генетических методов генетических детерминант у штаммов бактерий рода *Klebsiella* как у одного из основных представителей микробиоты кишечника у детей.

Материалом исследования являлась 61 копрологическая проба. Биологический материал был распределён на две группы сравнения в зависимости от вида выделяемых бактерий при концентрации 10^5 – 10^8 КОЕ/г: 1-я группа – с вегетацией в толстой кишке *K. pneumoniae* ($n = 30$); 2-я группа – с вегетацией *K. oxytoca* ($n = 31$). Получены данные о количественном и качественном изменении состава микробиоты толстой кишки в группах сравнения. На фоне сниженных показателей бифидо- и лактобактерий для обеих групп характерна высокая степень обсеменённости условно-патогенной микрофлоры – *S. aureus*, *Clostridium* spp. Результаты детекции генетических детерминант патогенности у образцов клебсиел двух видов – *Klebsiella pneumoniae* и *Klebsiella oxytoca* – показали, что среди штаммов *Klebsiella* spp., вегетирующих в кишечнике детей в качестве составляющей аллохтонной микробиоты, сосредоточен вирулентный потенциал.

Детекция генов патогенности у бактерий рода *Klebsiella* с помощью молекулярно-генетических методов позволит расширить и углубить проблемы поиска структур приспособления и адаптации штаммов бактерий, вызывающих ФГИР у детей первого года жизни.

Ключевые слова: *Klebsiella* spp., дети первого года жизни, кишечная микробиота, функциональные гастроинтестинальные расстройства, генетические детерминанты патогенности

Для цитирования: Григорова Е.В., Рычкова Л.В., Иванова Е.И., Немченко У.М., Савелькаева М.В. Детекция генетических детерминант патогенности у штаммов *Klebsiella* spp., выделенных из кишечного биотопа детей с функциональными гастроинтестинальными расстройствами. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 60-65, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.9.

Detection of Genetic Determinants of Pathogenicity of Strains of *Klebsiella* spp. Isolated from the Intestinal Biotope of Children with Functional Gastrointestinal Disorders

Grigorova E.V., Rychkova L.V., Ivanova E.I., Nemchenko U.M., Savelkaeva M.V.

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

Functional gastrointestinal disorders (FGID) are one of the most common problems in children of the first year of life. The aim of the study was to assess the pathogenic potential of *Klebsiella* spp. strains, isolated from the colon in children of the first year of life with FGID.

Material for the study included 61 coprological samples. The biological material was divided into comparison groups, depending on the type of *Klebsiella* excreted at a concentration of 10^5 – 10^8 CFU/g: 1st – with vegetation in the colon *K. pneumoniae* ($n = 30$); 2nd – with vegetation *K. oxytoca* ($n = 31$). Bacteriological study composition of the intestinal contents was carried out according to the Industry standard "Protocol of management of patients. Intestinal dysbiosis" (2003). Identification was carried out according to generally accepted schemes using commercial test systems for biochemical identification of bacteria. Statistical data processing was performed using licensed applications "MS Office Excel 2003 for Windows 7".

The data on the quantitative and qualitative changes in the composition microbiota in the comparison groups were obtained. The results of detection genetic determinants of pathogenicity in the samples of *Klebsiella* of two species show that among the strains of *Klebsiella* spp., vegetating in the intestines of children as a component of an allochthonous microbiota, a sufficiently high and virulent potential can be concentrated.

Detection of pathogenicity genes in bacteria of the genus *Klebsiella* will expand and deepen the problem of finding the structures of adaptation of strains of bacteria that cause FGID in children of the first year of life.

Key words: *Klebsiella* spp., children of the first year of life, intestinal microbiota, functional gastrointestinal disorders, genetic determinants of pathogenicity

For citation: Grigorova E.V., Rychkova L.V., Ivanova E.I., Nemchenko U.M., Savelkaeva M.V. Detection of genetic determinants of pathogenicity of strains of *Klebsiella* spp. isolated from the intestinal biotope of children with functional gastrointestinal disorders. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 60-65, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.9.

Полученные в настоящее время актуальные данные о разнообразии микроорганизмов, обитающих в кишечнике человека, позволяют учёным всего мира дискутировать о роли отдельных видов условно-патогенных микроорганизмов (УПМ), участвующих в формировании нормальной микробиоты человека. Одним из основных факторов таких бактерий является их участие в этиологии и патогенезе ряда заболеваний [1, 9, 11, 15].

Особое внимание уделяют роду *Klebsiella*, населяющему толстую кишку детей первого года жизни. Данный вид бактерий обладает обширным спектром факторов патогенности [1, 12, 13]. Как известно, патогенность бактерий является полидетерминантным признаком, что обусловлено комплексным действием различных факторов патогенности [15]. В связи с этим целесообразно рассмотреть специфичные для бактерий данного рода генетические детерминанты патогенности, ответственные за реакции в бактериях [17]. В основе всех метаболических реакций в бактериальной клетке лежит деятельность ферментов, которые ускоряют реакции, необходимые для функционирования организма. Ген *uge* (*uridine-diphosphate-galactose-4-epimerase* gene) кодирует активность эндофермента уридин-дифосфат-галактозо-4-эпимеразы (ГАЛЭ, или эпимераза). Эпимераза представлена гладким липополисахаридом (ЛПС) с молекулами О- и К-антигенов. О-антиген связан с клеточной стенкой бактерий, основу которого составляют ЛПС. Эти антигены встречаются у бактерий, образующих капсулу [16]. Наряду с другими факторами патогенности ЛПС и капсула способствуют патогенезу функциональных гастроинтестинальных расстройств (ФГИР), осложнённых бактериями рода *Klebsiella*. Фермент оказывает влияние на углеводы и их производные. ГАЛЭ не только принимает участие в превращении галактозы в монофосфат, осуществляя дальнейший распад, но и выполняет важную функцию в процессе усвоения D-галактозы, получаемой с пищей [3].

Железо играет наиболее важную роль при взаимодействии микро- и макроорганизма. Эволюционно сложившаяся стратегия организма хозяина для обеспечения противомикробной защиты и сохранения вида выражается в потере УПМ железа. Реализуя свой вирулентный потенциал, бактерии выработали различные способы добывания железа, при этом прямым способом является синтез сидерофоров. Ген *kfu* (*iron uptake system gene*) кодирует систему поглощения железа сидерофорами для дальнейшего транспорта через наружную мембрану клеточной стенки. При этом микроорганизм находится с хозяином в конкурирующих взаимоотношениях за субстрат [5, 14]. Энтероциты, находящиеся в эпителиальном слое дуоденального отдела кишечника и координирующие абсорбцию и транспорт железа ворсинками, выстилающими полость толстой кишки, необходимы для метаболизма железа [8].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить патогенный потенциал штаммов *Klebsiella* spp., выделенных из толстой кишки у детей первого года жизни с ФГИР.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании были соблюдены этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, ред. октябрь 2013) и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утверждёнными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Объектами исследования являлись дети первого года жизни ($n = 61$) с установленным врачом-гастроэнтерологом диагнозом ФГИР (расстройства дефекации, колики, срыгивания, синдром руминации и циклической рвоты, продолжающиеся в течение не менее двенадцати недель за последние двенадцать месяцев наблюдения) [6]. Материал для исследования – 61 копрологическая проба. Биологический материал распределили на две группы сравнения в зависимости от вида выделяемых клебсиелл при концентрации 10^5 – 10^8 КОЕ/г: 1-я группа – с вегетацией в толстой кишке *K. pneumoniae* ($n = 30$); 2-я группа – с вегетацией в толстой кишке *K. oxytoca* ($n = 31$).

Из исследования исключали: детей, имеющих органические заболевания ЖКТ; детей, перенёсших инфекции различной локализации; детей, принимавших антибактериальные, пробиотические препараты и лечебные бактериофаги в предшествующие три месяца до обследования; детей на искусственном вскармливании.

Бактериологическое исследование состава содержимого толстой кишки проводили согласно Отраслевому стандарту «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» 91500.11.0004-2003. Микроорганизмы идентифицировали по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим свойствам с использованием API-систем «bioMérieux» (Франция). Идентификацию выделенных культур семейства Enterobacteriaceae с использованием коммерческих тест-систем для биохимической идентификации энтеробактерий: СИБ (НИИЭМ, г. Н. Новгород); ENTEROtest 16 и ENTEROtest 24 (PLIVA-Lachema, Чехия); сред Гисса (Россия). По результатам биохимического типирования штаммы были отнесены к видам *Klebsiella pneumoniae* и *Klebsiella oxytoca*.

Для выделения ДНК бактерий использовали комплект реагентов «ДНК-сорб-В» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Типирование проводили с двумя парами специфичных для клебсиелл праймеров, отобранных, согласно рекомендациям Е.В. Бухаровой с соавт. [2] (табл. 1).

Таблица 1
Нуклеотидные структуры специфических праймеров [2]

Table 1
The nucleotide structure of the specific primer [2]

| Праймеры | Нуклеотидная структура (5'-3') | Размер ампликона (п.н.) |
|--------------|--------------------------------|-------------------------|
| <i>uge-F</i> | TCT TCA CGC CTT CCT TCA CT | 534 |
| <i>uge-R</i> | GAT CAT CCG GTC TCC CTG TA | |
| <i>kfu-F</i> | GAA GTG ACG CTG TTT CTG GC | 797 |
| <i>kfu-R</i> | TTT CGT GTG GCC AGT GAC TC | |

Для ПЦР-амплификации применяли коммерческий набор AmpliSens-200-1 (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Праймеры синтезированы в НПФ «Литех» (г. Москва). ПЦР проводили с ДНК-матрицы (3 мкл), прямого и обратного праймеров (1 мкл). ДНК амплифицировали в соответствии с протоколом [2].

Продукты амплификации анализировали путём электрофоретического разделения в 1%-м агарозном геле (окрашен бромистым этидием с рабочей концентрацией – 0,5 мкг/мл). В качестве буферной системы использовали трис-ацетатный буфер. Электрофорез проводили в режиме: 100 В, 50 мА, 40–50 мин. В качестве маркера использовали O'RangeRuler 100 bp DNA Ladder («Fermentas», Литва). Результаты визуализировали в ультрафиолетовом свете и документировали с помощью программы inVCR на трансиллюминаторе UVT 1 bioком. Выделенные гены были идентифицированы и определены на основе размера фрагмента (см. табл. 1).

Молекулярные исследования проводились на базе Центра коллективного пользования ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ «ПЦР-диагностика» (руководитель – к.б.н. Хаснатинов М.А.).

Статистическую обработку полученных результатов производили при помощи лицензионных прикладных программ MS Office Excel 2003 for Windows 7. Вычисляли основные показатели параметрических методов вариационной статистики (средняя арифметическая, стандартное отклонение, Т-критерий Стьюдента, статистическая значимость полученных результатов), при $p \leq 0,05$ различия считались статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У детей был выявлен дисбаланс в составе микробиоты толстой кишки. При высокой популяционной плотности бактерий рода *Klebsiella* ($> 10^4$ КОЕ/г) регистрировали дефицит бифидобактерий в 1-й группе в 70,0 % случаев и во 2-й группе – в 58,1 % случаев; дефицит лактобактерий выявляли лишь в 10,0 % и 6,5 % случаев соответственно. Полноценную, нормальную *E. coli* (НКП) определяли в 60,0 % случаев в 1-й группе и в 87,1 % случаев – во второй, а энтерококк – более чем в 70 % случаев в обеих группах (табл. 2)

Условно-патогенные КП с гемолитической активностью (ГА) регистрировали в два раза чаще во 2-й группе сравнения (22,6 %), со слабоферментативной активностью (КП с СФА) – в 1-й группе сравнения (40,0 %). ГА регистрировалась также у почти 10 % штаммов энтерококков в обеих группах сравнения. Появление у индигенной микрофлоры атипичных свойств – гемолитической активности (КП с ГА), а также снижение ферментативных свойств могут способствовать и усугублению ФГИР у детей. Энтерококк, приобретая патогенные свойства, активизируется при изменении функционального состояния микробиоты толстой кишки и способствует формированию данных расстройств [10].

Среди УПМ в концентрации более 10^4 КОЕ/г выделяли *S. aureus* в 23,3 % случаев в 1-й группе сравнения и в 29,0 % случаев – во второй. По снижению частоты встречаемости были зафиксированы клостридии, грибки рода *Candida*, цитробактер и другие виды семейства Enterobacteriaceae (табл. 3)

Таким образом, ФГИР у детей первого года жизни были обусловлены изменением качественного и количественного состава представителей кишечной микробиоты. Отмечены дефицитные показатели бифидо- и лактобактерий и снижение частоты встречаемости КП с СФА, *Citrobacter* spp., однако во второй группе сравнения увеличивается частота регистрации *S. aureus*, *Clostridium* spp. и других видов энтеробактерий – (при выделении штаммов *K. oxytoca*). Полученные результаты свидетельствуют о высокой степени обсеменённости микробиоты толстой кишки УПМ при наличии *K. oxytoca*, что, вероятно, связано с более низким потенциалом вирулентности и осуществлением данным видом симбиотических взаимодействий с другими микроорганизмами толстой кишки.

Таблица 2
Частота регистрации представителей индигенной микробиоты толстой кишки у детей с ФГИР, %

Table 2
The frequency of registration of representatives of indigenous microbiota of the colon in children with functional gastrointestinal disorders, %

| Микроорганизмы (КОЕ/г фекалий*) | Частота встречаемости, % | |
|--|-----------------------------|-----------------------------|
| | 1-я группа (n = 30), M ± SD | 2-я группа (n = 31), M ± SD |
| <i>Bifidobacterium</i> spp. (менее 10^7) | 70,0 ± 8,4 | 58,1 ± 8,9 ↓ |
| <i>Lactobacterium</i> spp. (менее 10^6) | 10,0 ± 5,5 | 6,5 ± 4,4 |
| НКП (10^7 – 10^8) | 60,0 ± 8,9 | 87,1 ± 6,0 ↑ |
| <i>Enterococcus</i> spp. (10^6 – 10^7) | 73,3 ± 8,1 | 83,9 ± 6,6 ↑ |

Примечание. * – критерии оценки концентрации, согласно ОСТ 2003; ↓ – снижение частоты встречаемости, по сравнению с первой группой сравнения; ↑ – увеличение частоты встречаемости, по сравнению с первой группой сравнения.

Таблица 3
Частота регистрации представителей условно-патогенной микробиоты толстой кишки у детей с ФГИР, %

Table 3
The frequency of registration of representatives of conditionally pathogenic microbiota of the colon in children with functional gastrointestinal disorders, %

| Микроорганизмы (КОЕ/г фекалий*) | Частота встречаемости, % | |
|---|-----------------------------|-----------------------------|
| | 1-я группа (n = 30), M ± SD | 2-я группа (n = 31), M ± SD |
| КП с ГА (более 10 ³) | 10,0 ± 0,55 | 22,6 ± 7,5 ↑ |
| КП с СФА (более 10 % от общего количества выделенной <i>E. coli</i>) | 40,0 ± 8,9 | 29,0 ± 8,1 ↓ |
| <i>Enterococcus</i> spp. Г+ (10 ⁶ –10 ⁷) | 6,7 ± 4,6 | 9,7 ± 5,3 |
| <i>S. aureus</i> (более 10 ⁴) | 23,3 ± 7,7 | 29,0 ± 8,1 ↑ |
| <i>Clostridium</i> spp. (более 10 ⁴) | 16,7 ± 6,8 | 29,0 ± 8,1 ↑ |
| <i>Candida</i> spp. (более 10 ⁴) | 13,3 ± 6,2 | 16,1 ± 6,6 |
| <i>Citrobacter</i> spp. (более 10 ⁴) | 13,3 ± 6,2 | 3,2 ± 3,1 ↓ |
| Энтеробактерии (более 10 ⁴) | 3,3 ± 3,2 | 6,5 ± 4,4 |

Примечание. * – критерии оценки концентрации, согласно ОСТ 2003; Г+ – гемолиз; ↓ – снижение частоты встречаемости, по сравнению с первой группой сравнения, ↑ – увеличение частоты встречаемости, по сравнению с первой группой сравнения.

Установлено, что в образцах *Klebsiella* spp. частоту регистрации гена, кодирующего ГАЛЭ, выявляли на одном уровне (70,9 % случаев у *K. oxytoca* и 83,3 % случаев у *K. pneumoniae*). Ген, кодирующий систему поглощения железа, выявляли у образцов *K. pneumoniae* в 4 раза чаще (46,7 %). Комбинации двух маркеров патогенности у изолятов *K. oxytoca* регистрировали в 3 раза реже (2-я группа сравнения) (табл. 4).

Таблица 4
Результаты детекции генетических детерминант патогенности и их ассоциаций у образцов *Klebsiella* spp.

Table 4
Results of detection of genetic determinants of pathogenicity and their associations in *Klebsiella* spp. samples

| Генетические детерминанты патогенности | 1-я группа (n = 30) | | 2-я группа (n = 31) | |
|--|---------------------|------|---------------------|------------------------------|
| | абс. | % | абс. | % |
| <i>uge</i> | 25 | 83,3 | 22 | 70,9 |
| <i>kfu</i> | 14 | 46,7 | 3 | 9,7↓* (t = 6,1) p ≤ 0,001 |
| <i>uge + kfu</i> | 10 | 33,3 | 3 | 9,7↓* (t = 2,3) p ≤ 0,05 |

Примечание. ↓ – снижение частоты встречаемости, по сравнению с первой группой сравнения; * – различия выделения маркеров патогенности между видами бактерий статистически значимы при p < 0,05 (t-критерий Стьюдента).

В 16,4 ± 4,7 % случаев (10 проб) в образцах *Klebsiella* spp. исследуемые детерминанты патогенности не были обнаружены.

Нами установлено, что у *K. pneumoniae*, по сравнению с *K. oxytoca*, в 4 раза чаще детектировали ген *kfu*, что свидетельствует о том, что у штаммов *K. pneumoniae* более выражены и сформированы системы поглощения железа, что увеличивает способность к транслокации и реализации вирулентных свойств [4].

Комбинация двух исследуемых маркеров патогенности увеличивает потенциал вирулентности. Детекция у 33,3 % штаммов *K. pneumoniae* сочетаний этих генов не только приводит к суммированию па-

тогенных свойств, но и вызывает взаимное усиление факторов вирулентности бактерии [7], что может быть одним из ключевых факторов как при формировании ФГИР, так и при усугублении функционального состояния макроорганизма в целом.

Предполагается, что патогенный потенциал гена ГАЛЭ существенно влияет на вирулентность фенотипа, связанную с продукцией слизи повышенной вязкости и инфекционным поражением тканей. В дополнение к этому вырабатывается несколько других внеклеточных факторов вирулентности, которые влияют на клеточный метаболизм хозяина [16].

Нами получены данные об отдельных важных звеньях патогенеза интестинальных расстройств у детей первого года жизни. Обнаружение генетических детерминант патогенности и появление их комбинаций позволяет судить о факте «потенциальной патогенности» исследуемых штаммов и их участии не только в формировании, но и в прогрессировании ФГИР. Это обстоятельство обосновывает факт необходимости проведения дифференциальной диагностики штаммов клебсиелл у детей именно первого года жизни даже в случае недостаточности микробиологических нарушений [2].

Таким образом, зафиксированные при исследовании специфичные нуклеотидные последовательности генов патогенности бактерий *Klebsiella* spp. позволяют предполагать их потенциальную опасность для образования воспалительных изменений толстой кишки, что может усугублять прогрессирование инфекционных осложнений, крайне нежелательных для развивающегося организма ребёнка.

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES

1. Бухарова Е.В., Долгих В.В., Попкова С.М., Ракова Е.Б., Шабанова Н.М., Немченко У.М., Иванова Е.И., Сердюк Л.В. Патогенный потенциал *Klebsiella* spp. и *Staphylococcus aureus* при ассоциативном симбиозе

у детей первого года жизни // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 12-2. – С. 20–24.

Bukharova EV, Dolgikh VV, Popkova SM, Rakova EB, Shabanova NM, Nemchenko UM, Ivanova EI, Serdyuk LV. (2014). *Klebsiella* spp. and *Staphylococcus aureus* pathogenic potential in associative symbiosis of infants [Patogennyy potentsial *Klebsiella* spp. i *Staphylococcus aureus* pri assotsiativnom simbioze u detey pervogo goda zhizni]. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*, (12-2), 20-24.

2. Бухарова Е.В., Попкова С.М., Ракова Е.Б., Джиоев Ю.П., Иванова Е.И., Шабанова Н.М., Немченко У.М. Детекция некоторых генетических маркеров факторов патогенности в аутоштаммах *Klebsiella* spp. у детей первого года жизни // Acta biomedica scientifica. – 2014. – № 2. – С. 58–62.

Bukharova EV, Popkova SM, Rakova EB, Dzhioev YuP, Ivanova EI, Shabanova NM, Nemchenko UM. (2014). Detection of some genetic markers of pathogenicity factors in the *Klebsiella* spp. autostrains in infants [Detektsiya nekotorykh geneticheskikh markerov faktorov patogennosti v autoshtammakh *Klebsiella* spp. u detey pervogo goda zhizni]. *Acta biomedica scientifica*, (2), 58-62.

3. Волгина С.Я., Асанов А.Ю. Галактоземия у детей // Практическая медицина. – 2014. – № 9 (85). – С. 32–41.

Volgina SYa, Asanov AYu. (2014) Galactosemia in children [Galaktozemiya u detey]. *Prakticheskaya meditsina*, 9 (85), 32-41.

4. Леонов В.В., Курлович Н.А., Леонова Л.В., Фатеева Н.М. О возможности влияния микроорганизмов на гомеостаз железа в организме хозяина (обзор литературы) // Acta biomedica scientifica. – 2014. – № 1. – С. 120–124.

Leonov VV, Kurlovich NA, Leonova LV, Fateeva NM. (2014). On the possibility of the influence of microorganisms on the iron homeostasis of in the host organism (review of literature) [O vozmozhnosti vliyaniya mikroorganizmov na gomeostaz zheleza v organizme hozyaina (obzor literatury)]. *Acta biomedica scientifica*, (1), 120-124.

5. Поздеев О.К. Молекулярно-генетические основы патогенности энтеробактерий // Практическая медицина. – 2010. – № 2. – С. 84–88.

Pozdeev OK. (2010) Molecular and genetic basis of enterobacteria pathogenicity [Molekulyarno-geneticheskie osnovy patogennosti enterobakteriy]. *Prakticheskaya meditsina*, (2), 84-88.

6. Рабочий протокол диагностики и лечения функциональных заболеваний органов пищеварения у детей // ГастроNews. – 2010. – С. 3–15.

Operating protocol of diagnostics and treatment of functional diseases of the digestive system in children. (2010). *GastroNews*, 3-15.

7. Савилов Е.Д., Мамонтова Л.М., Анганова Е.В., Астафьев В.А. Условно-патогенные микроорганизмы в водных экосистемах Восточной Сибири и их роль в оценке качества вод // Acta biomedica scientifica. – 2008. – № 1. – С. 47–51.

Savilov ED, Mamontova LM, Anganova EV, Astafiev VA. (2008) Opportunistic microorganisms in aquatic ecosystems of Eastern Siberia and their role in water

quality assessment [Uslovno-patogennyye mikroorganizmy v vodnykh ekosistemakh Vostochnoy Sibiri i ikh rol' v otsenke kachestva vod]. *Acta biomedica scientifica*, (1), 47-51.

8. Цветаева Н.В., Левина А.А., Мамукова Ю.И. Основы регуляции обмена железа // Клиническая онкогематология. – 2010. – Т. 3, № 3. – С. 278–283.

Tsvetaeva NV, Levina AA, Mamukova YuI. (2010). Fundamentals of iron metabolism regulation [Osnovy regulyatsii obmena zheleza]. *Klinicheskaya onkogematologiya*, 3 (3), 278-283.

9. Ikeda M, Mizoguchi M, Oshida Y, Tatsuno K, Saito R, Okazaki M, Okugawa S, Moriya K. (2018). Clinical and microbiological characteristics and occurrence of *Klebsiella pneumoniae* infection in Japan. *Int J Gen Med*, 11, 293-299. DOI: 10.2147/IJGM.S166940

10. Ivanova EI, Popkova SM, Dzhioev YuP, Rakova EB, Nemchenko UM, Rychkova LV. (2014). The detection of strains of *Escherichia coli* producing shiga toxin in populations of normal intestinal microbiota in children with functional disorders of gastrointestinal tract. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*, (11), 56-60.

11. Ivanova EI, Rychkova LV, Nemchenko UM, Bukharova EB, Savelkaeva MV, Dzhioev YuP. (2017). The structure of the intestinal microbiota of the intestine and the frequency of detection of pathogenicity genes (*stx1*, *stx2*, *bfp*) in *Escherichia coli* with normal enzymatic activity isolated from children during the first year of life. *Mol Gen Microbiol Virol*, 35 (1), 36-40. DOI: 10.3103/S0891416817110062

12. Kuş H, Arslan U, Türk Dağı H, Findık D. (2017). Investigation of various virulence factors of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from nosocomial infections. *Mikrobiyol Bul.* 51 (4), 329-339. DOI: 10.5578/mb.59716

13. Lam MMC, Wick RR, Wyres KL, Gorrie CL, Judd LM, Jenney AW, Brisse S, Holt KE. (2018). Genetic diversity, mobilization and spread of the yersinia bacterin-encoding mobile element ICEKp in *Klebsiella pneumoniae* populations. *Microb Genom*, 4, 1-14. DOI: 10.1099/mgen.0.000196


14. Lin JC, Koh TH, Lee N, Fung CP, Chang FY, Tsai YK, Ip M, Siu LK. (2014). Genotypes and virulence in serotype K2 *Klebsiella pneumoniae* from liver abscess and non-infectious carriers in Hong Kong, Singapore and Taiwan. *Gut Pathog*, 6, 21.


15. Martin RM, Cao J, Wu W, Zhao L, Manthei DM, Pirani A, Snitkin E, Malani PN, Rao K, Bachman MA. (2018). Identification of Pathogenicity-Associated Loci in *Klebsiella pneumoniae* from Hospitalized Patients. *mSystems*, 3, e00015-18. DOI: 10.1128/mSystems.00015-18


16. Osman KM, Hassan HM, Orabi A, Abdelhafez AST. (2014). Phenotypic, antimicrobial susceptibility profile and virulence factors of *Klebsiella pneumoniae* isolated from buffalo and cow mastitic milk. *Pathog Glob Health*, 108, 191-199. DOI: 10.1179/2047773214Y.0000000141

17. Zhang S, Yang G, Ye Q, Wu Q, Zhang J, Huang Y. (2018). Phenotypic and genotypic characterization of *Klebsiella pneumoniae* isolated from retail foods in China. *Front Microbiol*, 9, 289. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00289


Сведения об авторах
Information about the authors


Григорова Екатерина Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел. (3952) 33-34-41; e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru)  <http://orcid.org/0000-0001-6588-2591>


Grigorova Ekaterina Vladimirovna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer at the Laboratory of Microbiome and Microbial Ecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (664003, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 16; tel. (3952) 33-34-41; e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru)  <http://orcid.org/0000-0001-6588-2591>


Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)  <http://orcid.org/0000-0003-2910-0737>


Rychkova Lyubov Vladimirovna – Doctor of Medical Sciences, Professor of RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)  <http://orcid.org/0000-0003-2910-0737>


Иванова Елена Иннокентьевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией микроэкологии и микробиома, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: ivanova.iem@gmail.com)  <http://orcid.org/0000-0003-4216-8859X>

Ivanova Elena Innokentevna – Candidate of Biological Sciences, Leading Research Officer, Head of the Laboratory of Microbiome and Microbial Ecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: ivanova.iem@gmail.com)  <http://orcid.org/0000-0003-4216-8859X>

Немченко Ульяна Михайловна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: umnemch@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0002-7656-342X>

Nemchenko Uliana Mikhailovna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer at the Laboratory of Microbiome and Microbial Ecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: umnemch@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0002-7656-342X>

Савелькаева Марина Владимировна – заведующая гастроэнтерологическим отделением, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: for-samarina@yandex.ru)  <http://orcid.org/0000-0001-6793-6493>

Savelkayeva Marina Vladimirovna – Head of the Gastroenterology Department; Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: for-samarina@yandex.ru)  <http://orcid.org/0000-0001-6793-6493>

НЕВРОЛОГИЯ И НЕЙРОХИРУРГИЯ NEUROLOGY AND NEUROSURGERY

DOI: 10.29413/ABS.2018-3.5.10

УДК 616.711.1-018.3-002

Скляренко О.В.¹, Животенко А.П.¹, Кошкарева З.В.¹, Ипполитова Е.Г.¹, Верхозина Т.К.^{1,2},
Цысляк Е.С.¹

Шейно-плечевой синдром у пациентов с остеохондрозом позвоночника

¹ ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»
(664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

² Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО
«Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России
(664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

В статье представлена клиническая характеристика группы больных с остеохондрозом шейного отдела позвоночника и шейно-плечевым синдромом. Приведены данные клинко-неврологического обследования, включающие лучевые методы диагностики (обзорная спондилография шейного отдела позвоночника в прямой и боковой проекциях, функциональные пробы, рентгенография крупных суставов верхних конечностей в двух проекциях), МРТ шейного отдела позвоночника, стимуляционной электронейромиографии и остеоденситометрии. Статистическая обработка с определением непараметрических критериев и коэффициентов корреляции осуществлялась в программе SPSS 22.0.0. Были использованы непараметрические методы корреляционного анализа Спирмена и Пирсона. При обследовании пациентов с синдромом «шея – верхние конечности» было обнаружено, что состояние костной ткани для конечности с болевым синдромом незначительно отличается от состояния костной ткани здоровой конечности и в целом находится в пределах нормы. По данным нейромиографических исследований отклонения функционального состояния исследованных нервов верхних конечностей от условной нормы не были выражены и отмечались с обеих сторон. В результате проведенного исследования можно предположить, что асимметрично расположенный патологический очаг тормозит деятельность периферического и центрального звена двигательного аппарата не только на стороне повреждения, но и на противоположной стороне. Различия функционального состояния периферических нервов верхних конечностей между пациентами с шейно-плечевым синдромом и здоровыми лицами являются статистически значимыми и позволяют расценивать их как признак декомпенсированности, препятствующей нормальному функционированию.

Ключевые слова: остеохондроз, шейный отдел позвоночника, клиническая характеристика, МРТ, МСКТ, денситометрия, электронейромиография

Для цитирования: Скляренко О.В., Животенко А.П., Кошкарева З.В., Ипполитова Е.Г., Верхозина Т.К., Цысляк Е.С. Шейно-плечевой синдром у пациентов с остеохондрозом позвоночника. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 66-71, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.10.

Cervicobrachial Syndrome in Patients with Spinal Osteochondrosis

Sklyarenko O.V.¹, Zhivotenko A.P.¹, Koshkareva Z.V.¹, Ippolitova E.G.¹,
Verkhovina T.K.^{1,2}, Tsylyak E.S.¹

¹ Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology
(ul. Bortsov Revolyutsii 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

² Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education –
Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education
(Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

The article presents clinical profile of patients with cervical osteochondrosis and cervicobrachial syndrome, results of cliniconeurological examination including X-ray diagnostics (plain frontal and lateral radiography of cervical spine, functional tests, frontal and lateral X-ray imaging of large joints of upper limbs), MRI of cervical spine, stimulation electroneuromyography and osteodensitometry. Statistical processing with definition of nonparametric test and correlation coefficient was performed using SPSS 22.0.0 software. Pearson and Spearman nonparametric tests were used for correlation analysis. Examination of patients with cervicobrachial syndrome revealed that bone tissue condition of a limb with pain syndrome slightly differs from the bone tissue condition of a healthy limb and is within normal range. Neuromyography showed that abnormality of a functional condition of studied nerves of upper limbs was not pronounced and was registered on both limbs. As a result of our research we can suppose that asymmetric abnormal focus inhibits peripheral and central chains of locomotor system both on injured and healthy limbs. Differences in functional condition of peripheral nerves of upper limbs in patients with cervicobrachial syndrome and healthy people are statistically significant and allow us to consider them as a sign of decompensation which prevent healthy performance.

Key words: osteochondrosis, cervical spine, clinical profile, MRI, multi-layer spiral CT, densitometry, electroneuromyography

For citation: Sklyarenko O.V., Zhivotenko A.P., Koshkareva Z.V., Ippolitova E.G., Verkhozina T.K., Tsyslyak E.S. Cervicobrachial syndrome in patients with spinal osteochondrosis. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 66-71, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.10.

ВВЕДЕНИЕ

Боли в области шейного отдела позвоночника и верхних конечностей – актуальная проблема клинической практики, поскольку данной патологии подвержены в большей степени люди молодого и среднего возраста, чья работа связана с длительным нахождением в нефизиологическом положении [7, 10, 14]. Основными клиническими проявлениями являются боль, рефлекторные мышечно-тонические синдромы в области шейного отдела позвоночника и верхних конечностей, значительно ухудшающие качество жизни человека [3, 9]. Вследствие особенностей строения в шейном отделе позвоночника имеется повышенная подвижность, позвоночный канал в шейном отделе наиболее узкий, поэтому компрессия спинного мозга и его корешков в данном сегменте развивается значительно чаще и приводит к серьёзным поражениям [1].

Тесная взаимосвязь нервно-сосудистых образований в шейном отделе позвоночника предопределяет появление целого ряда сложных неврологических, мышечно-тонических, висцеральных и нейроциркуляторных симптомов при развитии дегенеративно-дистрофических изменений в позвоночнике [2].

Основными причинами развития шейно-плечевого синдрома являются дегенеративно-дистрофические заболевания позвоночника (остеохондроз межпозвоночных дисков, деформирующий спондилартроз), травмы шейных позвонков, переломовывихи акромиального и грудинного концов ключицы; вывихи плеча, травмы мышц и связочно-сумочного аппарата плечевого пояса; хронические и профессиональные заболевания верхних конечностей. В качестве факторов, способствующих развитию данного синдрома, могут выступать некоторые аномалии развития позвоночника (расщепление дуг и нарушение тропизма суставных поверхностей позвонков, наличие шейных рёбер, утолщение первого ребра или ключицы). Синдром цервикобрахиалгии также развивается при таких воспалительных заболеваниях позвоночника, как спондилартрит, спондилит, спондилит, а также при нестабильности позвоночно-двигательных сегментов. Провоцировать развитие синдрома могут и острые инфекционно-аллергические заболевания, общее и местное переохлаждение [13].

В развитии цервикобрахиалгии главную роль играют сдавление, натяжение и смещение спинномозговых корешков. Рефлекторно-тоническое мышечное напряжение или миофасциальная боль с ограничением объёмом активных и пассивных движений в конечности относятся к наиболее частым проявлениям шейно-плечевого синдрома [6, 11, 12, 15]. Зачастую при развитии заболевания первично боли появляются в области передне-боковой поверхности шеи и плеча с одной стороны или симметрично. Неприятные симптомы нарастают при резких движениях головы и шеи, кашле или чихании, натуживании. При остеохон-

дрозе II и III периодов высота межпозвоночных дисков уменьшается, следствием чего является повышение подвижности позвоночно-двигательных сегментов. В III периоде заболевания из-за нарушения целостности фиброзного кольца появляются протрузии и грыжи межпозвоночных дисков, симптомы усугубляются и имеют стойкий характер [8, 16]. При сравнении электромиографических показателей у пациентов с шейно-плечевым синдромом отмечено, что имеют место однонаправленные изменения показателей ЭНМГ, определяется выраженное снижение электромиографических параметров со стороны как больной, так и здоровой конечности [4, 5].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

За период с 2015 по 2017 гг. в нейрохирургическом отделении ИНЦХТ прошли обследование и курс консервативной терапии 22 пациента с сочетанием дегенеративно-дистрофической патологии шейного отдела позвоночника и плечевых суставов. Всем пациентам проводилось: клинико-неврологическое обследование; лучевые методы исследования (обзорная спондилография шейного отдела позвоночника в прямой и боковой проекциях, функциональные пробы и пробы с отягощением, МСКТ и МРТ шейного отдела позвоночника, рентгенография крупных суставов верхних конечностей в двух проекциях); стимуляционная электромиография и остеоденситометрия.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Среди обследованных пациентов было 11 мужчин и 11 женщин. Условно все пациенты были разделены на две группы: в первую группу вошли 4 (19 %) пациента с остеохондрозом II периода, во вторую группу – 18 (81 %) человек с остеохондрозом III периода.

При оценке клинико-неврологической симптоматики односторонний синдром цервикобрахиалгии выявлен у 19 (86 %) больных, с двух сторон – у 3 пациентов; синдром цервикокраниалгии отмечен у 4 заболевших. Корешковый синдром у 3 пациентов характеризовался наличием болей и нарушением чувствительности в области иннервации заинтересованного корешка, появлением сегментарной гипер- и гипестезии, гипотрофии мышц, ослаблением или выпадением рефлексов. Радикулопатия корешков C₅ и C₆ встречалась у 3 больных, из них у 2 больных было вовлечено два корешка, у 1 пациента – один корешок.

Степень выраженности болевого синдрома оценивалась по визуально-аналоговой шкале (ВАШ). Умеренно выраженный болевой синдром (ВАШ 3–4 см) выявлен у 9 (40 %) больных, у 13 заболевших отмечен выраженный болевой синдром (ВАШ 7–9 см). Умеренный мышечно-тонический синдром выявлен у 4 пациентов, в то время как выраженный миофасциальный синдром – у 11 больных. Нестабильность позвоночно-двигательного сегмента шейного

отдела на одном уровне выявлена у 3 пациентов, и у 1 больного – на двух уровнях.

По данным лучевых методов исследования односторонний деформирующий остеоартроз ключично-акромиального сочленения II степени выявлен у 11 пациентов, двухсторонний артроз отмечен у 5 больных. Односторонний деформирующий остеоартроз плечевого сустава I степени выявлен у 1 пациента, а остеоартроз II степени – у 10 больных. Двухсторонний артроз плечевых суставов II степени отмечен у 4 заболевших. Нестабильность связочно-сумочного аппарата плечевого сустава выявлена у 4 пациентов. При рентгенографии шейного отдела позвоночника костно-хрящевые узлы выявлены у 4 человек, из них на одном уровне – у 1 больного, на двух уровнях – у 2 пациентов, на трёх – у 1 больного.

По данным магнитно-резонансной томографии шейного отдела позвоночника протрузии межпозвонковых дисков на нескольких уровнях диагностированы у 3 больных, экструзия диска – у 5 пациентов, у 3 из них – на двух уровнях.

Все пациенты были обследованы на ультразвуковом остеоденситометре Omnisens 7000. Исследовалась скорость прохождения ультразвука вдоль кортикального слоя лучевой кости обеих конечностей. Проводилось сравнение полученных данных по T-критерию (значения, нормальные для группы здоровых молодых людей) и по Z-критерию (значения, нормальные для данной возрастной группы). Денситометрические показатели верхних конечностей у больных с синдромом цервикобрахиалгии для предплечья на больной стороне незначительно

отличались от состояния костной ткани здоровой конечности и в целом находились в пределах нормы.

Вместе с тем у 3 пациентов наблюдались выраженные отличия показателей денситометрии больной от интактной конечности, свидетельствующие о наличии остеопении на стороне поражения.

По данным стимуляционной электронейромиографии, проводимой с помощью нейромиоанализатора «Нейромиан», оценивалось состояние периферических нервов верхних конечностей у пациентов с дегенеративно-дистрофической патологией шейного отдела позвоночника и плечевых суставов. Исследовались такие параметры прямого мышечного ответа, как порог возбудимости, амплитуда, латентность при стимуляции *n. axillaris*, *n. radialis*, *n. medianus* и *n. ulnaris* (табл. 2).

Статистическая обработка с определением непараметрических критериев и коэффициентов корреляции осуществлялась в программе SPSS 22.0.0. Были использованы непараметрические методы корреляционного анализа Спирмена и Пирсона.

При анализе данных, приведённых в таблице, очевидно, что при исследовании функции *n. axillaris* амплитуда прямого мышечного ответа ниже нормы с обеих сторон, но больше для конечности с болевым синдромом, связанным с радикулопатией (0,4–0,7 мВ при норме 1,2 мВ). Латентный период М-ответа выше нормы для конечности с радикулопатией (3,8 мс при норме от 3,0 мс), что свидетельствует о снижении проводимости моторных волокон. При исследовании функции *n. radialis* регистрировалось снижение амплитуды М-ответа с обеих сторон (0,6–0,7 мВ при

Показатели денситометрии у больных с шейно-плечевым синдромом.

Таблица 1

Densitometric values in patients with cervicobrachial syndrome

Table 1

| Показатели денситометрии | На лучевой кости стороны поражения | На лучевой кости интактной конечности |
|-------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|
| СЗ | 3918 ± 149 м/с | 3889 ± 139 м/с |
| Z-индекс | -1,9 ± 0,3 | -1,6 ± 0,3 |
| T-индекс (больная конечность) | -1,8 ± 0,2 | -1,6 ± 0,3 |

Примечание. СЗ – скорость звука.

ЭНМГ-показатели у больных с шейно-плечевым синдромом

Таблица 2

Electroneuromyographic values in patients with cervicobrachial syndrome

Table 2

| Показатели ЭНМГ | | Исследуемые нервы | | | |
|-----------------|----------------------|---------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| | | <i>n. axillaris</i> | <i>n. radialis</i> | <i>n. medianus</i> | <i>n. ulnaris</i> |
| Порог, мА | больная конечность | 15,4 ± 0,96 | 17,3 ± 2,0 | 13,2 ± 1,05 | 8,6 ± 1,2 |
| | интактная конечность | 14,6 ± 1,1 | 15,0 ± 2,0 | 12,2 ± 2,0 | 8,2 ± 2,2 |
| | норма | 12,0 ± 4,0 | 16,0 ± 2,4 | 12,0 ± 2,4 | 5,5 ± 2,4 |
| Амплитуда, мВ | больная конечность | 0,41 ± 0,12 | 0,60 ± 0,12 | 1,6 ± 0,48 | 2,4 ± 0,35 |
| | интактная конечность | 0,71 ± 0,25 | 0,73 ± 0,25 | 2,7 ± 0,6 | 2,9 ± 0,48 |
| | норма | 1,2 ± 1,1 | 2,4 ± 2,1 | 2,8 ± 1,1 | 2,8 ± 2,1 |
| Латентность, мс | больная конечность | 3,8 ± 0,15 | 6,1 ± 0,34 | 8,3 ± 0,39 | 6,0 ± 0,18 |
| | интактная конечность | 3,4 ± 0,14 | 5,8 ± 0,38 | 8,0 ± 0,37 | 5,6 ± 0,13 |
| | норма | 3,0 ± 0,55 | 6,0 ± 1,0 | 7,6 ± 1,4 | 4,8 ± 0,8 |

норме 2,4 мВ), проводимость моторных волокон соответствовала значениям нормы. При исследовании *n. medianus* выявлено снижение амплитуды М-ответа конечности с болевым синдромом (1,6 мВ при норме 2,8 мВ), латентный период М-ответа повышен с обеих сторон (8,0–8,3 мс при норме 7,6 мс). Для *n. ulnaris* регистрировалось повышение порога возбудимости моторных волокон (8,2–8,6 мА) и увеличение латентности (5,6–6,0 мс). С помощью коэффициента Спирмена и Пирсона нами была обнаружена статистически значимая ($p < 0,01$) положительная корреляционная взаимосвязь между повышением порога возбудимости моторных волокон и увеличением латентности на стороне поражения.

Отмечается, что все выявленные измерения носят характер невральное поражение и присутствуют также на неповрежденной, «интактной», стороне, и термин «интактная конечность» носит достаточно условный характер. Можно предположить, что патологический очаг, расположенный асимметрично тормозит деятельность периферического и центрального звена двигательного аппарата не только на стороне повреждения, но и на противоположной стороне. Тем не менее, различия функционального состояния периферических нервов верхних конечностей между пациентами с шейно-плечевым синдромом и здоровыми лицами являются статистически значимыми и позволяют расценивать их как признак декомпенсированности, препятствующей нормальному функционированию.

ВЫВОДЫ

При обследовании пациентов с синдромом «шея – верхние конечность» было обнаружено, что состояние костной ткани для конечности с болевым синдромом незначительно отличается от состояния костной ткани здоровой конечности и в целом находится в пределах нормы. У 3 пациентов наблюдались существенные отличия больной от интактной конечности, указывающие на наличие остеопении в лучевых костях на стороне поражения. Подобное состояние может быть связано с умеренно выраженным поражением нервных волокон и нарушением кровоснабжения костной ткани на данной стадии изучаемой патологии. По данным нейромиографических исследований отклонения функционального состояния исследованных нервов верхних конечностей от условной нормы были не выражены и отмечались с обеих сторон. Все выявленные изменения носят характер невральное поражение и присутствуют и на неповрежденной, «интактной», стороне. Анализируя полученные данные можно предположить, что асимметрично расположенный патологический очаг тормозит деятельность периферического и центрального звена двигательного аппарата не только на стороне повреждения, но и на противоположной стороне. Различия функционального состояния периферических нервов верхних конечностей между пациентами с шейно-плечевым синдромом и здоровыми лицами являются статистически значимыми и позволяют расценивать их как признак декомпенсированности, препятствующей нормальному функционированию.

Изложенные в статье материалы представляют первичные данные обследования пациентов с шейно-плечевым синдромом в отделении нейрохирургии ИНЦХТ, согласно предложенному алгоритму исследования. Они являются отправным пунктом для увеличения количества обследованных и разработки схем лечения и динамического наблюдения за пациентами.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Абельская И.С., Михайлов О.А., Смышек В.Б. Шейный остеохондроз: диагностика и медицинская реабилитация. – Минск, 2007. – 347 с.
Abelskaya IS, Mikhaylov OA, Smyshek VB. (2007). Cervical osteochondrosis: diagnostics and medical rehabilitation [Sheynyy osteokhondroz: diagnostika i meditsinskaya reabilitatsiya]. Minsk, 347 p.
2. Верхозина Т.К., Ипполитова Е.Г., Цысляк Е.С. Нейрофизиологический подход к лечению плечелопаточного периартрита // Acta biomedica scientifica. – 2013. – № 2. – С. 13–15.
Verkhovina TK, Ippolitova EG, Tsyslyak ES. (2013). Neurophysiological approach to the treatment of scapulohumeral periarthritis [Nejrofiziologicheskij podkhod k lecheniyu plechelopatocznego periartrita]. Acta biomedica scientifica, (2), 13-15.
3. Гордеева И.Е., Матохина Н.В. Периартропатии в практике невролога: Оптимизация терапии // Актуальные проблемы современной ревматологии: Сборник научных работ. – Волгоград: Издательство ООО «ВЕСТИ-Плюс», 2013. – Вып. XXX. – С. 26–27.
Gordeeva IE, Matokhina NV. (2013). Periarthropathia in neurology: Optimization of treatment [Periartropatii v praktike nevrologa: Optimizatsiya terapii]. Aktual'nye problemy sovremennoy revmatologii: Sbornik nauchnykh rabot, XXX, 26-27.
4. Ипполитова Е.Г., Верхозина Т.К., Арсентьева Н.И. Сравнительный анализ электромиографических показателей при плече-лопаточном болевом синдроме дегенеративно-дистрофического генеза и остеохондрозе шейного отдела позвоночника // Acta biomedica scientifica. – 2016. – № 4. – С. 36–39.
Ippolitova EG, Verkhovina TK, Arsentieva NI. (2016). Comparative analysis of electroneuromyographic values at degenerative-dystrophic scapulohumeral pain syndrome and cervical osteochondrosis [Srvnritel'nyy analiz elektroneyromiograficheskikh pokazateley pri pleche-lopatocnnoy bolevoym sindrome degenerativno-distroficheskogo geneza i osteokhondroze sheynogo otdela pozvonochnika]. Acta biomedica scientifica, (4), 36-39.
5. Ипполитова Е.Г., Кошкарёва З.В., Складенко О.В., Горбунов А.В. Особенности клиники и диагностики у больных с послеоперационным рубцово-спаечным эпидуритом и стенозами позвоночного канала // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – № 6. – С. 102–105.
Ippolitova EG, Koshkareva ZV, Sklyarenko OV, Gorbunov AV. (2009). Clinical findings and diagnostics in patients with postoperative cicatricial commissural epiduritis

and spinal stenosis [Osobennosti kliniki i diagnostiki u bol'nykh s posleoperatsionnym rubtsovo-spaechnym epiduritom i stenozami pozvonochного kanala]. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*, (6), 102-105.

6. Левин О.Г. Диагностика и лечение боли в шее и верхних конечностях // Русский медицинский журнал. – 2006. – № 9. – С. 71–73.

Levin OG. (2006). Diagnostics and treatment of pain in cervical spine and upper limbs [Diagnostika i lechenie boli v shее i verkhnikh konechnostyakh]. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*, (9), 71-73.

7. Никифоров А.С., Мендель О.И. Плечелопаточный болевой синдром: современные подходы к диагностике и лечению // Русский медицинский журнал. – 2006. – № 8. – С. 621–626.

Nikiforov AS, Mendel OI. (2006). Scapulohumeral pain syndrome: modern approaches to the diagnostics and treatment [Plechelopatochnyy bolevoi sindrom: sovremennye podkhody k diagnostike i lecheniyu]. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*, (8), 621-626.

8. Склярёнок О.В., Кошкарёва З.В., Сороковиков В.А. Некоторые аспекты консервативного лечения больных с остеохондрозом шейного отдела позвоночника // Acta biomedica scientifica. – 2016. – Т. 1, № 4. – С. 72–77.

Sklyarenko OV, Koshkareva ZV, Sorokovikov VA. (2016). Some aspects of conservative treatment of patients with cervical osteochondrosis [Nekotorye aspekty konservativnogo lecheniya bol'nykh s osteokhondrozom sheynogo otдела pozvonochnika]. *Acta biomedica scientifica*, 1 (4), 72-77.

9. Солоха З.А., Яхно Н.Н. Диагностика и лечение синдрома плечелопаточной периаартропатии // Неврологический журнал. – 2006. – № 1. – С. 26–31.

Solokha ZA, Yakhno NN. (2006). Diagnostics and treatment of scapulohumeral periarthritis [Diagnostika i lechenie sindroma plechelopatochnoy periaartropatii]. *Nevrologicheskiy zhurnal*, (1), 26-31.

10. Сороковиков В.А., Кошкарёва З.В., Склярёнок О.В. Остеохондроз: некоторые аспекты состояния вопроса // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2016. – Т. 141, № 2. – С. 22–28.

Sorokovikov VA, Koshkareva ZV, Sklyarenko OV. (2016). Osteochondrosis: some aspects of an issue [Os-

teokhondroz: nekotorye aspekty sostoyaniya voprosa]. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*, 141 (2), 22-28.

11. Фирсов А.А., Кусайкин А.Ю., Никонов А.А. Вертеброгенная цервикальная радикулопатия: клинические аспекты диагностики и лечения // Архив внутренней медицины. – 2012. – № 5 (7). – С. 34–39.

Firsov AA, Kusaykin AYu, Nikonov AA. (2012). Vertebrogenic cervical radiculopathy: clinical aspects of diagnostics and treatment [Vertebrogennaya tservikal'naya radikulopatiya: klinicheskie aspekty diagnostiki i lecheniya]. *Arkhiv vnutrenney meditsiny*, 5 (7), 34-39.

12. Цурко В.В., Хитров Н.А., Иванова Т.Б., Агапова Л.А. Боль в плече (между старыми штампами плече-лопаточного периаартрита и новыми данными терапии НПВП) // Русский медицинский журнал. – 2006. – Т. 14, № 27. – С. 34–39.

Tsurko VV, Khitrov NA, Ivanova TB, Agapova LA. (2006). Humeral pain (between the old cliches of scapulohumeral periarthritis and new data of NSAID therapy [Bol' v pleche (mezhdru starymi shtampami pleche-lopatochного periaartrita i novymi dannymi terapii NPVP)]]. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*, 14 (27), 34-39.


13. Coppieters MV, Stappaerts KH, Wouters LL, Janssens K. (2003) The immediate effects of a cervical lateral glide treatment technique in patients with neurogenic cervicobrachial pain. *J Orthop Sports Phys Ther*, 33 (7), 369-376.


14. Gangavelli R, Sreekumaran N, Bhat AK, Solomon JM. (2016). Cervicobrachial pain – how often is it neurogenic? *J Clin Diagn Res*, 10 (3), 14-16. DOI: 10.7860/JCDR/2016/16456.7492



15. Kietrys D, Palombaro K, Azzaretto E, Hubler C, Schaller B, Schlussek J, Tucker M. (2013) Effectiveness of dry needling for upper-quarter myofascial pain: a systematic review and meta-analysis. *J Orthop Sports Phys Ther*, 43 (9), 620-634. DOI: 10.2519/jospt.2013.4668



16. Manchikanti L, Kaye AD, Boswell MV, Bakshi S, Gharibo CG, Grami V, Grider JS, Gupta S, Jha SS, Mann DP, Nampiaparampil DE, Sharma ML, Shroyer LN, Singh V, Sooin A, Vallejo R, Wargo BW, Hirsch JA. (2015) A systematic review and best evidence synthesis of effectiveness of therapeutic facet joint interventions in managing chronic spinal pain. *Pain Physician*, 18 (4), 535- 82.


Сведения об авторах Information about the authors

Склярёнок Оксана Васильевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник научно-клинического отдела нейрохирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1; тел. (3952) 29-03-46; e-mail: oxanasklyarenko@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0003-1077-7369>


Sklyarenko Oksana Vasilyevna – Candidate of Medical Sciences, Senior Research Officer at the Research Clinical Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (664003, Irkutsk, ul. Bortsov Revolyutsii, 1; tel. (3952) 29-03-46; e-mail: oxanasklyarenko@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0003-1077-7369>


Животенко Александр Петрович – младший научный сотрудник научно-клинического отдела нейрохирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (e-mail: sivotenko1976@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0002-4032-8575>
Zhivotenko Aleksandr Petrovich – Research Officer at the Research Clinical Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (e-mail: sivotenko1976@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0002-4032-8575>

Кошкарёва Зинаида Васильевна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела нейрохирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»  <http://orcid.org/0000-0002-4387-5048>
Koshkareva Zinaida Vasilyevna – Candidate of Medical Sciences, Leading Research Officer at the Research Clinical Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology  <http://orcid.org/0000-0002-4387-5048>


Ипполитова Елена Геннадьевна – научный сотрудник научно-клинического отдела нейрохирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (тел. (3952) 29-03-81)  <http://orcid.org/0000-0001-7292-2061>

Ippolitova Elena Gennadievna – Research Officer at the Research Clinical Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (tel. (3952) 29-03-81)  <http://orcid.org/0000-0001-7292-2061>

Верхозина Татьяна Константиновна – кандидат медицинских наук, заведующая отделением функциональных методов исследования, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; доцент кафедры рефлексотерапии и косметологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100)  <http://orcid.org/0000-0003-3136-5005>

Verkhovina Tatiana Konstantinovna – Candidate of Medical Sciences, Head of the Function Test Department, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Associate Professor at the Department of Reflexotherapy and Cosmetology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (664049, Irkutsk, Yubileyniy, 100)  <http://orcid.org/0000-0003-3136-5005>

Цысляк Елена Сергеевна – научный сотрудник научно-клинического отдела нейрохирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»  <http://orcid.org/0000-0002-5240-6454>

Tsyslyak Elena Sergeevna – Research Officer at the Research Clinical Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology  <http://orcid.org/0000-0002-5240-6454>

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ OPHTHALMOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2018-3.5.11

УДК 617.7-007.681-085.814.1.036

Валуева И.В.^{1, 2}, Киргизова О.Ю.¹

Эффективность рефлексотерапии при лечении больных глаукомой

¹ Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

² Иркутский филиал ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 337, Россия)

В настоящее время достигнуты значительные успехи в хирургическом и консервативном лечении глаукомы. Однако у больных с длительным течением заболевания даже на фоне нормализованного внутриглазного давления происходит прогрессивное ухудшение зрительных функций с переходом заболевания в более тяжёлую стадию. Воздействия, направленные исключительно на понижение внутриглазного давления, не в состоянии полностью обеспечить сохранность зрительных функций, а следовательно, и стабилизацию глаукомного процесса. В патогенезе глаукомы немалую роль играют дисфункция нервной системы и сосудистые нарушения. В связи с этим лечение данного заболевания должно быть комплексным и должно включать нейротропную терапию, направленную на коррекцию метаболических нарушений, возникающих при глаукоме в зрительном нерве, улучшение микроциркуляции и трофики тканей. Общепринятая консервативная терапия не обеспечивает адекватного кровоснабжения зрительного нерва и профилактики ухудшения зрительных функций более чем у половины больных. Целью настоящего исследования было изучение эффективности рефлексотерапии у больных глаукомой после хирургического лечения и нормализации внутриглазного давления. В рамках исследования было пролечено 18 больных с диагнозом первичная открытоугольная глаукома. Проводилась акупунктура по индивидуальным рефлексотерапевтическим методикам. Установлено, что акупунктура даёт статистически значимое улучшение функций зрительной системы, улучшение общего состояния, нормализацию артериального давления и психоэмоционального состояния больных.

Ключевые слова: офтальмология, глаукома, рефлексотерапия

Для цитирования: Валуева И.В., Киргизова О.Ю. Эффективность рефлексотерапии при лечении больных глаукомой. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 72-75, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.11.

Effect of Acupuncture on the Function of the Visual System in Patients of Glaucoma

Valueva I.V.^{1, 2}, Kirgizova O.Yu.¹

¹ Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

² Irkutsk Branch of The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution (ul. Lermontova 337, Irkutsk 664033, Russian Federation)

At present, significant advances have been made in the surgical and conservative treatment of glaucoma. However, in patients with a prolonged course of the disease, even against the background of normalized intraocular pressure, progressive deterioration of visual functions occurs with the transition of the disease to a more severe stage. Effects directed solely at lowering the intraocular pressure are not able to fully ensure the preservation of visual functions, so its normalization cannot ensure the stabilization of the glaucoma process. Dysfunction of the nervous system and vascular disorders play a significant role in the pathogenesis of glaucoma. In this regard, the treatment of this disease should be comprehensive and include neuroprotective therapy aimed at correction of metabolic disorders that occur in glaucoma in the optic nerve head, improvement of local microcirculation and trophism of tissues, normalization the rheological properties of the blood. Conventional conservative therapy does not provide adequate blood supply to the optic nerve and prevent the deterioration of visual functions in more than half of patients. The purpose of this study was to study the effectiveness of reflexotherapy in patients with glaucoma after surgery and normalization of intraocular pressure. In the study, 18 patients with a diagnosis of primary open-angle glaucoma were treated. It has been established that reflexotherapy improves significantly the functions of the visual system and the general condition, normalizes arterial pressure and psycho-emotional state of patients.

Key words: ophthalmology, glaucoma, reflexology

For citation: Valueva I.V., Kirgizova O.Yu. Effect of acupuncture on the function of the visual system in patients of glaucoma. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 72-75, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.11.

Глаукома – многофакторное нейродегенеративное заболевание с хроническим прогрессирующим течением [3], характеризующееся повышением внутриглазного давления (ВГД), нарушением центрального и периферического зрения, развитием атрофии зрительного нерва [6, 7, 12, 14]. Широкая распространённость глаукомы и высокий риск инвалидизации в результате развития необратимой слепоты представляют серьёзную медико-социальную проблему. Число больных глаукомой в мире неуклонно растёт с каждым годом. Так, в 2013 г. это заболевание было выявлено у 64,3 млн человек в возрастной группе 40–80 лет, а к 2020 г. ожидается увеличение заболевших до 76,0 млн. Проблема глаукомы является одной из важнейших в современной медицине [1, 4, 8, 11].

У больных с хроническим течением заболевания даже при нормализации ВГД происходит прогрессивное ухудшение не только остроты зрения, но и полей зрения, а также других зрительных функций. Терапия, направленная на снижение ВГД, не может обеспечить сохранность зрительных функций, а соответственно, и стабилизацию глаукомного процесса.

В патогенезе данного заболевания большую роль играет дисфункция вегетативной нервной системы [1]. Большое значение придаётся сосудистым нарушениям, ведущим к ишемии диска зрительного нерва и сетчатки [5, 13]. Поэтому нейропротекторная и сосудистая терапия нейропатии зрительного нерва является важной частью лечения больных глаукомой [5]. Нейропротекторная терапия направлена на оптимизацию метаболизма, окислительно-восстановительных процессов, улучшение гемодинамики [9, 10]. Выбор эффективной тактики лечения представляет собой важную задачу практической офтальмологии.

Общепринятая консервативная терапия не обеспечивает адекватного кровоснабжения зрительного нерва и профилактики снижения остроты зрения и других нарушений более чем у половины больных с нормализованным ВГД.

Методы физиотерапии широко используются в офтальмологии, но у пожилых больных имеются ограничения в их использовании. В основном применяемые факторы оказывают мощное стимулирующее действие, способствуют регенерации тканей в области фильтрационной подушки прооперированного глаза, могут отрицательно влиять на внутриглазное давление.

Рефлексотерапия является одним из эффективных методов терапии. Исследованиями многих авторов выяснены различные механизмы лечебного действия рефлексотерапии, в том числе в офтальмологии. В литературе имеются сведения об эффективном использовании иглотерапии при неоперированной глаукоме, фармакопунктуры биоматериалом – при миопии [2]. Известно, что иглотерапия оказывает опосредованное действие через нейрогуморальные и рефлекторные механизмы, вызывает обменные, трофические и функциональные изменения в организме, способствует восстановлению функций различных органов и систем.

В связи с вышеизложенным целью нашего исследования явилось изучение эффективности игло-

терапии на восстановление зрительных функций у больных глаукомой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было пролечено 18 больных в возрасте от 44 до 72 лет (средний возраст $57,4 \pm 0,27$ года) с диагнозом первичная открытоугольная глаукома (ОУГ) II–III стадии: 13 женщин и 5 мужчин. Больных с ОУГ II стадии было 11 человек, с ОУГ III стадии – 7 пациентов.

У всех больных в анамнезе было проведённое хирургическое лечение глаукомы и достижение нормального уровня ВГД.

Обследование проводилось до и сразу после курса лечения. Для оценки состояния функций зрительной системы применялись следующие методы исследований: визометрия, периметрия по 8 меридианам, тонометрия (тонометр Маклакова), исследование электрической лабильности и чувствительности.

Лечение проводилось по индивидуально разработанным методикам иглорефлексотерапии, составленным с учётом стадии заболевания, сопутствующей соматической патологии, возраста.

Акупунктура проводилась с целью стабилизации прогрессирования снижения остроты зрения, улучшения нейрорецепторной и нейропроводящей систем глаза.

Составлена и использована следующая основная схема лечения и сочетания точек: TR10, MC3, R10, F8, RP9, E35, VB33.

Локальные точки: инь-тан (PC3), шан-гэнь (PC4), тоу-гуан-мин (PC5), VB1, юй-вэй (PC7), VB14, V2.

С учётом жалоб, сопутствующей соматической патологии и общего состояния пациента в лечение добавляли точки E36, G14, VB20, V10, V23, V18, IG3, V62, F3, VB37.

Методика воздействия: использовались тормозной (второй вариант) и гармонизирующий методы иглоукалывания. Продолжительность процедуры составляла 30 минут.

Курс лечения включал 9–10 процедур. В первой половине курса лечение проводилось ежедневно, а затем – через день.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Отчётливый клинический эффект по окончании курса был достигнут у большинства пациентов (87 %). Об этом свидетельствовали позитивные сдвиги данных офтальмологического обследования.

Как видно из результатов, представленных в таблице 1, комбинированное воздействие даёт статистически значимое улучшение центрального и периферического зрения. Так, у пациентов со II стадией ОУГ острота зрения увеличилась в 1,5 раза, суммарное поле зрения по 8 меридианам расширилось на 40°, значительно улучшились электрофизиологические показатели – электролабильность и порог электрочувствительности. Сходные результаты получены у пациентов с глаукомой в III стадии заболевания. У этих больных, хотя и установлена положительная динамика со стороны всех показателей, но статистически значимое улучшение функций зрительного аппарата выявлено только для показателей, характери-

Таблица 1
Изменение зрительных функций под влиянием акупунктуры у больных с ПОУГ II и III стадии
Table 1
Visual system functions changing in patients with stage II and III glaucoma after acupuncture

| Показатели | ПОУГ II стадии (n = 11), M ± m | | ПОУГ III стадии (n = 7), M ± m | |
|--|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| | до лечения | после лечения | до лечения | после лечения |
| Внутриглазное давление (мм рт. ст.) | 20,0 ± 0,4 | 19,0 ± 0,3 <i>p</i> > 0,05 | 19,9 ± 0,39 | 19,8 ± 0,19 <i>p</i> > 0,05 |
| Острота зрения (ед.) | 0,36 ± 0,03 | 0,53 ± 0,04 <i>p</i> < 0,05 | 0,27 ± 0,05 | 0,31 ± 0,06 <i>p</i> > 0,05 |
| Суммарное поле зрения (град.) | 450,5 ± 2,3 | 489,0 ± 8,3 <i>p</i> < 0,01 | 247,0 ± 13,7 | 307,0 ± 13,1 <i>p</i> < 0,01 |
| Электрическая лабильность (Гц) | 30,7 ± 0,9 | 35,4 ± 0,9 <i>p</i> < 0,05 | 26,6 ± 1,2 | 31,6 ± 1,5 <i>p</i> < 0,05 |
| Порог электрической чувствительности (мкА) | 105,6 ± 6,1 | 91,0 ± 2,3 <i>p</i> < 0,01 | 182,0 ± 11,7 | 151,0 ± 13,5 <i>p</i> > 0,05 |

зующих суммарное поле зрения (увеличение на 50°) и электролабильность (повышение на 20 %). Важно отметить, что при всех этих изменениях показатель ВГД остаётся стабильным (в пределах возрастной нормы) с тенденцией к снижению.

Кроме улучшения зрительных функций, все пациенты отмечали улучшение общего состояния: нормализацию артериального давления, психоэмоционального состояния, улучшение функций желудочно-кишечного тракта, сна, – что является важной частью лечения.

Отдалённые результаты обследований выявили стойкость эффекта в течение 3–6 месяцев после проведённого курса, длительность которого зависит от стадии заболевания и сопутствующей патологии.

Таким образом, на основании детальной оценки результатов проведённых курсов иглотерапии нами установлено, что акупунктура является методом выбора при лечении пациентов с глаукомой, особенно при наличии сопутствующей патологии.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES**

1. Алексеев В.Н., Лысенко О.И. Особенности состояния нервной системы больных глаукомой // Национальный журнал Глаукома. – 2017. – № 3. – С. 103–112.
Alekseev VN, Lysenko OI. (2017). Features of the nervous system conditions in atients with glaucoma [Osobennosti sostoyaniya nervnoy sistemy bol'nykh glaukomoy]. *Natsional'nyy zhurnal Glaukoma*, (3), 103-112.

2. Апрелев А.Е. Сравнительный анализ клинико-функциональных показателей у пациентов с миопией в зависимости от вида рефлексотерапевтического лечения // Вестник офтальмологии. – 2011 – Т. 127, № 2 – С. 49–53.
Aprelev AE. (2011). Comparative analysis of clinical and functional indices in patients with myopia depending on the reflexology treatment [Sravnitel'nyy analiz kliniko-funktsional'nykh pokazateley u patsientov s miopiey v zavisimosti ot vida refleksoterapevticheskogo lecheniya]. *Vestnik oftal'mologii*, 127 (2), 49-53.

3. Волков В.В. Глаукома при псевдонормальном давлении. – М.: Медицина, 2001. – 350 с.

Volkov VV. (2001). Glaucoma at pseudonormal pressure [*Glaukoma pri psevdonormal'nom davlenii*]. Moskva, 350 p.

4. Воробьев И.В., Мошетова Л.К., Щербакоева Е.В. Результаты лечения первичной открытоугольной глаукомы в сочетании с диабетической ретинопатией // Офтальмология. – 2017. – № 14 (1). – С. 40–46.

Vorobyev IV, Moshetova LK, Shcherbakov EV. (2017). Results of treatment of primary open-angle glaucoma in combination with diabetic retinopathy [Rezultaty lecheniya pervichnoy otkrytougol'noy glaukomoy v sochetanii s diabeticheskoy retinopatiey]. *Oftal'mologiya*, 14 (1), 40-46.

5. Курышева Н.И. Сосудистая теория патогенеза глаукомной оптиконеуропатии: обоснование с позиций анатомии и физиологии глазного кровотока // Национальный журнал Глаукома. – 2017. – № 3. – С. 90–97.

Kuryshcheva NI. (2017). Vascular theory of glaucomatous opticoneuropathy pathogenesis: a substantiation from a standpoint of ocular bloodflow anatomy and physiology [Sosudistaya teoriya patogeneza glaukomnoy optikoneuropatii: obosnovanie s pozitsiy anatomii i fiziologii glaznogo krovotoka]. *Natsional'nyy zhurnal Glaukoma*, (3), 90-97.

6. Национальное руководство по глаукоме / Под ред. Е.А. Егорова, Ю.С. Астахова, В.П. Еричева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – С. 187–242.

Egorov EA, Astakhov YuS, Erichev VP. (eds). (2015). National guidelines on glaucoma [*Natsional'noe rukovodstvo po glaukome*]. Moskva, 187-242.

7. Нестеров А.П. Глаукома. – М.: МИА, 2008. – 560 с.
Nesterov AP. (2008). Glaucoma [*Glaukoma*]. Moskva, 560 p.

8. Офтальмология. Национальное руководство / Под ред. С.Э. Аветисова, Е.А. Егорова, Л.К. Мошетовой, В.В. Нероева, Х.П. Тахчиди. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 736 с.

Avetisov SE, Egorov EA, Moshetova LK, Neroev VV, Tahkhidi KhP. (eds). (2014). Ophthalmology. National guidelines [*Oftal'mologiya. Natsional'noe rukovodstvo*]. Moskva, 736 p.

9. Рудковская О.Д., Пишак В.П. Офтальмогипертензия и глаукома. Механизмы развития // Вестник офтальмологии. – 2010. – Т. 126, № 3. – С. 40–43.

Rudkovskaya OD, Pishak VP. (2010). Ocular hypertension and glaucoma. Pathogenesis [Oftal'mogipertenziya i glaukoma. Mekhanizmy razvitiya]. *Vestnik oftalmologii*, 126 (3), 40-43.

10. Штилерман А.Л., Михальский Э.А., Лысяк И.В. Комбинированное лечение больных глаукомой с нестабилизированным течением // Вестник офтальмологии. – 2010. – Т. 126, № 5. – С. 28–31.

Shtilerman AL, Mikhalskiy EA, Lysyak IV. (2010). Combined treatment of patients with unstabilized glaucoma [Kombinirovannoe lechenie bol'nykh glaukomoy s nestabilizirovannym techeniem]. *Vestnik oftal'mologii*, 126 (5), 28-31.

11. Glen FC, Crabb DP, Garway-Heath DF. (2011). The direction of research into visual disability and quality of life in glaucoma. *BMC Ophthalmology*, 19 (11). Available at: <http://www.biomedcentral.com/1471-2415/11/19>.

12. Goldberg JL. (2010). Glaucoma and the brain. Available at: <http://www.glaucoma.org/glaucoma/glaucoma-and-the-brain.php>.

13. Quigley HA, Cone FE. (2013). Development of diagnostic and treatment strategies for glaucoma through understanding and modification of sclera and lamina cribrosa connective tissue. *Cell Tissue Res*, 2 (353), 231-244.

14. Pillunat KR, Spoerl E, Elfes G, Pillunat LE. (2016). Preoperative intraocular pressure as a predictor of selective laser trabeculoplasty efficacy. *Acta Ophthalmol*, 94 (7), 692-696.

15. Osborne NN. (2001). A hypothesis ganglion cell death caused by vascular insults at the optic nerve head: possible implication for the treatment of glaucoma. *Br J Ophthalmol*, 85 (10), 1252-1259.

Сведения об авторах

Information about the authors

Валуева Ирина Викторовна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры рефлексотерапии и косметологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; врач-иглорефлексотерапевт, Иркутский филиал ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» имени акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 337; e-mail: valirvict@mail.ru) ● <https://orcid.org/0000-0002-8499-0042>

Valueva Irina Viktorovna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor at the Department of Reflexotherapy and Cosmetology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; acupuncturist, Irkutsk Branch of The S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution (664033, Irkutsk, ul. Lermontova, 337; e-mail: valirvict@mail.ru) ● <https://orcid.org/0000-0002-8499-0042>

Киргизова Оксана Юрьевна – доктор медицинских наук, профессор заведующая кафедрой рефлексотерапии и косметологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664079, г. Иркутск, Юбилейный, 100; e-mail: kirgizova.ok@rambler.ru) ● <https://orcid.org/0000-0003-1124-0301>

Kirgizova Oksana Yurievna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Reflexotherapy and Cosmetology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (664079, Irkutsk, Yubileyniy, 100; e-mail: kirgizova.ok@rambler.ru) ● <https://orcid.org/0000-0003-1124-0301>

ПЕДИАТРИЯ PEDIATRICS

DOI: 10.29413/ABS.2018-3.5.12

УДК 616.831-001.8 – 053.32

Лихолетова Н.В. ¹, Анурьев А.М. ¹, Горбачева С.М. ¹, Павлова Т.И. ², Павлов А.Б. ²

Влияние гипоксического поражения головного мозга на выживаемость недоношенных детей

¹ Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

² ГБУЗ «Иркутская ордена «Знак почёта» областная клиническая больница» (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

Поражения центральной нервной системы являются часто встречающейся патологией неонатального периода, при этом одной из основных причин церебральной дисфункции у новорожденных является гипоксия. Целью данного исследования было изучение частоты церебральных нарушений гипоксического типа у недоношенных новорожденных с экстремально низкой массой тела и очень низкой массой тела при рождении и выявление факторов риска, которые неблагоприятно влияли на исход заболевания. Объектом исследования были недоношенные дети, гестационный возраст которых не превышал 31 недели. Основным критерием включения в исследование послужило наличие у детей повреждения головного мозга гипоксически-ишемического и гипоксически-геморрагического характера. С целью выявления перинатальных факторов риска выполнялся сбор данных о соматическом здоровье матерей, особенностях течения беременности и родов. Также проводился анализ структуры детской патологии и методов интенсивной терапии. Из 176 обследованных детей церебральные нарушения были верифицированы у 42 (23,5 %). Внутрижелудочковое кровоизлияние II–III степени диагностировано у 34 (80,9 %) новорожденных, ишемия тяжёлой степени – у 8 (19,1 %). С целью определения структуры исхода заболевания все дети были разделены на умерших и выживших. Летальный исход наблюдался в 14 (33,3 %) случаях. Установлено, что у матерей умерших детей чаще встречалась акушерская и сопутствующая экстрагенитальная патологии. Анализ детской патологии показал, что гемодинамически значимый функционирующий артериальный проток и тяжёлая асфиксия в родах значительно чаще встречались у умерших детей. При проведении респираторной терапии пациентам с летальным исходом требовались более высокие значения процентного содержания кислорода во вдыхаемой смеси и пикового давления. Также отмечено, что этим детям чаще приходилось использовать высокие дозы кардиотонических препаратов. Таким образом, представленные факторы риска можно считать предикторами неблагоприятного исхода у детей с данной патологией.

Ключевые слова: церебральные нарушения, внутрижелудочковые кровоизлияния, гипоксия, недоношенные новорожденные

Для цитирования: Лихолетова Н.В., Анурьев А.М., Горбачева С.М., Павлова Т.И., Павлов А.Б. Влияние гипоксического поражения головного мозга на выживаемость недоношенных детей. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 76-81, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.12.

The Effect of Hypoxic Brain Damage on the Survival of Premature Infants

Likholetova N.V. ¹, Anuryev A.M. ¹, Gorbacheva S.M. ¹, Pavlova T.I. ², Pavlov A.B. ²

¹ Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

² Irkutsk Regional Clinical Hospital (Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

The central nervous system injuries are a common neonatal pathology, hypoxia being one of the main causes of cerebral dysfunction. The purpose of this study was studying the incidence of hypoxic cerebral disorders in premature infants with an extremely low body weight and a very low birth weight and revealing the risk factors that adversely affected the disease outcome. The subject of the study was preterm infants whose gestational age did not exceed 31 weeks. The main criterion for inclusion into the study was the presence of hypoxic-ischemic and hypoxic-hemorrhagic brain damage. To reveal the perinatal risk factors, the somatic health of mothers, and pregnancy and childbirth peculiarities were studied. The structure of children's pathology and intensive care techniques were analyzed. Cerebral disorders were verified in 42 out of 176 patients (23.5 %). 2–3rd-degree intraventricular hemorrhage was diagnosed in 34 newborns (80.9 %), severe ischemia in 8 children (19.1 %). To determine the structure of the disease outcome, all children were divided into deceased and survivors. A fatal outcome was observed in 14 cases (33.3 %). The mothers of deceased children were more likely to have obstetric and concomitant extragenital pathologies. Analysis of pediatric pathology

showed that the hemodynamically significant functioning arterial duct and severe asphyxia in childbirth were much more frequent in deceased children. Intensive therapy of deceased children included «hard» parameters of artificial ventilation and high doses of cardiotonic drugs. Thus the presented risk factors can be considered as predictors of an unfavorable outcome in children with this pathology.

Key words: cerebral disorders, intraventricular hemorrhage, hypoxia, preterm infants

For citation: Likholetova N.V., Anuryev A.M., Gorbacheva S.M., Pavlova T.I., Pavlov A.B. The effect of hypoxic brain damage on the survival of premature infants. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 76-81, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.12.

ВВЕДЕНИЕ

В структуре детской соматической патологии поражения нервной системы составляют около 50 %, при этом заболевания центральной нервной системы (ЦНС), приводящие к инвалидизации и дезадаптации детей, в 70–80 % случаев обусловлены перинатальными факторами [3, 5]. Неонатальное гипоксическое поражение головного мозга остаётся основным фактором высокой смертности и пожизненной заболеваемости новорожденных детей. В развитых странах частота встречаемости данной патологии составляет 1–8 на 1000 новорожденных, в развивающихся странах – 26 на 1000 новорожденных [13]. Согласно исследованиям зарубежных авторов, примерно 10–20 % пострадавших младенцев погибают в постнатальном периоде, а более 25 % выживших имеют такие неврологические нарушения, как эпилепсия, трудности в обучении, детский церебральный паралич (ДЦП) [14]. Одно из таких исследований проводилось Национальным институтом здоровья и развития ребёнка (National Institute of Child Health and Human Development, USA), который обследовал более 1000 детей, родившихся с массой тела от 401 до 1000 г, и к 22 месяцам жизни результаты показали, что 25 % детей имели неврологические нарушения, 9 % – нарушения зрения, 11 % – нарушения слуха, 17 % – ДЦП. Частота патологии увеличивалась по мере снижения массы тела и ассоциировалась с наличием внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК) III–IV степени, перивентрикулярной лейкомаляции (ПВЛ), некротизирующего энтероколита, бронхолегочной дисплазии и мужским полом [17]. В исследованиях R.Y. Ancel частота развития ДЦП у недоношенных детей к двум годам составляет 8,2 % [7]. По данным отечественной литературы, среди младенцев, родившихся с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ), только 24 % детей развиваются в дальнейшем нормально, практически не отступая от возрастных норм [1].

Гипоксические поражения головного мозга у новорожденных подразделяют на гипоксически-ишемические и гипоксически-геморрагические. Основным патогенетическим механизмом, лежащим в основе церебрального повреждения при гипоксически-ишемической энцефалопатии (ГИЭ), является дефицит кислорода и глюкозы, который приводит к первичному энергетическому дисбалансу и индуцирует каскад биохимических реакций, тем самым вызывая дисфункцию клеток и, в конечном счёте, их гибель. Особую роль в развитии данных нарушений играют увеличение внеклеточного глутамата, чрезмерная активация глутаматных рецепторов, увеличение цитозольного кальция и образование свободных радикалов [16, 20]. Локализация ишемического повреждения у доношенных и недоношенных детей различна [12].

У недоношенных новорожденных возникновение ишемического очага совпадает с временным окном высокой восприимчивости предшественников олигодендроцитов к эксайтотоксичности, окислительному стрессу и воспалению [8, 11]. Нарушение дифференциации олигодендроцитов предрасполагает мозг к дефектному развитию белого вещества [9, 15, 19]. У доношенных детей ишемия локализуется в области серого вещества, чаще всего в полосатом теле, таламусе и коре. В последние годы отмечается устойчивая тенденция к улучшению диагностики ишемических поражений головного мозга в связи с постоянным совершенствованием методов нейровизуализации и повышенной настороженности врачей-неонатологов и детских неврологов к данному заболеванию [10].

Гипоксически-геморрагические поражения головного мозга преобладают у недоношенных, особенно с малым сроком гестации, находятся в обратной пропорциональной зависимости от гестационного возраста и занимают одно из ведущих мест в структуре перинатальной детской смертности. Частота внутричерепных кровоизлияний гипоксического генеза у недоношенных детей колеблется от 31 до 55 %, а при применении искусственной вентиляции лёгких (ИВЛ) достигает 70 %. ВЖК встречается в среднем у 25 % недоношенных, более чем у половины они возникают в первые сутки жизни. У доношенных новорожденных частота развития ВЖК составляет около 0,1 %. Чем меньше гестационный возраст новорожденного, тем более реальна угроза ВЖК. Особенно часто ВЖК возникает в случае респираторного дистресс-синдрома, который требует проведения ИВЛ. К предрасполагающим факторам можно отнести разрыв ломких капилляров субэпендимального герминального матрикса, который служит источником развития глиальных клеток и рассасывается по мере доношивания плода, как правило, после 32-й недели гестации. Также возникновению ВЖК способствует нарушение ауторегуляции сосудов головного мозга и развитие «феномена пассивного давления». Большое влияние оказывает нарушение тромبوцитарного и коагуляционного звеньев гемостаза.

Наиболее доступным методом, позволяющим выявить церебральную патологию как ишемического, так и геморрагического генеза в периоде новорожденности, является нейросонография (НСГ). Характерным повреждением белого вещества при ишемии у недоношенных детей является ПВЛ. Ранние проявления ПВЛ при ультразвуковом сканировании характеризуются гиперэхогенностью в области перивентрикулярного белого вещества боковых желудочков и появляются, как правило, после 14-го дня жизни. ВЖК по данным НСГ разделяют на четыре степени тяжести: I – кровоизлияние ограничено субэпендимальной зоной;

II – ВЖК без расширения желудочков головного мозга; III – ВЖК с расширением желудочков; IV – ВЖК с расширением на паренхиму головного мозга.

Учитывая высокий риск летального исхода и инвалидизации новорожденных детей с церебральной патологией, возникает большой интерес к изучению данной проблемы.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявить частоту встречаемости гипоксически-ишемического и гипоксически-геморрагического поражений ЦНС у недоношенных новорожденных с ЭНМТ и очень низкой массой тела (ОНМТ) при рождении и оценить роль перинатальных факторов риска на исход заболевания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведен ретроспективный анализ 176 историй болезни недоношенных новорожденных с ЭНМТ и ОНМТ, находившихся на лечении в отделении реанимации для новорожденных областного перинатального центра г. Иркутска за 2016 год.

Основным критерием включения в исследование послужило наличие у детей повреждения головного мозга геморрагического (ВЖК) и/или ишемического характера (ГИЭ), подтверждённого клиническими, лабораторными и инструментальными методами.

Критерии включения:

1. Инфекционные заболевания головного мозга и его оболочек.
2. Пороки развития головного мозга.
3. Механическая травма мозга.

Из 176 обследованных детей ишемическое и геморрагическое повреждение церебральных структур было верифицировано у 42 пациентов. ВЖК II–III степени диагностировано у 34 (80,9 %) новорожденных, ГИЭ тяжёлой степени – у 8 (19,1 %) детей. Большинство детей было мужского пола: мальчиков – 27 (64,2 %), девочек – 15 (35,8 %). Распределение детей по гестационному возрасту выглядело следующим образом: 32 (76,1 %) ребёнка родились в срок до 28 недель, 10 (23,9 %) – в срок от 29 до 31 недели.

Всем детям проводились общеклинические, лабораторные методы исследования, а также ультразвуковое исследование с доплерометрией церебральных сосудов, эхокардиография, компьютерная и магнитно-резонансная томография по показаниям.

Оценка неврологического статуса недоношенных новорожденных в неонатальном периоде проводилась в соответствии с системой обследования по А.Б. Пальчик (1995, 1997) [6]. Оценивались следующие показатели: 1) общая двигательная активность; 2) мышечный тонус; 3) исследование сухожильных и безусловных рефлексов; 4) наличие или отсутствие спонтанного открывания глаз; 5) наличие или отсутствие спонтанного самостоятельного дыхания, повторных апноэ; 6) наличие судорог; 7) соотношение процессов возбуждения – угнетения. Неврологическое обследование проводилось в период нахождения ребёнка в отделении реанимации ежедневно в течение первой недели жизни, затем два раза в неделю – до перевода в отделение патологии новорожденных.

НСГ осуществлялась в первые сутки после рождения, затем один раз в 72 часа на первой неделе жизни и в последующем один раз в неделю до момента выписки из стационара. Для оптимального отражения эхографической анатомии мозговых структур новорожденных детей применялась методика, предложенная сотрудниками Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН С.М. Воеводиным и О.Е. Озеровой в 1991 г. в модификации И.В. Дворяковского 1994 г. [2]. Для верификации геморрагического повреждения головного мозга использовалась классификация пери- и интравентрикулярных кровоизлияний по M.I. Levene et al. в модификации К.В. Ватолина [4, 18].

С целью выявления перинатальных факторов риска проводился сбор данных о соматическом здоровье матерей, особенностях течения беременности и родов, своевременности госпитализации в лечебное учреждение III уровня. Кроме того, оценивали зависимость неблагоприятного исхода заболевания от наличия гемодинамически значимого функционирующего артериального протока (ГЗФАП), тяжёлой асфиксии в родах и методов интенсивной терапии.

В родильном зале проводился комплекс мероприятий, включающий в себя профилактику гипотермии недоношенного ребёнка, методы респираторной стабилизации, терапию сурфактантом. Транспортировка новорожденных с ЭНМТ и ОНМТ из родильного зала в отделение интенсивной терапии проводилась в пластиковой плёнке, в транспортном инкубаторе под контролем пульсоксиметрии не менее чем двумя медицинскими работниками. В отделении анестезиологии и реанимации проводился перечень медицинских мероприятий по первичной стабилизации состояния недоношенных детей, согласно общепринятым клиническим рекомендациям. ИВЛ у недоношенных проводилась при сохраняющейся на фоне СРАР брадикардии и/или при длительном (более пяти минут) отсутствии самостоятельного дыхания. Стартовые параметры ИВЛ: PIP – 20–22 см. H₂O, PEEP – 5 см. H₂O, частота дыхания – 40–60 вдохов в минуту. Основным показателем эффективности ИВЛ являлось возрастание ЧСС > 100 уд./мин.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием прикладной программы STATISTICA 6.0 for Windows. Анализ статистической значимости различий качественных признаков проведён с помощью критерия для малых выборок – двустороннего точного критерия Фишера. За уровень статистической значимости принят $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Частота церебрального повреждения среди недоношенных новорожденных с ЭНМТ и ОНМТ при рождении составила 23,5 % (42 ребёнка). С целью определения структуры исхода заболевания пациенты были разделены на умерших и выживших. Летальный исход наблюдался в 14 (33,3 %) случаях. При этом смертность от ВЖК составила 85,7 % (12 детей), от ГИЭ – 14,3 % (2 ребёнка). 28 (69,7 %) детей после курса интенсивной терапии были переведены в отделение патологии новорожденных на долечивание.

Акушерский анамнез был отягощён практически у всех женщин. Так, у матерей детей с летальным исходом на 30 % чаще выявлялись нарушения маточно-плацентарного кровотока 2-й и 3-й степени, на 25 % чаще наблюдалась хроническая плацентарная недостаточность и на 10–15 % чаще имелись преэклампсия тяжёлой степени, хориоамнионит и угроза прерывания беременности. У матерей выживших детей в структуре акушерской патологии преобладали нарушения маточно-плацентарного кровотока, и чаще, чем в первой группе, был диагностирован несостоятельный рубец на матке. С одинаковой частотой у матерей недоношенных детей имела место патология плаценты: предлежание и полное приращение, а также низкая плацентация (рис. 1).

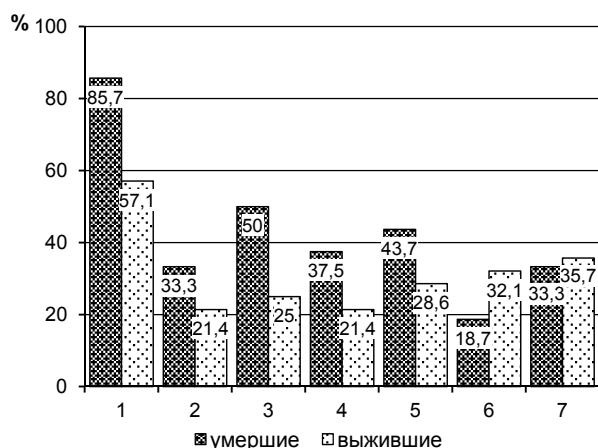


Рис. 1. Структура акушерской патологии: 1 – нарушения маточно-плацентарного кровотока 2-й и 3-й степени; 2 – преэклампсия тяжёлой степени; 3 – хроническая плацентарная недостаточность; 4 – хориоамнионит; 5 – угроза прерывания беременности; 6 – несостоятельный рубец на матке; 7 – патология плаценты.

Fig. 1. Structure of obstetrical pathology: 1 – 2nd and 3rd degree disorders of uteroplacental blood flow; 2 – severe pre-eclampsia; 3 – chronic placental insufficiency; 4 – chorioamnionitis; 5 – threatened miscarriage; 6 – insolvent scar on the uterus; 7 – placenta pathology.

Анализ структуры экстрагенитальной патологии показал, что ожирение 2–4-й степени было выявлено более чем у 40 % матерей всех детей (рис. 2). Отмечено, что у матерей умерших детей, на 10 % чаще диагностировались артериальная гипертензия (АГ) и гестационный сахарный диабет (ГСД), а также острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ) в 1-м и 2-м триместре беременности. Хронические инфекции мочевыделительной системы (МВС) наблюдались с одинаковой частотой (14,2 %). Таким образом, у всех женщин, родивших недоношенных детей с реализованным геморрагическим или ишемическим поражением ЦНС, имела место тяжёлая акушерская и/или соматическая патология.

При сравнительной оценке неврологического статуса у детей наблюдались следующие особенности. У умерших детей с тяжёлой формой ГИЭ (2 ребенка) и ВЖК III–IV степени (12 детей) были выявлены стойкий судорожный синдром, угнетение уровня сознания до комы и дыхательные нарушения, потребовавшие проведения ИВЛ. У выживших детей

при среднетяжёлой форме ГИЭ (6 детей) и наличии ВЖК I–II степени (22 ребенка) были диагностированы синдром угнетения (гипотония мышц, гиподинамия, гипорефлексия, заторможенность, снижение эмоционального тонуса и реакции на болевые раздражения) и вегето-висцеральные расстройства.

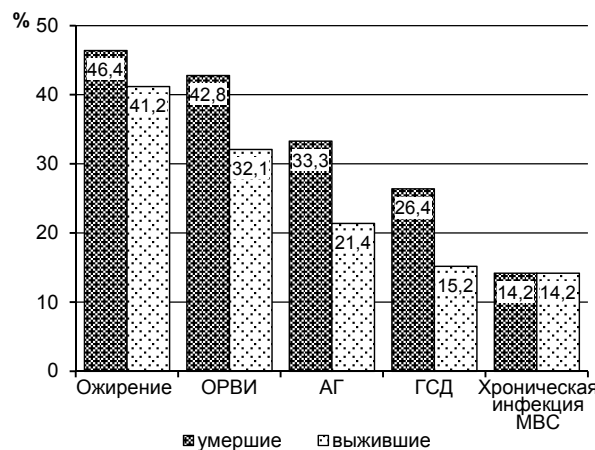


Рис. 2. Структура материнской сопутствующей патологии.

Fig. 2. Structure of concomitant maternal pathology.

В ходе проведения НСГ отмечено, что у 10 (83 %) умерших детей реализация ВЖК наступала на 1–2-е сутки жизни, у 2 (17 %) новорожденных признаки кровоизлияния наблюдались сразу после рождения. Во второй группе во всех случаях ультразвуковые признаки интравентрикулярных кровоизлияний были обнаружены на 3–4-е сутки жизни. Первые признаки ГИЭ в обеих группах визуализировались в течение первой недели жизни и проявлялись в виде зон повышенной эхогенности в проекции наружных углов боковых желудочков.

Патология раннего неонатального периода исследуемых детей, обусловленная в основном нарушением дыхания и развитием гипоксии, а также незрелостью органов и систем недоношенных новорожденных, представлена в таблице 1.

Таблица 1
Структура патологии раннего неонатального периода у умерших и выживших новорожденных

Table 1
Structure of the pathology of the early neonatal period in deceased and surviving newborns

| Нозология | Умершие (n = 14) | Выжившие (n = 28) | p |
|--------------------------|------------------|-------------------|--------|
| РДС | 11 (78,6 %) | 23 (82,1 %) | ≥ 0,05 |
| Пневмония | 2 (14,3 %) | 4 (14,3 %) | ≥ 0,05 |
| ГЗФАП | 7 (50 %) | 6 (21,4 %) | ≤ 0,05 |
| БЛД | 2 (14,3 %) | 6 (21,4 %) | ≥ 0,05 |
| Тяжёлая асфиксия в родах | 4 (28,6 %) | 1 (3,6 %) | ≤ 0,05 |

Частота возникновения респираторного дистресс-синдрома (РДС) и пневмонии у детей была практически одинаковой. Бронхолёгочная дисплазия (БЛД) чаще диагностировалась у выживших детей. Нарушение гемодинамического статуса, проявляющееся как ГЗФАП, наблюдалось у 50 % умерших детей, тогда как у выживших детей данное состояние диагностировано

лишь в 20 % случаев ($p \leq 0,05$). Клинические проявления ГЗФАП у всех детей с ЭНМТ и ОНМТ потребовали проведения искусственной вентиляции лёгких вследствие снижения системного кровотока и повышения кровенаполнения системы лёгочной артерии с развитием венозного полнокровия и нарастанием тяжести дыхательных расстройств. Тяжёлая асфиксия в родах наблюдалась практически у 30 % умерших детей, тогда как у выживших данное состояние имело место лишь в 1 (3,6 %) случае ($p \leq 0,05$). Таким образом, наличие ГЗФАП и тяжёлой асфиксии в родах можно отнести к факторам неблагоприятного прогноза для выживаемости детей с ЭНМТ и ОНМТ при рождении.

Дополнительно проанализированы параметры и длительность респираторной поддержки, инотропная, вазопрессорная и инфузионная терапии.

Более 95 % всех детей нуждались в проведении ИВЛ (табл. 2). Основные различия наблюдались при сравнении следующих параметров респираторной поддержки: процентное содержание кислорода во вдыхаемой смеси (FiO_2); пиковое давление или давление на вдохе (positive inspiratory pressure, PIP); положительное давление в конце выдоха (positive end expiratory pressure, РЕЕР).

Таблица 2
Параметры респираторной поддержки у умерших и выживших новорожденных

Table 2
Parameters of respiratory support in deceased and surviving newborns

| Параметр вентиляции | Умершие (n = 14) | Выжившие (n = 28) | p |
|---------------------------|------------------|-------------------|-------------|
| FiO_2 , % | 76,8 ± 4,9 | 54,6 ± 6,1 | $\leq 0,05$ |
| Частота дыхания (f), мин | 52,3 ± 7,6 | 48,7 ± 8,1 | $\geq 0,05$ |
| PIP, см H ₂ O | 23,8 ± 2,3 | 18,3 ± 2,9 | $\leq 0,05$ |
| РЕЕР, см H ₂ O | 10,1 ± 1,9 | 5,4 ± 1,6 | $\leq 0,05$ |

Выявлено, что пациентам с летальным исходом, потребовалось более высокое FiO_2 , составившее в среднем 76,8 ± 4,9 % в сравнении с 54,6 ± 6,1 % у выживших детей ($p \leq 0,05$). У умерших детей также зарегистрированы более высокие значения PIP (23,8 ± 2,3 см H₂O в сравнении с 18,3 ± 2,9 см H₂O у выживших) и РЕЕР (10,1 ± 1,9 см H₂O и 5,4 ± 1,6 см H₂O соответственно), что обуславливало нестабильность системной гемодинамики за счёт уменьшения сердечного выброса ($p \leq 0,05$).

Вероятно, именно на фоне «агрессивной» респираторной терапии у детей с летальным исходом чаще приходилось использовать высокие дозы дофамина и адреналина, в том числе при оказании первичной реанимационной помощи в родильном зале. Дозы дофамина у погибших и выживших детей составили 10,2 ± 2,8 мкг/кг/мин и 7,1 ± 1,8 мкг/кг/мин соответственно ($p = 0,003$). Среди новорожденных с летальным исходом адреналин применялся в 50 % случаев, в то время как у выживших детей необходимость в использовании адреналина составила 21,4 % ($p \leq 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Частота гипоксических ишемических и геморрагических поражений головного мозга у новорожденных с ЭНМТ и ОНМТ при рождении составила 23,5 %, при этом летальный исход наблюдался у 33 % недоношенных. В структуре летального исхода кровоизлияния встречались в 5 раз чаще ишемии.

Среди акушерской патологии наибольшее значение в развитии неблагоприятного исхода у недоношенных детей с церебральным поражением имеют нарушения маточно-плацентарного кровотока 2–3-й степени.

Тяжёлая асфиксия в родах и ГЗФАП статистически значимо часто коррелируют с летальным исходом у недоношенных детей.

Необходимость применения «агрессивных» параметров ИВЛ и высоких доз кардиотонических препаратов снижает выживаемость недоношенных детей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время эффективная интенсивная терапия и успешное выхаживание детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении являются одними из наиболее сложных медицинских задач, решение которых требует адекватного лекарственного обеспечения и хорошей технической оснащённости лечебно-профилактических учреждений, высокой профессиональной квалификации врачебного и среднего медицинского персонала. Разработка и внедрение единых подходов к лечению и реабилитации недоношенных детей будет способствовать существенному снижению летальности и уменьшению ранней детской инвалидизации.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Баранов А.А., Альбицкий В.Ю., Волгина С.Я., Менделевич В.Д. Недоношенные дети в детстве и отрочестве. Медико-психосоциальное исследование к IX съезду педиатров России. – М., 2001. – С. 184.
Baranov AA, Albitskiy VYu, Volgina SYa, Mendelevich VD. (2001). Premature infants in childhood and adolescence. Health and psychosocial research for IX pediatric congress of Russia [Nedonoshennye deti v detstve i otrochestve. Mediko-psikhosotsial'noe issledovanie k IX sjezdu pediatrov Rossii]. Moskva, 184.
2. Барашнев Ю.И. Перинатальная неврология. – М.: Триада-Х, 2001 – 683 с.
Barashnev YuI. (2001). Perinatal neurology [Perinatal'naya nevrologiya]. Moskva, 683 p.
3. Барашнев Ю.И., Буркова А.С. Организация неврологической помощи новорожденным в перинатальном периоде // Журнал невропатологии и психиатрии. – 1990. – Т. 90, № 8. – С. 3–5.
Barashnev YuI, Burkova AS. (1990). Organization of neurological care for newborns in the perinatal period [Organizatsiya nevrologicheskoy pomoshchi novorozh-

dennym v perinatal'nom periode]. *Zhurnal nevroptologii i psikhiiatriya*, (8), 3-5.

4. Ватолин К.В. Ультразвуковая диагностика заболеваний головного мозга у детей. – М., 1995. – 118 с.

Vatolin KV. (1995). Ultrasound diagnosis of brain pathologies in children [*Ul'trazvukovaya diagnostika zabolevaniy golovnogo mozga u detey*]. Moskva, 118 p.

5. Вейн А.М. Синдром вегетативной дистонии // Заболевания вегетативной нервной системы. – М., 1991. – С. 90–100.

Veyn AM. (1991). Vegetative dystonia syndrome [Синдром вегетативной дистонии]. *Zabolevaniya vegetativnoy nervnoy sistemy*. Moskva, 90-100.

6. Пальчик А.Б. Введение в неврологию развития. – СПб.: КОСТА, 2007. – 368 с.

Palchik AB. (2007). Introduction to developmental neurology [*Vvedenie v nevrologiyu razvitiya*]. Sankt-Peterburg, 368 p.

7. Ancel PY. (2006). Cerebral palsy among very preterm children in relation to the gestation age and neonatal ultrasound abnormalities. *Paediatrics*, 117, 828-835. DOI: 10.1542/peds.2005-0091

8. Back SA, Han BH, Luo NL, Chricton CA, Xanthoudakis S, Tam J, Arvin KL, Holtzman DM. (2002). Selective vulnerability of late oligodendrocyte progenitors to hypoxia-ischemia. *J Neurosci*. 22, 455-463.

9. Back SA, Rivkees SA. (2004). Emerging concept in periventricular white matter injury. *Semin Perinatol*, 28, 405-414. DOI: 10.1053/j.semperi.2004.10.010

10. Badve CA, Khanna PC, Ishak GE. (2012). Neonatal ischemic brain injury: what every radiologist needs to know. *Pediatr Radiol*, 42, 606-619. DOI: 10.1007/s00247-011-2332-8

11. Follett PL, Deng W, Dai W, Talos DM, Massillon LJ, Rosenberg PA, Volpe JJ, Jensen FE. (2004). Glutamate receptor-mediated oligodendrocyte toxicity in periventricular

leukomalacia: a protective role for topiramate. *J Neurosci*, 24, 4412-4420. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0477-04.2004

12. Kirton A, Armstrong-Wells J, Chang T, Deveber G, Rivkin MJ, Hernandez M, Carpenter J, Yager JY, Lynch JK, Ferriero DM. (2011). Symptomatic neonatal arterial ischemic stroke: the International Pediatric Stroke Study. *Pediatrics*. 128, 1402-1410. DOI: 10.1542/peds.2011-1148

13. Kurinczuk JJ, White-Koning M, Badawi N. (2010). Epidemiology of neonatal encephalopathy and hypoxic-ischemic encephalopathy. *Early Hum Dev*, 86, 329-338. DOI: 10.1016/j.earlhumdev.2010.05.010

14. Lai MC, Yang SN. (2011). Perinatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Biomed Biotechnol*, 609-813. DOI: 10.1155/2011/609813

15. McQuillen PS, Ferriero DM. (2004). Selective vulnerability in the developing central nervous system. *Pediatr Neurol*, 30, 227-235. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2003.10.001

16. Perlman JM. (2006). Summary proceedings from the neurology group on hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics*, 117 (3), 28-33. DOI: 10.1542/peds.2005-0620E

17. Trevisanuto D, Doglioni N, Ferrarese F, Bortolus R, Zanardo V. (2006). Neonatal resuscitation of extremely low birth weight infants: a survey of practice in Italy. *Arch Dis Childhood Fetal Neonat Edit*, 91 (3), 123-124. DOI: 10.1136/adc.2005.079772

18. Trounce JQ, Fagan D, Levene MI. (1986). Intraventricular haemorrhage and periventricular leukomalacia: ultrasound and autopsy correlation. *Arch Dis Child*, 61 (12), 1203-1207. DOI: 10.1136/adc.61.12.1203

19. Volpe JJ. (2009). Brain injury in premature infants: a complex amalgam of destructive and developmental disturbances. *Lancet Neurol*, 8, 110-124. DOI: 10.1016/S1474-4422(08)70294-1

20. Volpe JJ. (2008) Neurology of the newborn. Philadelphia, 1094 p.

Сведения об авторах
Information about the authors

Анурьев Алексей Михайлович – врач-ординатор кафедры анестезиологии и реаниматологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100; e-mail: anurev.lesha@mail.ru) ● <https://orcid.org/0000-0002-6724-5067>

Anurev Aleksey Mikhailovich – Resident Physician at the Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (664049, Irkutsk, Yubileyniy, 100; e-mail: anurev.lesha@mail.ru) ● <https://orcid.org/0000-0002-6724-5067>

Лихолетова Наталья Викторовна – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры анестезиологии и реаниматологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (e-mail: likholetova.nat@yandex.ru) ● <https://orcid.org/0000-0001-6131-8184>

Likholetova Natalya Viktorovna – Candidate of Medical Sciences, Teaching Assistant at the Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (e-mail: likholetova.nat@yandex.ru) ● <https://orcid.org/0000-0001-6131-8184>

Горбачева Светлана Михайловна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой скорой медицинской помощи и медицины катастроф, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (e-mail: gorbachevasm@mail.ru)

Gorbacheva Svetlana Mikhailovna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Emergency Medicine, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (e-mail: gorbachevasm@mail.ru)

Павлова Татьяна Ивановна – кандидат медицинских наук, заведующая лечебно-диагностическим центром для новорожденных и детей раннего возраста, ГБУЗ «Иркутская ордена «Знак почёта» областная клиническая больница» (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100)

Pavlova Tatyana Ivanovna – Candidate of Medical Sciences, Head of the Treatment and Diagnostic center for Newborns and Infants, Irkutsk Regional Clinical Hospital (664049, Irkutsk, Yubileyniy, 100)

Павлов Александр Борисович – кандидат медицинских наук, заведующий отделением реанимации для новорожденных, ГБУЗ «Иркутская ордена «Знак почёта» областная клиническая больница» (e-mail: alexander.b.pavlov@gmail.com)

Pavlov Aleksandr Borisovich – Candidate of Medical Sciences, Head of the Neonatal Intensive Care Unit, Irkutsk Regional Clinical Hospital (e-mail: alexander.b.pavlov@gmail.com)

Мартынович Н.Н.¹, Толмачева О.П.², Хышова В.А.¹

Особенности клинической картины и оценка эффективности лечения иммунных тромбоцитопений у детей Иркутской области

¹ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания 1, Россия)

² ГБУЗ «Иркутская орден «Знак почёта» областная клиническая больница» (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

Обоснование. В настоящее время факторы, провоцирующие развитие иммунной тромбоцитопении (ИТП) у детей, малоизучены. Острая тромбоцитопения всё чаще принимает хроническое течение. Отсутствие статистически значимых клинических и лабораторных показателей, позволяющих прогнозировать рецидивы и хронизацию заболевания, отражает актуальность данной работы. Целью данного исследования явилось изучение основных триггерных факторов, принимающих участие в развитии острых и хронических ИТП, а также оценка проведённого лечения.

Методы. Был проведён ретроспективный анализ 433 карт стационарных больных, выбывших из онкологического отделения ГБУЗ ИОДКБ г. Иркутска. Статистическая обработка полученных данных производилась с помощью программы Matlab и статистического пакета «Statistica 6.0».

Результаты. Основным триггерным фактором в развитии ИТП является ОРВИ. Дети с перенесёнными герпес-вирусными инфекциями больше подвержены развитию тромбоцитопении, однако сами вирусы не являются причиной манифестации данного заболевания. Более яркая клиника и критичное падение тромбоцитов до 0×10^9 чаще заканчиваются полным выздоровлением ребёнка, что, возможно, опосредовано применением внутривенного иммуноглобулина для лечения детей в тяжёлом состоянии. Нормализация уровня тромбоцитов в первые 10 дней от начала лечения является хорошим прогностическим признаком. Клиническая ремиссия при отсутствии нормализации уровня тромбоцитов крови в течение двух недель является тревожным знаком. При такой клинко-гематологической картине риск хронизации ИТП увеличивается.

Заключение. Необходимо динамическое наблюдение за детьми, выписанными из стационара после первого криза ИТП только с клинической ремиссией, учитывая, что пациенты находятся в группе риска по развитию хронической тромбоцитопении. У детей, которые получали иммуноглобулины в стационаре, нормализация уровня тромбоцитов происходила быстрее, чем у детей, получавших терапию только гормонами.

Ключевые слова: иммунная тромбоцитопения, хроническая иммунная тромбоцитопения, острая иммунная тромбоцитопения, пурпура

Для цитирования: Мартынович Н.Н., Толмачева О.П., Хышова В.А. Особенности клинической картины и оценка эффективности лечения иммунных тромбоцитопений у детей Иркутской области. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 82-86, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.13.

Causes of Development of Acute and Chronic Thrombocytopenia in Children of Irkutsk Region

Martynovich N.N.¹, Tolmacheva O.P.², Khyshova V.A.¹

¹ Irkutsk State Medical University (ul. Krasnogo Vosstaniya 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

² Irkutsk Regional Clinical Hospital (Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

Background. Immune thrombocytopenia in children is not a rare disease. Currently, this diagnosis is found in 2 times more often than 5-10 years ago. Acute immune thrombocytopenia is increasingly taking on a chronic course. Aims. At present, it is impossible to predict the outcome of the disease. But the chronic course of the disease significantly reduces the quality of life of children and their parents. The purpose of the study is to determine the likely causes of the development and chronicity of the disease. Materials and Methods. A retrospective analysis of 433 case histories of the cancer department of the Regional Children's Hospital in Irkutsk was conducted. Statistical processing of the received data was carried out with the help of the Matlab program and statistical package "Statistica 6.0". Results. The main trigger factor is ARVI and vaccination against poliomyelitis. Sensitization to herpes viruses can be a provoking factor in the development of the disease when re-encountering the virus. The brighter the clinic, the more children receive immunoglobulin treatment and the disease often ends with complete recovery. Children with minimal clinical manifestations are treated with hormones and more often the disease passes into a chronic form. Conclusion. If the child is discharged from the hospital with only a clinical improvement, then there is a greater likelihood of a chronic process.

Key words: Purpura, Thrombocytopenic, Idiopathic

For citation: Martynovich N.N., Tolmacheva O.P., Khyshova V.A. Causes of development of acute and chronic thrombocytopenia in children of Irkutsk region. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 82-86, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.13.

ВВЕДЕНИЕ

Тромбоциты, или кровяные пластинки, представляют собой безъядерные элементы крови, главной функцией которых является обеспечение полноценного гемостаза в кровяном русле организма. Одной из основных аномалий тромбоцитов является их количественная недостаточность. Снижение числа тромбоцитов в крови ниже нормального возрастного диапазона называют тромбоцитопениями (ИТП) [5, 9]. Заболевание считается наиболее распространённой иммунной гемопатией с частотой развития около 16–32 случаев на 1 млн населения в год [6]. Несмотря на кажущуюся внешнюю «лёгкость» заболевания, оно приводит к существенной психологической и социальной дезадаптации пациента со значительным снижением качества его жизни [8]. Кроме этого, при ИТП риск угрожающих жизни кровотечений достаточно высок и составляет 5,0 % [1]. Общий риск летального исхода относительно популяции, хотя в целом и определяется невысоким коэффициентом (1,3), но может достигать и 4,2 при длительно наблюдающемся уровне тромбоцитов менее $30 \times 10^9/\text{л}$ в течение 2 лет после верификации диагноза [11]. До настоящего времени специалисты отмечают неоднородность патогенетических механизмов, лежащих в основе ИТП. Отсутствие достоверных клинических и лабораторных показателей, позволяющих прогнозировать рецидивы и хронизацию заболевания, отражают актуальность данной работы. Острая тромбоцитопения в настоящее время всё чаще принимает хроническое течение у детей [2, 3]. Дети с повторяющимися атаками входят в группу риска по развитию массивных кровотечений и ишемических повреждений внутренних органов, в том числе и головного мозга. Кровоизлияния в головной мозг у детей в настоящее время не являются казуистикой. «Профузные кровотечения» с развитием тяжёлой постгеморрагической анемии представляют опасность для жизни больного, и с возрастом риски развития осложнений только увеличиваются. Важно отметить, что до сих пор отдалённые последствия ИТП малоизучены, но любое оперативное вмешательство у человека, в анамнезе которого имелась тромбоцитопения, имеет большие риски развития осложнений как во время операции, так и в послеоперационном периоде [4, 7]. Педиатры должны понимать, что любой стресс для ребёнка с хронической формой тромбоцитопении может спровоцировать новый криз, а так как ребёнок в дошкольном и школьном возрасте подвергается постоянным стрессам, связанным с учёбой, контактами со сверстниками, переменой места и т.д. (не стоит забывать и о стрессах, связанных с физиологическим ростом и развитием в период полового созревания), то предугадать и, соответственно, предупредить развитие нового криза практически невозможно. В настоящее время нарушения гемостаза приобретают особую актуальность в детской практике, так как легко усугубляются на фоне физиологической нестабильности до конца несформированных систем.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Было проведено ретроспективное исследование. Объектами исследования являлись медицинские

карты стационарного больного (форма 003/у). Был проведён анализ 433 карт стационарных больных, выбывших из онкологического отделения ГБУЗ ИОДКБ г. Иркутска. В исследование были включены все истории болезни с диагнозом «иммунная тромбоцитопения», поступившие в стационар за период с 2010 по 2016 гг. На этапе подготовки эти истории были разделены на две группы: острые и хронические иммунные тромбоцитопении. Статистическая обработка полученных данных производилась с помощью программы Matlab (MathWorks, USA) и статистического пакета «Statistica 6.0» (StatSoft Inc., USA). Проводилось вычисление средних величин и ошибки среднего. Данные, подчиняющиеся законам нормального распределения, были проанализированы на значимость различий с помощью критерия Стьюдента при уровне значимости 95 % ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Перед началом исследования все дети были разделены на две группы: первая группа – острые иммунные тромбоцитопении (ОИТП) (357 историй болезни; 82 %), вторая группа – хронические иммунные тромбоцитопении (ХИТП) (76 историй болезни; 18 %). При исследовании географического состава изучаемой группы больных нами не было выявлено как статистически значимых различий по количественному составу, так и особенностей в течении заболевания у детей сельского и городского населения. Средний возраст детей в обеих исследуемых группах составил $7 \pm 1,25$ года. В группе ОИТП средний возраст составил $5,21 \pm 2,96$ года, в группе ХИТП – $9,45 \pm 3,45$ года. Ранжирование по половому признаку показало, что значимого гендерного разделения в первой группе детей с ОИТП нет: мальчиков – 53 %, девочек – 47 %. Во второй исследуемой группе с ХИТП значительно преобладает количество мальчиков над девочками – 75 % и 25 % соответственно.

При изучении анамнеза *morbi* были выявлены основные триггерные факторы, которые, вероятно, послужили причиной развития первой атаки острой тромбоцитопении.

Таблица 1
Основные триггерные факторы развития тромбоцитопении

Table 1
The main trigger factors of thrombocytopenia

| Фактор | ОИТП | ХИТП |
|-------------------------|------|------|
| ОРВИ | 59 % | 54 % |
| Постпрививочная реакция | 36 % | 28 % |
| Другие причины | 5 % | 18 % |

В группу «другие причины» были отнесены дети, перенёвшие инфекцию мочевых путей или кишечную инфекцию незадолго до первой атаки, а также дети, родители которых не заметили каких-либо изменений со стороны здоровья ребёнка перед возникновением криза (менее 3 %). В большинстве случаев заболевание начиналось после респираторной инфекции или прививки, менее чем за две недели перед кризом. Ведущим триггерным фактором

для развития данного заболевания в обеих группах является ОРВИ, вероятно, как наиболее частое заболевание, регистрируемое в изучаемой возрастной группе. Тромбоцитопения как постпрививочная реакция отмечалась у детей младшего возраста. Чаще такая реакция организма была на вакцину против полиомиелита, что объясняется биологической природой данной вакцины.

При поступлении в стационар всем детям брались анализы на иммуноглобулины к вирусам герпеса: цитомегаловирусу (ЦМВ), вирусу Эпштейна – Барра (ВЭБ) и вирусу простого герпеса I, II типов (ВПГ I, II). Все данные представлены в таблице 2.

Таблица 2
Иммунологический статус к вирусам герпеса у детей с иммунной тромбоцитопенией

Table 2
The immunological status of a herpes virus in children with immune thrombocytopenia

| Вирусы герпеса | | Острые ИТП | Хронические ИТП |
|----------------|------------|------------|-----------------|
| ЦМВ | IgG+, IgM+ | 3 % | 3 % |
| | IgG+, IgM- | 72 % | 80 % |
| | IgG-, IgM- | 20 % | 17 % |
| ВЭБ | IgG+, IgM+ | 0 % | 0 % |
| | IgG+, IgM- | 44 % | 64 % |
| | IgG-, IgM- | 56 % | 36 % |
| ВПГ I, II | IgG+, IgM+ | 12 % | 23 % |
| | IgG+, IgM- | 83 % | 69 % |
| | IgG-, IgM- | 5 % | 8 % |

Из данной таблицы видно, что преобладающее число детей в обеих исследуемых группах в прошлом перенесли ЦМВ и ВПГ инфекции. Можно предположить, что реализации заболевания больше подвержены дети, которые перенесли эти инфекции ранее. Вирус Эпштейна – Барра имеет меньшее диагностическое значение для исследуемой патологии.

На наш взгляд, представляет интерес выраженность клинических симптомов при острой и хронической ИТП. Для статистической значимости исследования у группы хронических больных в расчет брались только данные первой госпитализации.

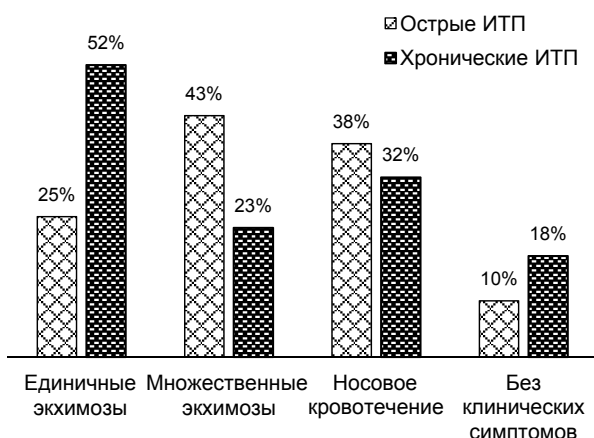


Рис. 1. Выраженность клинических симптомов.
Fig. 1. Severity of clinical symptoms.

Половина из всех больных острой формой имели множественные экхимозы по всему телу, но из группы детей с хронической формой ИТП подобную симптоматику имели лишь четверть детей. Для детей, у которых заболевание приняло затяжную форму, более характерным было наличие единичных экхимозов. Носовые кровотечения наблюдались у каждого третьего в обеих группах исследования. Клиническая картина была ярче выражена у детей с ОИТП. У детей с хронической формой заболевания в преобладающем большинстве случаев наблюдались лишь единичные экхимозы с локализацией на нижних конечностях. В ОАК при поступлении среднее число тромбоцитов у детей с острой формой составило $12 \pm 9,26 \times 10^9$ (от 0×10^9 до 57×10^9), в группе детей с ХИТП – $50 \pm 18,54 \times 10^9$ (от 0×10^9 до 80×10^9). Это подтверждает утверждение о том, что клинически и лабораторно более тяжёлое начало заболевания приводит к полному выздоровлению, а стёртое начало с минимальной клиникой зачастую заканчивается хронизацией данного процесса.

Согласно федеральным клиническим рекомендациям по диагностике и лечению иммунной тромбоцитопенической пурпуры у детей от 2014 г., лечение иммунной тромбоцитопении имеет три варианта: внутривенное введение иммуноглобулинов (ВВИГ); гормональная терапия глюкокортикостероидами (ГКС); симптоматическое лечение.

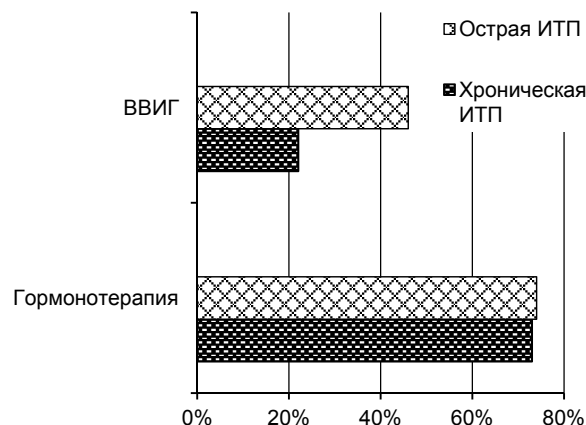


Рис. 2. Лечение иммунной тромбоцитопении.
Fig. 2. Therapy of immune thrombocytopenia.

По современным стандартам лечения вводить иммуноглобулин следует только при риске возникновения угрожающего жизни кровотечения. Учитывая, что клинические симптомы были более ярко выражены у пациентов с ОИТП, то и ВВИГ они получали чаще, чем пациенты из второй группы. Терапия ГКС назначалась примерно с одинаковой частотой. Из представленной диаграммы видно, что большинство детей с острым течением тромбоцитопении получали терапию первой линии иммуноглобулином, что, возможно, и привело к полному излечению.

На фоне проводимой терапии лабораторное повышение тромбоцитов у пациентов с острой формой ИТП было в среднем на $10 \pm 3,52$ день, у пациентов с ХИТП – на $22 \pm 5,23$ день. Среднее количество тромбо-

цитов после лечения составило $247,21 \pm 11,24 \times 10^9$ и $53,18 \pm 7,78 \times 10^9$ соответственно. 88 % детей из второй группы были выписаны из стационара после первого криза с клинической ремиссией и только 12 % – с клинико-гематологической ремиссией. В первой же группе больных ОИТП с клинико-гематологической ремиссией были выписаны 74 % детей и только 26 % – с клинической ремиссией.

ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении исследования были определены основные триггерные факторы, которые провоцируют развитие острой иммунной тромбоцитопении, проведена оценка основных клинических проявлений и ответа ИТП на полученное лечение. По представленным выше данным видно, что переходу острой иммунной тромбоцитопении в хроническую форму больше подвержены мальчики в младшем школьном и школьном возрасте. Заболеванию всегда предшествует напряжение иммунитета за 2–3 недели до первой атаки, наиболее частыми причинами напряжения являются ОРВИ и введение живых вакцин. При анализе иммунологического статуса пациентов видно, что реконвалесценты по ЦМВ и ВПГ I и II типов должны быть отнесены в группу риска по развитию тромбоцитопении. Данные инфекции протекают под маской ОРВИ, и вычислить время от момента заражения до развития тромбоцитопении не представляется возможным. Однако из представленных данных видно, что вирусы герпеса не являются причиной манифестации, количество тромбоцитов падает при повторном напряжении иммунитета. Дети с более яркой клинической и лабораторной картиной чаще получали лечение введением ВВИГ, и, как следствие, заболевание чаще заканчивалось полным выздоровлением. Дети со стёртой клинической картиной и латентной тромбоцитопенией получали как терапию первой линии ГКС, и болезнь принимала хроническое течение. У группы детей с острой иммунной тромбоцитопенией количество тромбоцитов поднималось до нормальных цифр в течение первых двух недель, у второй группы эффект от лечения был виден лишь к концу первого месяца от начала лечения, и количество тромбоцитов поднималось в среднем до 50×10^9 . Семеро из десяти детей с ОИТП были выписаны из стационара со стойкой клинико-лабораторной ремиссией, большинство детей с ХИТП покидали стационар только с клиническим улучшением.

В настоящее время существует множество работ, посвящённых лечению ИТП, и все они подтверждают полученные нами данные о том, что количество тромбоцитов поднимается до нормальных цифр на 10–14-й день при лечении внутривенным иммуноглобулином. ВВИГ – препарат нормального полиспецифического IgG. Механизм его действия основан на подавлении активности антитромбоцитарных антител. Положительный эффект иммуноглобулинов обусловлен блокадой Fc-рецепторов макрофагов, что уменьшает опсонизацию тромбоцитов и предотвращает их разрушение в кровеносном русле. Он также модулирует иммунный ответ путём усиления функции Т-клеток-супрессоров [1]. Это объясняет быстрое повышение

уровня тромбоцитов. Однако иммуноглобулины не применяются как основной препарат для лечения, это экстренная помощь для предотвращения угрожающего жизни кровотечения. На данный момент нет конкретных данных об отсроченных результатах лечения детей только гормонами или комбинацией их с иммуноглобулинами. До настоящего времени нет чётких данных, подтверждающих взаимосвязь лечения ИТП различными методами и переходом заболевания в хроническую форму. Проведённое нами исследование показывает, что определённая связь существует. Но необходимо изучение не только связи лечения и исхода, но и современных методов диагностики и лечения, таких как генотипирование и персонализированная терапия, с учётом полученных результатов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

До настоящего времени нет данных однозначно подтверждающих этиологическую природу развития иммунной тромбоцитопении у детей, как нет и чёткой схемы лечения детей с таким диагнозом. Но увеличение случаев данной патологии среди детского населения ещё раз подтверждает актуальность исследования. Перед врачами всегда стоит цель добиться излечения или хотя бы стойкой ремиссии заболевания у детей, так как переход в хроническую форму в столь раннем возрасте значительно снизит качество жизни как детям, так и их родителям. Необходимо изучение не только связи лечения и исхода, но и современных методов диагностики и лечения, таких как генотипирование и персонализированная терапия, с учётом полученных результатов. Для растущего организма очень важно поддерживать внутреннее постоянство в условиях меняющейся физиологии ребёнка.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Агеевкова Э.В., Петров В.Ю., Донуш Е.К., Сосков Г.И. Эффективность применения внутривенного иммуноглобулина при иммунной тромбоцитопенической пурпуре у детей // Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии: Матер. IX Рос. конгр. – М., 2010. – С. 324.
2. Ageenkova EV, Petrov VYu, Donyush EK, Soskov GI. (2010). The effectiveness of using intravenous immunoglobulin in children with immune thrombocytopenic purpura [Effektivnost' primeneniya vnutrivennogo immunoglobulina pri immunnoy trombocitopenicheskoj purpure u detey]. *Innovatsionnye tekhnologii v pediatrii i detskoy khirurgii: Materialy IX Rossiyskogo kongressa*. Moskva, 324.
3. Баркаган Л.З. Нарушение гемостаза у детей. – М.: Медицина, 1991. – С. 58–111.
4. Barkagan LZ. (1991). Hemostasis disorder in children [*Narusenie gemostaza u detey*]. Moskva, 58-111.
5. Ефремов А.В. Геморрагические диатезы у детей. – М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2002. – 80 с.
6. Efremov AV. (2002). Hemorrhagic diathesis in children [*Gemorragicheskie diatezy u detey*]. Moskva, 80 p.
7. Курдеко И.В., Назарова Р.В., Щербинина Л.Н. Варианты геморрагического синдрома у новорож-

денных // Омский научный вестник. – 2002. – Вып. 19 (Прил.). – С. 24–25.

Kurdeko IV, Nazarova RV, Shcherbinina LN. (2002). Variants of hemorrhagic syndrome in newborns [Varianty gemorragicheskogo sindroma u novorozhdennykh]. *Omskiy nauchnyy vestnik*, (19), 24-25.

5. Мазур Э.М. Тромбоцитопении // Патофизиология крови. – СПб., 2000. – С. 167–172.

Mazur EM. (2000). Thrombocytopenia [Trombotsitopenii]. *Patofiziologiya krovi*. Sankt-Peterburg, 167-172.

6. Масчан А.А., Румянцев А.Г., Ковалева Л.Г. Рекомендации Российского совета экспертов по диагностике и лечению больных первичной иммунной тромбоцитопенией // Онкогематология. – 2010. – № 3. – С. 36–45.

Maschan AA, Rumyantsev AG, Kovaleva LG. (2010). Recommendations of the Russian Expert Council on Diagnosis and Treatment of Patients with Primary Immune Thrombocytopenia [Rekomendatsii Rossiyskogo sojeta ekspertov po diagnostike i lecheniyu bol'nykh pervichnoy immunnoy trombotsitopeniey]. *Onkogematologiya*, (3), 36-45.

7. Шабалов Н.П., Иванов Д.О., Шабалова Н.Н. Гемостаз в динамике первой недели жизни, как отражение механизмов адаптации к внеутробной жизни новорожденного // Педиатрия. – 2000. – № 3. – С. 84–91.

Shabalov NP, Ivanov DO, Shabalova NN. (2000). Hemostasis in the dynamics of the first week of life as a reflection of the mechanisms of adaptation to the extrauterine life of the newborn [Gemostaz v dinamike pervoy nedeli zhizni, kak otrazhenie mekhanizmov adaptatsii k vneutrobnoy zhizni novorozhdennogo]. *Pediatriya*, (3), 84-91.

8. Beck N. (2009). *Diagnostic hematology*. London, 488 p.

9. Busset JB, Buchman GR, Nugen DJ, Gnarra DJ, Bomgaars LR, Blanchette VS, Wang YM, Nie K, Jun S. (2011). A randomized, double – blind study of romiplostin to determine its safety and efficacy i children with immune thrombocytopenia. *Blood*, 118 (1), 28-36. DOI: 10.1182/blood-2010-10-313908

10. Chevuru SC, Sola MC, Theriaque DW, Hutson AD, Leung WC, Perez JA, Nelson RM, Kays DW, Christensen RD; Florida Collaborative Neonatology Research Group. (2002). Multicenter analysis of platelet transfusion usage among neonates on extracorporeal membrane oxygenation. *Pediatrics*, 109 (6), 89.

11. Handin RI, Loscalzo J. (1992). Hemostasis, thrombosis, fibrinolysis and cardiovascular disease. *Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. Philadelphia, 767-1789.

12. Portielje JE, Westendorp RG, Kluin-Nelemans HC, Brand A. (2001). Morbidity and mortality in adults with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood*, 97 (9), 2549-2552.

Информация об авторах Information about the authors

Мартынович Наталья Николаевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой педиатрии № 1, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664022, г. Иркутск б. Гагарина, 4; e-mail: mn-07@bk.ru)

Martynovich Natalia Nikolaevna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Pediatrics N 1, Irkutsk State Medical University (664022, г. Иркутск б. Гагарина, 4; e-mail: mn-07@bk.ru)

Толмачева Ольга Петровна – врач-гематолог отделения онкологии, ГБУЗ «Иркутская ордена «Знак почёта» областная клиническая больница» (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100)

Tolmacheva Olga Petrovna – Hematologist at the Department of Oncology, Irkutsk Regional Clinical Hospital (664049, Irkutsk, Yubileyniy, 100)

Хышова Виктория Александровна – студентка, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: viktoria2102@icloud.com)

Khyshova Viktoria Alexandrovna – Student, Irkutsk State Medical University (e-mail: viktoria2102@icloud.com)

ТРАВМАТОЛОГИЯ TRAUMATOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2018-3.5.14

УДК 616.711-007.17:616.728.2-007.17-071

Кошкарёва З.В., Негреева М.Б.

Маркерные показатели дегенеративно-дистрофических процессов позвоночника, таза и тазобедренных суставов диспластического генеза

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»
(664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции 1, Россия)

Значимость изучаемой проблемы определена высокой частотой встречаемости дисплазии позвоночного столба, таза и тазобедренных суставов, синдромом взаимногоотягощения, многообразием и полиморфностью клинических проявлений, трудностью диагностики и лечения, ростом инвалидности. Целью работы явилось выявление наиболее часто встречающихся диагностических, патогномоничных признаков диспластического синдрома. Для этого выполнен многофакторный анализ результатов исследования 39 больных с сочетанными дегенеративно-дистрофическими заболеваниями позвоночника, таза и тазобедренных суставов диспластического генеза. Больные обследованы по единому алгоритму диагностики, включающему клиничко-неврологическое исследование; обзорную рентгенографию таза; спондилографию, МСКТ, МРТ поясничного и пояснично-крестцового отделов позвоночника; исследование локомоторного акта ходьбы, антропометрические измерения; статистические методы. В результате установлены маркерные признаки сочетанных дегенеративно-дистрофических заболеваний позвоночника и таза, среди которых: болевой синдром – в 100 % случаев; остеохондроз поясничного и пояснично-крестцового отделов позвоночника – у 94,9 % пациентов; дегенеративно-дистрофические процессы позвоночника III–IV степени тяжести – у 74,3 %; двусторонний коксартроз – у 71,8 %; поражения тазобедренных суставов III–IV степени – в 94,9 % случаев; комбинированные контрактуры тазобедренных суставов разной степени тяжести – у 100 %. Среди других рентгенологических симптомов отмечены опущение одной из половин таза у 94,9 % пациентов (при этом количество случаев опущения левой половины таза в два раза превышает количество одноимённых случаев справа – соответственно, 64,1 % и 30,8 % больных); увеличение шейечно-диафизарного угла более 130° – у 74,4 % пациентов; наличие кистозных и склеротических изменений в структуре головок бёдер – у 76,9 %. Основные функциональные нарушения выразились в асимметрии ходьбы, проявляющейся хромотой (87,2 %). Повышенная масса тела и различные степени ожирения определены у 71,8 % больных. Установленные диагностические показатели, дополняя новые знания по исследуемой проблеме, позволят уточнить диагностику и оптимизировать лечение сочетанных дегенеративно-дистрофических заболеваний диспластического генеза.

Ключевые слова: дисплазия позвоночника, таза и тазобедренных суставов, дегенеративно-дистрофические заболевания, диагностика, маркерные показатели

Для цитирования: Кошкарёва З.В., Негреева М.Б. Маркерные показатели дегенеративно-дистрофических процессов позвоночника, таза и тазобедренных суставов диспластического генеза. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 87-92, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.14.

Marker Indicators of Degenerative-dystrophic Processes of the Spine, Pelvis and Hip Joints of Dysplastic Genesis

Koshkareva Z.V., Negreeva M.B.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology
(ul. Bortsov Revolyutsii 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Degenerative and dystrophic diseases of the spine, pelvis and hip joints are considered as a single pathogenetically conditioned process with an interdependent condition. The significance of the problem is determined by the high incidence of spinal and hip dysplasia, the syndrome of mutual burdening, the diversity and polymorphism of clinical manifestations, the growth of disability, the difficulties of diagnosis and treatment. Questions remain about the root cause of the occurrence of combined lesions, their mutual influence. The aim of the work was to identify the most common, diagnostic, pathognomonic signs of dysplastic syndrome. The patients were examined according to a single diagnostic algorithm, including clinical and neurological examination, plain radiograph of the pelvis; spondylography, MSCT, MRI of the lumbar and lumbosacral spine; study of the locomotion act of walking, anthropometric measurements; statistical methods. We analyzed the results of treatment of 39 patients (26 women and 13 men; mean age – 53 years) with dysplastic syndrome including degenerative-dystrophic changes in the spine, pelvis and hip joints. The most common diagnostic signs of combined degenerative-dystrophic diseases of the spine and pelvis have been established, among which pain syndrome, noted in varying degrees in all patients. The established diagnostic indices, supplementing existing knowledge of the problem studied, will allow to specify diagnostics and optimize the treatment of combined degenerative-dystrophic diseases of dysplastic genesis.

Key words: dysplasia of the spine, pelvis and hip joints; degenerative-dystrophic diseases, diagnostics, marker indicators

For citation: Koshkareva Z.V., Negreeva M.B. Marker indicators of degenerative-dystrophic processes of the spine, pelvis and hip joints of dysplastic genesis. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 87-92, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.14.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность настоящего исследования определяется: частотой встречаемости дисплазии опорно-двигательного аппарата, в частности, позвоночного столба, таза и тазобедренных суставов (по данным ряда авторов, эта цифра колеблется от 21,9 до 95 %) [2], тяжестью течения заболевания [14, 19]; многообразием и полиморфностью клинико-неврологических, рентгенологических, функциональных проявлений этой инвалидизирующей патологии [1, 12]; синдромом взаимного отягощения и трудностями диагностики сочетанной диспластической патологии позвоночника, таза и нижних конечностей [3, 13]; сложностью определения программы и алгоритма лечения, преемственностью изучаемой проблемы [4, 8]. За последние годы травматологи, ортопеды и вертебрологи всё чаще обращаются к изучению данной проблемы по вопросам диагностики, оценки функциональных расстройств позвоночника, таза и нижних конечностей, изучения локомоторного акта ходьбы, определения превалирующей патологии, требующей консервативного и хирургического лечения. Остаётся до конца не изученным вопросом – что же первично: развивающаяся патология позвоночника приводит к тяжёлым последствиям в развитии анатомических структур тазового пояса и нижних конечностей или, наоборот, поражение последних приводит к патологическому развитию позвоночника? Возможно, эти события развиваются одновременно. Безусловно, значимость изучения указанной проблемы определяется и несовершенством известных в литературе экспериментальных моделей формирования и развития диспластического процесса в анатомических структурах позвоночника, таза и тазобедренных суставов для раскрытия причин и механизмов патологического развития соединительной, хрящевой и костной тканей в онтогенезе [9]. Понимание этих процессов позволит клиницистам своевременно на ранних стадиях патогенетически обосновать рекомендуемое лечение.

Целью данной работы явилось выявление маркерных клинико-рентгенологических и функциональных нарушений при сочетанной патологии позвоночника, таза и тазобедренных суставов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Больные обследованы в стационаре по единому алгоритму диагностики, включающему в себя: клинико-неврологическое исследование; спондилографию поясничного и пояснично-крестцового отделов позвоночника в прямой и боковых проекциях; функциональную спондилографию поясничного и пояснично-крестцового отдела позвоночника; обзорную рентгенографию таза с захватом верхней трети бёдер; МСКТ позвоночника и области таза с захватом тазобедренных суставов; МРТ поясничного и пояснично-крестцового отделов позвоночника;

антропометрические измерения; исследование локомоторного акта ходьбы.

Для оценки интенсивности боли использовалась шкала ВАШ (см). Нестабильность в позвоночно-двигательных сегментах определялась в мм; движения в тазобедренных суставах измерялись в градусах. Степень хромоты устанавливалась по коэффициенту ритмичности ходьбы (K_p), рассчитываемому по формуле:

$$K_p = \frac{ППЗ}{ППБ},$$

где ППЗ – переносный период шага здоровой (менее поражённой) конечности; ППБ – переносный период шага больной (более поражённой) конечности [7].

Для оценки антропометрических данных использовались индекс массы тела (ИМТ), рассчитываемый следующим образом:

$$ИМТ = \frac{\text{вес в кг}}{\text{рост в м}^2}.$$

Классификация ожирения по ИМТ осуществлялась по критериям ВОЗ (1997). Для сбора, хранения и последующей оценки степени выраженности рентгенологических признаков дисплазии позвоночника, таза и тазобедренных суставов нами разработана карта исследования, фрагмент которой представлен в таблице 4.

В основу анализа взяты 39 пациентов (26 женщин и 13 мужчин) с диспластическим синдромом, включающим в себя дегенеративно-дистрофические изменения позвоночника, таза и тазобедренных суставов. Средний возраст заболевших составил 53 (19; 72) года. Со сроками заболевания от 1 года до 5 лет – 9 человек, от 5 до 15 лет – 18 пациентов, более 15 лет – 12 больных. Степень тяжести развития дегенеративно-дистрофических процессов позвоночника определялась по периодам: II период – 10 человек, III–IV периоды – 29 пациентов [11].

Двусторонний коксартроз выявлен у 28 (71,8 %) больных, а у 11 (28,2 %) обследуемых был односторонний процесс; заболевание тазобедренных суставов II степени тяжести определено в 16 случаях, из них в 12 – слева; патология суставов III степени тяжести выявлена в 17 случаях слева и 11 случаях справа; поражение IV степени тяжести отмечено в 9 случаях, преимущественно справа (8 случаев). Инвалидами были 32 пациента, из них у 19 человек была инвалидность II группы, у 13 больных – III группы.

При анализе клинического материала установлено, что 8 пациентам в раннем детском возрасте производилось открытое вправление врождённого вывиха бедра; во взрослом состоянии 3 больным осуществлена туннелизация головок бёдер, 2 пациентам – вальгизирующая остеотомия бедра для разгрузки рабочих поверхностей головок бёдер. Из 39 обследуемых 31 (79,2 %) пациент во взрослом возрасте неоднократно проходил курсы консервативного вос-

становительного лечения по поводу клинико-неврологических расстройств с патологией позвоночника с удовлетворительным эффектом. От всех обследуемых было получено добровольно информированное согласие на участие в исследовании. Статистический анализ проведён с помощью программы Microsoft Office Excel 2003, полученные результаты представлены в виде медианы, 5-го и 95-го перцентилей.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

При клинико-неврологическом осмотре болевой синдром выявлен у всех 100 % больных. Стойкий болевой синдром отмечен у 21 пациента, проходящий после отдыха – у 18 больных. Интенсивность боли по шкале ВАШ составила от 0 до 5 см – у 13 человек, от 5 см и выше – у 26 обследуемых. Неврологические расстройства разной степени тяжести в двигательной и чувствительной сфере выявлены у 27 (69,2 %) заболевших.

Оценка функции тазобедренных суставов приведена в таблице 1.

Анализируя функцию тазобедренных суставов, следует отметить, что наиболее часто формируются сгибательно-приводящие контрактуры тазобедренных суставов – разной степени тяжести у 31 (79,2 %) больного, у 10 из них отмечены качательные движения в тазобедренных суставах. У всех заболевших выявлены нарушения внутренней и наружной ротации.

Относительное укорочение конечностей выявлено у всех больных, из них у 28 (71,8 %) пациентов укорочение составило до 1 см, у 8 (20,5 %) – 2–3 см, у 3 (7,7 %) – 4 см и более. У всех больных укорочение

конечностей обусловлено сколиотической деформацией, комбинированными контрактурами в тазобедренных суставах, изменением анатомических структур самих тазобедренных суставов и асимметрией таза.

Основные функциональные нарушения выразились в нарушении опороспособности нижних конечностей при двуопорном стоянии и ходьбе (табл. 2). Выявлено снижение статической опороспособности правой конечности ($p < 0,05$).

Хромота оценивалась по коэффициенту ритмичности ходьбы, среднее значение которого составило 0,86 (0,46; 0,99), что соответствовало слабой степени хромоты, характерной для двустороннего заболевания (табл. 3). Асимметрия ходьбы разной степени выявлена у 34 (87,2 %) пациентов, при этом выраженная, сильная и грубая хромота, типичная для преимущественно одностороннего процесса, была у 12 (30,8 %) больных.

Таблица 3
Распределение пациентов по степени хромоты (n = 39)

Table 3
Patient distribution by degree of lameness (n = 39)

| Качественная оценка степени хромоты | Количество пациентов |
|-------------------------------------|----------------------|
| Отсутствует | 5 (12,8 %) |
| Скрытая | 7 (17,9 %) |
| Слабая | 15 (38,7 %) |
| Выраженная | 5 (12,8 %) |
| Сильная | 1 (2,5 %) |
| Грубая | 6 (15,4 %) |

Распределение пациентов по функции тазобедренных суставов (n = 39)

Таблица 1

Distribution of patients by function of the hip joints (n = 39)

Table 1

| Величина в градусах | Функции тазобедренного сустава | | | |
|---------------------|--------------------------------|------------|--------------------|------------------|
| | сгибание | разгибание | внутренняя ротация | наружная ротация |
| 0–5° | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5–10° | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 10–20° | 5 | 5 | 0 | 0 |
| 20–30° | 11 | 11 | 11 | 11 |
| 30–50° | 10 | 10 | 18 | 18 |
| 50–70 | 4 | 4 | 5 | 5 |
| 70–90° | 6 | 6 | 2 | 2 |
| Всего больных | 39 | 39 | 39 | 39 |

Показатели опороспособности нижних конечностей (n = 39)

Таблица 2

Indicators of support ability of lower extremities (n = 39)

Table 2

| Двуопорное стояние (в % от массы тела) | | Продолжительность периодов шага (в % от длительности шага) | | | |
|--|---------------------|--|---------------------|-------------------|---------------------|
| | | Опорный период | | Переносный период | |
| правая | левая | правая | левая | правая | левая |
| 46,2 (33,78; 56,09) | 53,8 (43,91; 66,22) | 69 (64,05; 88,25) | 71,6 (63,14; 89,66) | 31 (11,75; 35,81) | 28,4 (10,34; 36,86) |

Данные исследования функции согласуются с раннее полученными результатами, подтверждающими, что болевой синдром является одной из причин снижения опороспособности при поясничном остеохондрозе: изменения стояния и ходьбы больных проявляются в прямой зависимости от выраженности у них болевого синдрома [10]. Вместе с этим локомоторные нарушения обусловлены и другими клиническими проявлениями заболевания тазобедренных суставов – относительным укорочением конечности и ограничением подвижности в тазобедренных суставах [6, 7].

Оценка телосложения пациентов по ИМТ представлена на рисунке 1. Повышенная масса тела и разная степень ожирения, являющиеся прогностическими признаками остеоартроза [15, 17], выявленные у 71,8 % больных, увеличивают нагрузку на позвоночник и крупные суставы нижних конечностей, составляя негативный фон развития заболевания [5, 16, 18].

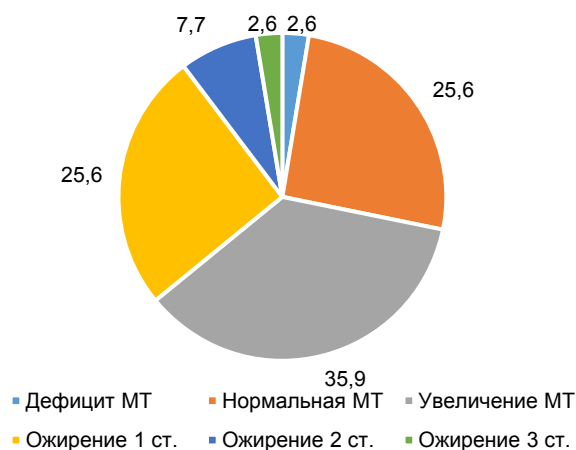


Рис. 1. Распределение пациентов по ИМТ (n = 39).

Fig. 1. Distribution of patients according to BMI (n = 39).

Рентгенологические признаки дисплазии поясничного, пояснично-крестцового отделов позвоночника, таза и тазобедренных суставов представлены в таблице 4.

Дегенеративно-дистрофические заболевания позвоночника, таза и тазобедренных суставов рассматриваются как единый патогенетически обусловленный процесс со взаимозависимым состоянием. При анализе рентгенологических признаков диспластического синдрома отмечена его полисегментарность. Так, у всех пациентов с дегенеративно-дистрофическими процессами позвоночника диспластического генеза в 100 % случаев выявлена патология тазобедренных суставов. Единство и взаимосвязь сочетанной патологии подтверждается наличием у 94,9 % обследуемых асимметрии таза и остеохондроза поясничного и пояснично-крестцового отделов позвоночника. Определены ведущие показатели диспластического процесса, среди которых болевой синдром (100 %); развитие дегенеративно-дистрофических процессов позвоночника III–IV степени тяжести (74,3 %); двусторонний коксартроз (71,8 %) с мелкой суставной впадиной (58,9 %) со смещением головки бедра кнаружи от центральной линии тазобе-

дренного сустава (66,6 %); поражения тазобедренных суставов III–IV степени (94,9 %); комбинированные контрактуры тазобедренных суставов разной степени тяжести (100 %). Среди других диагностических признаков: опущение одной из половин таза – у 94,9 % пациентов (при этом опущение левой половины таза в два раза превышает количество одноименных случаев справа – соответственно, у 64,1 % и 30,8 % больных); расположение головки бедра кнаружи от «линии тазобедренного сустава» – у 66,7 %; увеличение шеечно-диафизарного угла более 130° – у 74,4 %; наличие грубых кистозно-склеротических изменений в структуре головок бедренных костей и ацетабулярных областях с изменением формы головок и суставных впадин – 76,9 %. Основные функциональные нарушения выражались в асимметрии ходьбы, проявляющейся хромотой (87,2 %); повышенная масса тела и разная степень ожирения определена у 71,8 % больных. Установленные диагностические показатели, дополняя известные знания по исследуемой проблеме, позволяют уточнить диагностику и лечение сочетанных дегенеративно-дистрофических заболеваний опорно-двигательной системы диспластического генеза. Регламент написания статьи не позволяет полнее подойти к анализу результатов, что явится предметом следующего исследования.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Вакуленко В.М., Климовицкий В.Г., Бублик Л.А. Особенности диагностики и лечения коксартроза на фоне дистрофических изменений в пояснично-крестцовом отделе позвоночника // Травма. – 2008. – Т. 9, № 2. – С. 84–87.
2. Герцен Г.И., Дыбкалюк С.В., Остапчук Н.П. Лечение дегенеративно-дистрофической патологии позвоночного сегмента при пояснично-тазобедренном синдроме // Літопис травматології та ортопедії. – 2003. – № 1–2. – С. 75–78.
3. Gertsen GI, Dybkalyuk SV, Ostapchuk NP. (2003). Treatment of degenerative-dystrophic pathology of the vertebral segment in the lumbosacral syndrome [Lechenie degenerativno-distroficheskoy patologii pozvonochnogo segmenta pri poyasnichno-tazobedrennom sindrome], *Litopis travmatologii ta ortopedii*, (1-2), 75-78.
3. Денисов А.О., Шильников В.А., Барнс С.А. Коксо-вертебральный синдром и его значение при эндопротезировании тазобедренного сустава (обзор литературы) // Травматология и ортопедия России. – 2012. – № 1 (63). – С. 121–127.
- Denisov AO, Shilnikov VA, Barns SA. (2012). Coxo-vertebral syndrome and its significance in hip replacement surgery (literature review) [Kokso-vertebral'nyy sindrom i ego znachenie pri endoprotezirovanii tazobedrennogo sustava (obzor literatury)], *Travmatologiya i ortopediya Rossii*, 1 (63), 121-127.

Таблица 4

Частота встречаемости рентгенологических изменений поясничного, пояснично-крестцового отделов позвоночника, таза и тазобедренных суставов (n = 39)

Table 4

Frequency of occurrence of X-ray changes in the lumbar, lumbosacral spine, pelvis and hip joints (n = 39)

| Рентгенологические признаки | Количество больных |
|---|--------------------|
| Сагиттальная ориентация крыла подвздошной кости справа | 17 |
| Сагиттальная ориентация крыла подвздошной кости слева | 17 |
| Сагиттальная ориентация нижних сегментов таза справа | 17 |
| Сагиттальная ориентация нижних сегментов таза слева | 9 |
| Разница в нижних углах «трапеции» таза до 3° (асимметрия таза I степени) | 13 (35,14 %) |
| Разница в нижних углах «трапеции» таза от 3° до 7° (асимметрия таза II степени) | 18 (48,65 %) |
| Разница в нижних углах «трапеции» таза > 7° (асимметрия таза III степени) | 6 (16,21 %) |
| Асимметрия таза I–III ст. | 37 (94,87 %) |
| Опущена правая половина таза | 12 |
| Опущена левая половина таза | 25 |
| Количество поясничных позвонков в норме | 32 |
| Количество поясничных позвонков уменьшено | 1 |
| Количество поясничных позвонков увеличено | 6 |
| <i>Spina bifida</i> L ₅ | 2 |
| <i>Spina bifida</i> S ₁ | 3 |
| Остеохондроз в пояснично-крестцовом отделе | 37 (94,9 %) |
| Сколиотическая деформация позвоночника | 17 |
| Спондилолистез L ₅ –S ₁ | 3 |
| Спондилолистез выше уровня L ₅ –S ₁ | 2 |
| «Лестничный» спондилолистез в ПО | 7 |
| Дисплазия обеих суставов | 29 |
| Дисплазия правого сустава | 6 |
| Дисплазия левого сустава | 4 |
| Суставная впадина в норме | 16 |
| Суставная впадина мелкая | 23 |
| Головка бедра расположена кнутри от «линии тазобедренного сустава» | 11 |
| Головка бедра частично расположена кнаружи от «линии тазобедренного сустава» | 26 |
| Головка бедра полностью расположена кнаружи от «линии тазобедренного сустава» | 2 |
| Шеечно-диафизарный угол в норме (125°–130°) | 5 |
| Шеечно-диафизарный угол увеличен (более 130°) | 29 |
| Шеечно-диафизарный угол уменьшен (менее 125°) | 5 |
| Изменена форма головки справа | 11 |
| Изменена форма головки слева | 7 |
| Изменена форма головок с обеих сторон | 18 |
| Снижение внутреннего полюса головки | 14 |
| Сегментация головки | 7 |
| «Грибообразная» форма с наличием экзостозов | 12 |
| Наличие кистозных и склеротических изменений в структуре головки | 30 |

4. Кошкарева З.В., Шендеров В.А., Печенюк В.И., Дмитриева Л.А., Негреева М.Б., Попова В.С., Балагурова Г.Г. Опыт лечения больных коксартрозом в ИТО методом тотального эндопротезирования тазобедренного сустава за 26 лет // Acta biomedica scientifica. – 2002. – Т. 1, № 6. – С. 53–59.

Koshkareva ZV, Shenderov VA, Pechenyuk VI, Dmitrieva LA, Negreeva MB, Popova VS, Balagurova GG. (2002). 26-years experience of treatment of patients with coxarthrosis in Irkutsk Institute of Traumatology and Orthopedics by total hip arthroplasty [Opyt lecheniya bol'nykh koksartrozom v ITO metodom total'nogo endo-

protezirovaniya tazobedrennogo sustava za 26 let], *Acta biomedica scientifica*, 1 (6), 53-59.

5. Леонова С.Н., Гришук А.Н., Камека А.Л. Способ прогнозирования инфекционных осложнений при эндопротезировании крупных суставов: Приоритетная справка. – № 2016117786; 05.05.2016.

Leonova SN, Grishchuk AN, Kameka AL. (2016). Method for predicting infectious complications in endoprosthetics of large joints: certificate of receipt N 2016117786 [Sposob prognozirovaniya infektsionnykh oslozhneniy pri endoprotezirovanii krupnykh sustavov: Prioritetnaya spravka].

6. Негреева М.Б., Шендеров В.А. Объективизация оценки статической опороспособности нижних конечностей у больных двухсторонним коксартрозом при эндопротезировании // *Acta biomedica scientifica*. – 2002. – Т. 2, № 6. – С. 130–132.

Negreeva MB, Shenderov VA. (2002). Objectivization of the assessment of the static ability of the lower limbs in patients with bilateral coxarthrosis [Objektivizatsiya otsenki staticheskoy опороспособности nizhnikh konechnostey u bol'nykh dvukhstoronnim koksartrozom pri endoprotezirovanii]. *Acta biomedica scientifica*, 2 (6), 130-132.

7. Негреева М.Б., Шендеров В.А., Комогорцев И.Е., Горбунов А.В. Биомеханические исследования в диагностике, лечении и реабилитации больных с патологией нижних конечностей, тазового пояса и позвоночника: итоги и перспективы // *Acta biomedica scientifica*. – 2006. – № 4 (50). – С. 201–206.

Negreeva MB, Shenderov VA, Komogortsev IE, Gorbunov AV. (2006). Biomechanical studies in diagnosis, treatment and rehabilitation of patients with pathology of the lower extremities, pelvic girdle and spine: results and perspectives [Biomekhanicheskie issledovaniya v diagnostike, lechenii i reabilitatsii bol'nykh s patologiyey nizhnikh konechnostey, tazovogo poyasa i pozvonochnika: itogi i perspektivy], *Acta biomedica scientifica*, 4 (50), 201-206.

8. Негреева М.Б., Ларионов С.Н., Сороковиков В.А., Шендеров В.А. Биомеханические аспекты исследований дегенеративно-дистрофических заболеваний поясничного отдела позвоночника и тазобедренных суставов (обзор литературы) // *Acta biomedica scientifica*. – 2013. – № 5. – С. 187–191.

Negreeva MB, Larionov SN, Sorokovikov VA, Shenderov VA. (2013). Biomechanical aspects of studies of degenerative-dystrophic diseases of the lumbar spine and hip joints (literature review) [Biomekhanicheskie aspekty issledovaniy degenerativno-distroficheskikh zabolevaniy poyasnichnogo otdela pozvonochnika i tazobedrennykh sustavov (obzor literatury)]. *Acta biomedica scientifica*, (5), 187-191.

9. Переслыцких П.Ф. Моделирование аномалии тазобедренного сустава // *Acta biomedica scientifica*. – 2003. – № 4. – С. 144–146.

Pereslytskikh PF. (2003). Modeling anomalies of the hip joint [Modelirovanie anomalii tazobedrennogo sustava]. *Acta biomedica scientifica*, (4), 144-146.

10. Сороковиков В.А., Негреева М.Б., Горбунов А.В. Биомеханические особенности стояния и ходьбы у пациентов с патологией поясничного отдела по-

звоночника // *Acta biomedica scientifica*. – 2001. – № 5 (19). – С. 172–177.

Sorokovikov VA, Negreeva MB, Gorbunov AV. (2001). Biomechanical features of standing and walking in patients with pathology of the lumbar spine [Biomekhanicheskie osobennosti stoyaniya i khod'by u patsientov s patologiyey poyasnichnogo otdela pozvonochnika]. *Acta biomedica scientifica*, 5 (19), 172-177.

11. Сороковиков В.А., Кошкарёва З.В., Бывальцев В.А., Калинин А.А., Скляренко О.В., Животенко А.П., Потапов В.Э., Горбунов А.В. Алгоритм хирургического лечения стенозирующих процессов позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне // *Acta Biomedica Scientifica*. – 2017. – Т. 2, № 6. – С. 44–51.

Sorokovikov VA, Koshkareva ZV, Byvaltsev VA, Kalinin AA, Sklyarenko OV, Zhivotenko AP, Potapov VE, Gorbunov AV. (2017). Algorithm of surgical treatment of stenosing processes of the vertebral canal and dural sac at the lumbar level [Algoritm khirurgicheskogo lecheniya stenoziruyushchikh protsessov pozvonochnogo kanala i dural'nogo meshka na poyasnichnom urovne]. *Acta Biomedica Scientifica*, 2 (6), 44-51.

12. Сороковиков В.А., Бывальцев В.А., Кошкарёва З.В., Калинин А.А., Белых Е.Г., Дамдинов Б.Б., Скляренко О.В., Шепелев В.В. Способ реконструкции позвоночного канала при компрессионном синдроме: Методические рекомендации по применению новой медицинской технологии. – Иркутск, 2017. – 16 с.

Sorokovikov VA, Byvaltsev VA, Koshkareva ZV, Kalinin AA, Belykh EG, Damdinov BB, Sklyarenko OV, Shepelev VV. (2017). Method of reconstruction of the spinal canal with compression syndrome: Methodological recommendations [Sposob rekonstruktsii pozvonochnogo kanala pri kompressionnom sindrome: Metodicheskie rekomendatsii po primeneniyu novoy meditsinskoj tekhnologii], Irkutsk, 16 p.

13. Хомянец В.В., Кудяшев А.Л., Шаповалов В.М., Мироевский Ф.В. Современные подходы к диагностике сочетанной дегенеративно-дистрофической патологии тазобедренного сустава и позвоночника // *Травматология и ортопедия России*. – 2014. – № 4. – С. 16–25.

Khominets VV, Kudyashev AL, Shapovalov VM, Miroevskiy FV. (2014). Modern approaches to the diagnosis of combined degenerative-dystrophic pathology of hip and spine [Sovremennye podkhody k diagnostike sochetannoy degenerativno-distroficheskoy patologii tazobedrennogo sustava i pozvonochnika]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii*, (4), 16-25.

14. Шаповалов В.М., Аберкиев В.А., Кудяшев А.Л., Артюх В.А., Капилевич Б.Я. Восстановление сагиттального позвоночно-тазового баланса у больного с сочетанным поражением тазобедренных суставов и позвоночника (клиническое наблюдение) // *Гений ортопедии*. – 2011. – № 3. – С. 152–155.

Shapovalov VM, Aberkiev VA, Kudyashev AL, Artyukh VA, Kapilevich BY. (2011). Restoration of sagittal vertebral-pelvic balance in a patient with combined lesion of hip joints and spine (clinical observation) [Vosstanovlenie sagittal'nogo pozvonochno-tazovogo balansa u bol'nogo s sochetannym porazheniem

tazobedrennykh sustavov i pozvonochnika (klinicheskoe nablyudenie)], *Geniy ortopedii*, (3), 152-155.

15. Ackerman IN, Osborne RH. (2012). Obesity and increased burden of hip and knee joint disease in Australia: results from a national survey. *BMC Musculoskelet Disord*, (13), 254. DOI: 10.1186/1471-2474-13-254

16. Lohmander LS, Gerhardsson de Verdier M, Roloff J, Nilsson PM, Engstrom G. (2009). Incidence of severe knee and hip osteoarthritis in relation to different measures of body mass: a population-based prospective cohort study. *Ann Rheum Dis*, 68 (4), 490-496. DOI: 10.1136/ard.2008.089748

17. Singer SP, Dammerer D, Krismer M, Liebensteiner MC. (2018). Maximum lifetime body mass index is the appropriate predictor of knee and hip osteoarthritis. *Arch Orthop Trauma Surg*, 138 (1), 99-103. DOI: 10.1007/s00402-017-2825-5

18. Wong TK, Lee RY. (2004). Effects of low back pain on the relationship between the movements of the lumbar spine and hip. *Hum Mov Sci*, 23 (1), 21-34.

19. Yoshimoto H, Sato S, Masuda T, Kanno T, Shundo M, Hyakumachi T, Yanagibashi Y. (2005). Spinopelvic alignment in patients with osteoarthrosis of the hip: a radiographic comparison to patients with low back pain. *Spine (Phila Pa 1976)*, 30 (14), 1650-1657.

Сведения об авторах
Information about the authors

Кошкарёва Зинаида Васильевна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела нейрохирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции 1; тел. (3952) 29-03-46) ● <http://orcid.org/0000-0002-4387-5048>

Koshkareva Zinaida Vasilyevna – Candidate of Medical Sciences, Leading Research Officer at the Scientific-Clinical Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (664003, Irkutsk, ul. Bortsov Revolyutsii, 1; tel. (3952) 29-03-46) ● <http://orcid.org/0000-0002-4387-5048>

Негреева Марина Борисовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник научно-клинического отдела нейрохирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (e-mail: negreeva@yandex.ru)

Negreeva Marina Borisovna – Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer at the Scientific-Clinical Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (e-mail: negreeva@yandex.ru)

ФАРМАКОЛОГИЯ И ФАРМАЦИЯ PHARMACOLOGY AND PHARMACY

DOI: 10.29413/ABS.2018-3.5.15

УДК 615.015:615.03

Ромодановский Д.П.¹, Горячев Д.В.¹, Хохлов А.Л.², Мирошников А.Е.²

Влияние половых различий на фармакокинетику лекарственных средств в рамках изучения биоэквивалентности воспроизведённых лекарственных препаратов

¹ ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (127051, г. Москва, Петровский бульвар, 8, стр. 2, Россия)

² ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России (150000, Ярославль, ул. Революционная, 5, Россия)

Доказательства влияния пола на фармакокинетику лекарственных препаратов и, соответственно, на клинический ответ существенно накапливаются, т.к. растёт количество клинических исследований ранней разработки оригинальных лекарственных препаратов, в которые включают субъектов женского пола. Также растёт количество исследований биоэквивалентности воспроизведённых лекарственных препаратов с участием обоих полов. Особое значение для биодоступности пероральных лекарств имеют различия анатомии и физиологии пищеварительной системы. Наряду с этим фактором различия могут быть обусловлены формой дозирования воспроизведённого лекарственного препарата, которая может отличаться от таковой у референтного (оригинального). В статье представлен обобщённый анализ работ, посвящённых особенностям фармакокинетики лекарственных средств у мужчин и женщин, который включает данные литературы, опубликованной вплоть до 2017 г. Выделены основные факторы, оказывающие влияние на фармакокинетику лекарств (всасывание, распределение, метаболизм, выведение). Приведены примеры лекарственных препаратов, для которых выявлены различия фармакокинетики у мужчин и женщин. В статье описаны основные международные требования к проведению клинических исследований и исследований биоэквивалентности в отношении выбора пола субъектов, подлежащих включению в клиническое исследование, и их количества. Высказаны предположения о необходимости дополнительного изучения влияния половых различий на результаты биоэквивалентности в рамках проведения соответствующих исследований. Предложен алгоритм оценки выявления половых различий и их влияния на результаты исследований биоэквивалентности воспроизведённых лекарственных препаратов.

Ключевые слова: биоэквивалентность, фармакокинетика, половые различия, воспроизведённые лекарственные препараты, внутрииндивидуальная вариабельность

Для цитирования: Ромодановский Д.П., Горячев Д.В., Хохлов А.Л., Мирошников А.Е. Влияние половых различий на фармакокинетику лекарственных средств в рамках изучения биоэквивалентности воспроизведённых лекарственных препаратов. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 94-105, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.15.

Influence of Sex Differences on Pharmacokinetics of Drugs within the Framework of Bioequivalence Studies of Generic Medicinal Products

Romodanovsky D.P.¹, Goryachev D.V.¹, Khokhlov A.L.², Miroshnikov A.E.²

¹ Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products (Petrovsky bulvar 8 str. 2, Moscow 127051, Russian Federation)

² Yaroslavl State Medical University (ul. Revolyutsionnaya 5, Yaroslavl 150000, Russian Federation)

Background. Evidence of the effect of sex on the pharmacokinetics of drugs and, accordingly, on the clinical response is significantly accumulated, because of a growing number of clinical studies of the early development of original drugs, which include female subjects. The number of bioequivalence studies of replicated drugs involving both sexes is also growing. Of particular importance for the bioavailability of oral medications are differences in the anatomy and physiology of the digestive system. Along with this factor, the differences may be due to the dosage form of the reproduced drug, which may differ from that of the reference (original). The aim of the study was to identify the effect of sex differences on the pharmacokinetics of drugs and to propose an algorithm for assessing their detection. Materials and methods. The article presents a general analysis of the works devoted to the pharmacokinetics of medicines in men and women and includes literature data. Results. The main factors influencing the pharmacokinetics of drugs (absorption, distribution, metabolism, excretion) are identified. Examples of medicinal products for which differences in pharmacokinetics in men and women are revealed are given. The article describes the main international requirements for conducting clinical trials and bioequivalence studies with regard to the choice of gender of subjects and their number

to be included in the clinical study. It is suggested that there is a need to further study of the effect of sex differences on bioequivalence results in carrying out relevant studies. Conclusion. An algorithm for estimating the detection of sex differences and their effect on the results of bioequivalence studies of generic drugs is proposed.

Key words: *bioequivalence, pharmacokinetics, sex differences, reproduced drugs, intra-individual variability*

For citation: Romodanovsky D.P., Goryachev D.V., Khokhlov A.L., Miroshnikov A.E. Influence of sex differences on pharmacokinetics of drugs within the framework of bioequivalence studies of generic medicinal products. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 94-105, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.15.

ВВЕДЕНИЕ

К настоящему времени накоплен большой объём работ, характеризующих наличие выраженных различий в действии лекарственных препаратов у мужчин и женщин. Как правило, они проявляются в отличиях фармакологического ответа (недостаточная эффективность или, наоборот, более высокая токсичность). Данные отличия вызваны прежде всего разницей в фармакокинетике и фармакодинамике лекарственных веществ у мужчин и женщин.

Чтобы установить статистически значимые различия фармакокинетики у мужчин и женщин, могут потребоваться исследования со значительным количеством субъектов, например, в одной работе был проведён симуляционный анализ требуемого количества субъектов для алпрозолама, нифедипина, триазолама, мидазолама. Было показано, что требуется более 100 субъектов для алпрозолама, нифедипина, триазолама и 300 субъектов для мидазолама [14]. Несмотря на это, мы придерживаемся позиции и других авторов в том, что исследования биоэквивалентности могут дать ориентировочную информацию о наличии или отсутствии половых различий у мужчин и женщин при пропорциональном соотношении субъектов мужского и женского пола в исследованиях и при проведении дополнительного статистического анализа результатов исследований.

Учитывая, что в основном исследования биоэквивалентности проводятся с перекрёстным дизайном, и каждый субъект исследования получает исследуемый и референтный препарат (т. е. субъект является по сути «контролем» для самого себя), считается, что любые различия во всасывании, распределении, метаболизме или выведении между субъектами женского и мужского пола не будут иметь значения, потому что если различия между препаратами имеются, они будут выявлены вне зависимости от пола субъекта. Этот принцип основан на предположении об идентичности внутрииндивидуальной вариабельности у мужчин и женщин. Соответственно, до последнего времени считалось, что достаточно включить в исследование субъектов мужского пола и экстраполировать результаты биоэквивалентности на женщин. Однако стали появляться работы, опровергающие данный подход и призывающие к более пристальному изучению данного вопроса в отношении лекарственных средств, назначаемых как мужчинам, так и женщинам [2, 13, 24, 29, 30, 31, 42].

Игнорирование различий, обусловленных полом, у мужчин и женщин с одной стороны может привести к снижению эффективности терапии у одной популяции, а с другой – к повышению риска нежелательных реакций. В случае, если предполагается применение

препарата у мужчин и женщин, в исследование следует включать достаточное количество и мужчин, и женщин для достижения приемлемой мощности исследования [29]. В случае недостаточной мощности и незначительного количества субъектов женского пола, результаты таких исследований биоэквивалентности могут неадекватно отражать экспозицию лекарства у женщин [30].

Цель работы: обобщить данные литературы, посвящённой особенностям фармакокинетики лекарственных средств у мужчин и женщин, в частности, в рамках изучения биоэквивалентности; привести примеры лекарственных препаратов, для которых выявлены фармакокинетические различия; оценить целесообразность необходимости проведения дополнительного анализа результатов исследований биоэквивалентности по выявлению фармакокинетических различий у мужчин и женщин; разработать алгоритм оценки выявления половых различий и их влияния на результаты исследований биоэквивалентности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы следующие методы: литературный поиск; системный анализ источников информации.

Основными объектами нашей работы являются: научные публикации, посвящённые различиям фармакокинетики лекарственных средств у мужчин и женщин; регуляторные документы Администрации по пищевым продуктам и лекарственным средствам (FDA) Соединённых Штатов Америки, Европейского агентства по лекарственным средствам (EMA), Евразийской экономической комиссии (ЕЭК), Российской Федерации, посвящённые вопросам исследований биоэквивалентности и половых различий фармакокинетики лекарственных средств.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В зарубежной литературе встречаются два термина в отношении половой принадлежности – «gender» и «sex» [42]. Под термином «gender» понимается социальная концепция отнесения субъектов к мужскому или женскому полу. В частности, оно характеризует то, как субъект воспринимает сам себя. Под термином «sex» понимается биологическая классификация отнесения субъектов к мужскому и женскому полу, основанная на генетических характеристиках и вторичных половых признаках (репродуктивные органы и их функциональные особенности). В русском языке существует один термин – «пол», который является наиболее правильным и научно обоснованным с позиций клинической фармакологии (например, фармако-

кинетики, фармакодинамики и фармакокинетики) и определяется физиологией и генетикой индивида [2].

Можно выделить следующие основные факторы, обуславливающие наличие различий фармакокинетики лекарственных средств у мужчин и женщин:

- обусловленные анатомо-конституциональными особенностями;
- обусловленные физиологическими особенностями.

Анатомо-конституциональные особенности

В среднем в популяции рост и вес у мужчин выше, чем у женщин (соответственно, 176 см против 163 см, 73 кг против 60 кг). Также у женщин более выражена подкожно-жировая клетчатка (в среднем 18 кг у женщин по сравнению с 14,6 кг у мужчин), в то время как у мужчин более выражена мышечная ткань, за счёт чего у них выше объём распределения (мышечная ткань лучше кровоснабжена, чем жировая) [31]. По данным других авторов, выявлены близкие значения – масса жировой ткани у среднестатистического мужчины составляет 13,5 кг против 16,5 кг у женщин. Указанные различия могут приводить к тому, что при применении лекарственного препарата в одинаковых дозах у женщин будет выше концентрация лекарственного средства и, соответственно, площадь под кривой «концентрация – время» (AUC) [13]. К примеру, за счёт большего содержания жировой ткани и большей белково-связывающей способности объём распределения диазепема у женщин, выше, чем у мужчин [35]. Нивелировать различия фармакокинетики в некоторых случаях возможно при назначении лекарственных препаратов в дозировках с поправкой на различия массы тела. Для клиндамицина была показана более высокая концентрация у женщин при назначении в одинаковой дозировке. После коррекции дозировки на массу тела были показаны эквивалентные концентрации у мужчин и женщин [12].

Отличия фармакокинетики лекарственных препаратов у мужчин и женщин также могут быть вызваны особенностями анатомии желудочно-кишечного тракта, а именно разной длиной кишечника и, соответственно, разной площадью всасывающей поверхности.

В работе G. Hounnou et al. сравнивалась анатомическая длина разных отделов кишечника у мужчин и женщин. Было показано, что общая длина кишечника была выше у мужчин (в среднем у мужчин 836,7 см против 754,2 см у женщин). Средняя длина тонкой кишки составила 670,7 см у мужчин в сравнении с 599,2 см у женщин; длина толстой кишки – соответственно, 166 см и 155 см [21].

Таким образом, за счёт большей всасывающей поверхности у мужчин складываются предпосылки более быстрого и полного всасывания лекарственных средств.

Физиологические особенности Особенности функционирования желудочно-кишечного тракта

Крайне важное значение для фармакокинетики лекарственных веществ имеют физиологические различия желудочно-кишечного тракта. Среди таких

различий в литературе описаны разные значения внутриполостного давления желудка и кишечника, которые характеризуют различную двигательную активность желудочно-кишечного тракта [3].

Определённые особенности можно найти и в работе мышечных волокон, уже начиная с пищевода. Так, известно, что в месте перехода пищевода в желудок находится циркулярный мышечный жом (нижний пищеводный сфинктер), и женщины отличаются более сильным сокращением этого сфинктера [1]. Со стороны желудка у женщин находят обычно более низкий уровень секреции соляной кислоты и более медленное его опорожнение. Такое же более медленное продвижение химуса (подвергнувшегося перевариванию в желудке) и каловых масс сохраняется у женщин и в кишечнике. Кроме того, женщины характеризуются относительно слабым сокращением анального сфинктера [1].

На всасывание лекарственных препаратов оказывает влияние кислотность желудочного сока. Показано, что у мужчин кислотность выше (рН 1,92 против 2,59). В связи с этим у мужчин хуже происходит абсорбция антидепрессантов, т. к. они являются слабыми основаниями [10, 40].

Опорожнение желчного пузыря у женщин происходит медленнее, чем у мужчин, а также имеются различия в составе желчи (которые могут влиять на растворимость лекарств). У мужчин выше содержание холевой кислоты, у женщин – хенодезоксихолевой кислоты [34].

Все вышеприведённые факторы приводят к тому, что у женщин замедляется время транзита лекарства по желудочно-кишечному тракту (у мужчин время короче – 44,8 ч, в сравнении с женщинами – 91,7 ч) [42, 44].

Некоторые отличия обнаружены в активности ферментных систем печени, поджелудочной железы и тонкого кишечника, необходимых для трансформации лекарственных препаратов. Непредсказуемость в работе ферментных систем иногда может привести к недостаточному или, наоборот, чрезмерному действию лекарств. Существенное влияние могут оказать различия пресистемного метаболизма и энтерогепатической рециркуляции у мужчин и женщин [26, 27].

Биодоступность некоторых лекарств может отличаться у мужчин и женщин в зависимости от приёма пищи. Так, для циклоспорина показано снижение биодоступности у женщин и повышение у мужчин при приёме жирной пищи [28].

Показано, что у женщин кровоток в органах пищеварительной системы менее интенсивный, что может приводить к снижению скорости и степени всасывания лекарств [41].

Таким образом, имеется множество предрасполагающих факторов для различий фармакокинетики лекарств у мужчин и женщин.

Примеры половых различий фармакокинетики лекарственных средств

Всасывание и биодоступность

Термин «биодоступность» наиболее часто применяется при описании всасывания лекарственных

веществ. Этот термин определяет относительное количество назначенного препарата в определённой форме дозирования, поступившие в системный кровоток в неизменённом виде, и скорость, с которой происходит этот процесс. В рамках исследований биоэквивалентности биодоступность определяется при сравнении площадей *AUC* исследуемого и референтного препаратов.

Термином «всасывание» (абсорбция) обозначается процесс поступления лекарственного вещества из места введения в кровь. Этот процесс определяется в основном такими факторами, как путь введения, растворимость лекарственного средства в тканях в месте его введения и кровотоков в этих тканях. В данной работе мы говорим о пероральном пути введения, поэтому под всасыванием или абсорбцией имеется в виду прохождение лекарственных веществ через слизистую желудочно-кишечного тракта.

Для многих лекарственных средств уже описаны те или иные отличия биодоступности и всасывания, обусловленные половыми различиями.

В частности, в исследовании биоэквивалентности амлодипина была показана более высокая максимальная концентрация (C_{max}), а также *AUC* у женщин, по сравнению с мужчинами. Точные причины найденных различий обнаружить не удалось, т. к. на выявленные различия могли оказать влияние множество факторов, например, отличия в массе тела у мужчин и женщин, разный объём распределения и другие [5].

Анализ 26 исследований биоэквивалентности, проведённый FDA, продемонстрировал, что в трети исследований у женщин наблюдаются более высокие C_{max} и *AUC* выше больше, чем в половине случаев. Для выявления различий использовали разницу между отношениями геометрических средних исследуемого и референтного препарата у мужчин и женщин; значимой была принята разница, превышающая 20 %. Было выявлено, что значения *AUC* выше у женщин для метсуксимида и спиронолактона, значения C_{max} – для гидрохлотидазида. У мужчин были выявлены большие значения *AUC* для нитроглицерина, и большие значения C_{max} для алпрозолама, циметидина, эритромицина, гемфиброзила, метсуксимида, нитроглицерина [13].

Для аторвастатина¹ показано, что C_{max} у женщин на 20 % выше, чем у мужчин, а *AUC* – на 10 % ниже, хотя данные различия клинически не значимы, т. к. разницы в показателях липидного обмена не обнаружено.

В исследованиях биоэквивалентности эритромицина показано, что имеются значимые различия в отношении геометрических средних исследуемого и референтного препаратов у мужчин и женщин по параметру C_{max} , что говорит о том, что при доказательстве биоэквивалентности воспроизведённого препарата эритромицина в исследовании с участием только мужчин у женщин данный препарат может быть менее эффективен или неэффективен и, соответственно, не взаимозаменяем [13, 29].

Биодоступность некоторых лекарств у мужчин и женщин может значительно различаться в зависимости

от состава вспомогательных веществ препарата. Полиэтиленгликоль увеличивает биодоступность ранитидина у мужчин, в то время как у женщин – снижает её [7].

У мужчин и женщин может отличаться экспрессия транспортных белков, что в свою очередь может приводить к различиям во всасывании лекарств. Так, экспрессия белка Р-гликопротеида (PGP) в энтероцитах у мужчин выше, что приводит к выведению лекарственного средства из энтероцитов обратно в просвет кишечника и, соответственно, к меньшей концентрации в системном кровотоке [15]. PGP в гепатоцитах способствует выведению лекарств в желчь, PGP в клетках почечных канальцев способствует секреции лекарств в мочу. В свою очередь на экспрессию PGP могут оказывать влияние половые гормоны [18]. Соответственно этому лекарственные средства, являющиеся субстратами PGP, будут иметь различия в скорости и степени абсорбции.

Распределение

Абсорбируясь, большинство лекарственных веществ попадают в кровь, а затем проникают в органы и ткани. Их распределение в органах и тканях происходит, как правило, неравномерно. Физиологические параметры, которые могут влиять на распределение лекарств в организме у мужчин и женщин, включают водно-электролитный баланс, объём крови, индекс массы тела, количества жировой ткани и связывающих белков крови (например, альбуминов) [31].

Также важно понимать, что процессы всасывания, метаболизма и экскреции происходят одновременно [2].

Среднее значение общего содержания жидкости, внеклеточной жидкости, внутриклеточной жидкости, объёма крови, объёма плазмы, объёма эритроцитов больше у мужчин [42]. Объём распределения водорастворимых лекарств выше у мужчин, чем у женщин, и наоборот – объём распределения жирорастворимых лекарств выше у женщин. Соответственно этому изменяются значения концентраций лекарств при их приёме в одинаковых дозировках у мужчин и женщин, т. е. чем больше объём распределения, тем ниже концентрации [6, 42].

В настоящее время считается, что масса печени у женщин больше, чем у мужчин, что для некоторых лекарств характеризуется более высокой скоростью элиминации, особенно в случае их небольшого объёма распределения [25]. Хотя имеются и обратные сведения, указывающие на то, что масса ткани печени выше у мужчин (1800 г) чем у женщин (1400 г) [31].

Различия в белково-связывающей функции крови у мужчин и женщин встречаются очень редко [38]. Концентрации альбумина практически не различаются между полами [45]. Эстрогены увеличивают содержание связывающих глобулинов. В литературе описаны следующие различия в связывании с белками крови у мужчин и женщин: связывание тестостерона, диазепамы, варфарина больше у женщин; хлордиазепоксида, диазепамы, имипрамина – у мужчин [42].

Помимо объёма крови и плазмы, на половые различия в фармакокинетике также оказывает значение

¹ Summary of product characteristics atorvastatine. European Medicines Agency.

распределение крови в органах и тканях. У мужчин больше кровенаполнение скелетной мускулатуры, у женщин – жировой ткани, что обусловлено различиями в конституции тела и массе мышечной и жировой ткани [48]. Эти факторы обуславливают разницу в объёме распределения лекарств.

Непостоянный гормональный статус у женщин, связанный с менструальным циклом, также влияет на всасывание, распределение, метаболизм и выведение лекарств [29, 42]. Так, *AUC* ранитидина выше в фолликулярную фазу цикла, чем в лютеиновую [17].

Метаболизм

Метаболизм – это изменение химической структуры лекарственных средств, происходящее в тканях и жидких средах организма. Процессы метаболизма большей частью определяют продолжительность действия, период выведения и токсичность лекарственного вещества.

Считается, что чем лекарство менее подвержено метаболизму в кишечнике и печени, тем его фармакокинетика менее вариабельна, и оно более стабильно по фармакологическому действию [42].

Метаболизм лекарств зависит от общей скорости реакций биотрансформации (реакции I и II фазы), которая выше у мужчин чем у женщин.

Согласно ряду авторов, данные отличия могут быть обусловлены различием метаболизма в жировой (преобладает у женщин) и мышечной ткани (преобладает у мужчин), а также более низким печёночным клиренсом лекарств у женщин, в том числе за счёт сниженных сердечного выброса и печёночного кровотока [42].

Наличие различий метаболизма у мужчин и женщин выявлено для никотина, хлордиазепоксиды, флуразепама, аспирина и гепарина [42].

К настоящему времени известны следующие различия в активности ферментов метаболизма I и II фазы: у женщин более высока активность CYP2D6, CYP3A, у мужчин – CYP1A2, CYP2E1, сульфотрансферазы, метилтрансферазы [43].

В работе Z. Bebia et al. показано, что активность изоферментов CYP2C19, 2D6, 3A4 была эквивалентна у мужчин и женщин и что активность CYP1A2, 2E1 была выше у мужчин [8].

Изучено влияние пола на метаболизм 14 лекарственных средств, являющихся субстратом CYP3A, и показано, что у женщин метаболизм был немного быстрее, что не имело клинической значимости [20].

В других работах также была выявлена более высокая активность CYP3A4 у женщин [39].

Таким образом, разная активность изоферментов цитохрома P-450 у мужчин и женщин может приводить к различиям фармакокинетики лекарств, являющихся субстратами этих изоферментов.

В работе В. Meibohm et al. в качестве примера приводятся различия в метаболизме у мужчин и женщин при приёме верапамила. Показано, что у женщин *AUC* верапамила был больше, чем у мужчин [32].

У женщин в исследованиях мидазолама была выявлена более высокая скорость клиренса, чем у мужчин; наряду с этим у мужчин была выше *AUC*, что было связано с более высокой активностью CYP3A в печени у женщин [23].

То, что у женщин репродуктивного возраста активность CYP3A в печени выше, также находит подтверждение в работе M. Chetty et al. [14].

Оксазепам метаболизируется изоферментом UGT2B5, активность которого у женщин ниже, что приводит к более длительному периоду полувыведения в сравнении с мужчинами [22].

Выведение

Метаболизм и выведение – это два основных механизма инактивации лекарственных средств. Без них лекарства длительное время циркулировали бы в организме человека, взаимодействуя с рецепторами и тем самым воздействуя на различные физиологические или патологические процессы.

Основной орган выведения лекарств у человека – это почки. В зависимости от пола наблюдаются отличия в функции почек: клубочковой фильтрации, канальцевой секреции и реабсорбции. Почечный клиренс, как и печёночный, выше у мужчин [9, 19].

У мужчин и женщин наблюдаются отличия в клиренсе лекарств, обусловленные разницей в кровотоке почек, а также в фильтрационной и секреторной функции почек. Например, многими исследователями была обнаружена более высокая токсичность и частота развития нежелательных явлений при приёме дигоксина у женщин, в сравнении с мужчинами [4, 36], что было связано с более низким клиренсом дигоксина [45]. Также более низкий клиренс у женщин показан для метотрексата, габапентина, прегабалина, перампанела², торасемида, фентанила [2, 29, 47].

Изменения гормонального фона у женщин, связанные с менструальным циклом, также влияют на клиренс кофеина, теофиллина, увеличивая клиренс в фолликулярную фазу [11].

Для золпидема было выявлено, что у женщин снижен клиренс, в сравнении с мужчинами, и, соответственно, наблюдаются более высокие концентрации препарата, что вызывает большую частоту нежелательных явлений [46].

За счёт высокой экспрессии и активности печёночной PGP у мужчин наблюдается ускорение экскреции лекарственных средств – субстратов данного транспортёра (например, дигоксина) [18].

Лекарственные средства циклоспорин, эритромицин, нимодипин, кортизол являются субстратами CYP3A4 и за счёт высокой активности этого изофермента демонстрируют быстрый клиренс у женщин, в сравнении с мужчинами [42].

Риски и нежелательные явления, связанные с половыми различиями

Вышеприведённые половые различия могут вносить вклад в вариабельность фармакокинетики и оказывать влияние на частоту нежелательных реакций, исходы терапии и риски развития осложнений.

По данным ряда авторов, наблюдается определённая связь между высокой частотой развития нежелательных реакций и женским полом [33]. Также наблюдалась разница в частоте сообщений о нежелательных явлениях: у женщин – 56 %, у мужчин – 44 %.

² Summary of product characteristics Fycompa. European Medicines Agency.

Более высокий риск развития острого инфаркта миокарда был выявлен у женщин с сахарным диабетом при терапии пиоглитазоном, в сравнении метформинном, у мужчин подобной тенденции выявлено не было [24].

В ряде работ принадлежность к женскому полу приравнивается к фактору риска развития нежелательных реакций [31, 42].

Причинами высокой частоты нежелательных реакций могут быть фармакокинетические и фармакодинамические особенности у мужчин и женщин, а также полипрагмазия, чаще наблюдаемая у пациентов женского пола [49]. Указано, что женщины в среднем принимают 1,9 препаратов, тогда как мужчины – 1,3.

Описаны случаи влияния женских половых гормонов могут на пути метаболизма лекарств, что может приводить к изменениям концентрации лекарств

и развитию нежелательных реакций. Например, лекарственные препараты, удлиняющие интервал QT, чаще вызывают осложнения у женщин [37]. Кроме того, у женщин в норме интервал QT длиннее, чем у мужчин [2].

R.S. Evans et al. показали 10-летнюю частоту нежелательных явлений в Соединённых Штатах Америки (США): чаще нежелательные явления развивались у пациентов женского пола [16]. У женщин наблюдалась более высокая частота развития нежелательных явлений практически во всех группах лекарств, за исключением противовоспалительных средств.

Таблица 1
Различия фармакокинетики, более выраженные у женщин

Table 1
Differences in pharmacokinetics more expressed in women

| Лекарственное средство | Параметр ФК |
|------------------------|---|
| Амлодипин | Концентрация в крови |
| Аспирин | Клиренс, период полувыведения короче |
| Аторвастатин | Концентрация в крови |
| Варфарин | Связь с белками крови |
| Верапамил, БМКК | Биодоступность и системная экспозиция |
| Гидрохлоротазид | Концентрация в крови |
| Диазепам | Объём распределения |
| Золпидем | Концентрация в крови |
| Имипрамин | Связь с белками плазмы крови |
| Каффеин | Увеличен клиренс (фолликулярная фаза цикла) |
| Клозапин | Концентрация в крови |
| Клиндамицин | Концентрация в крови |
| Метилпреднизолон | Клиренс, период полувыведения короче |
| Мидазолам | Клиренс, период полувыведения короче |
| Мизоластин | Скорость всасывания |
| Оланзапин | Концентрация в крови |
| Оксазепам | Период полувыведения длиннее |
| Ондансетрон | Биодоступность |
| Рифампицин | Степень всасывания |
| Рокуроний | Объём распределения |
| Салицилаты | Скорость всасывания |
| СИОЗС | Концентрация в крови |
| Спиринолактон | Биодоступность и системная экспозиция |
| Теофиллин | Увеличен клиренс (фолликулярная фазу цикла) |
| Тестостерон | Связь с белками крови |

Примечание. М – мужчины; Ж – женщины; ФК – фармакокинетика; СИОЗС – селективные ингибиторы обратного захвата серотонина.

Таблица 2
Различия фармакокинетики, более выраженные у мужчин

Table 2
Differences in pharmacokinetics more expressed in men

| Лекарственное средство | Параметр ФК |
|------------------------|---|
| Алпразолам | Концентрация в крови |
| Атенолол | Низкий объём распределения |
| Аторвастатин | Биодоступность и системная экспозиция |
| Габапентин | Клиренс, период полувыведения короче |
| Гемцитабин | Клиренс, период полувыведения короче |
| Гепарин | Клиренс, период полувыведения короче |
| Диазепам | Связь с белками плазмы крови |
| Дигоксин | Клиренс, период полувыведения короче |
| Золпидем | Клиренс, период полувыведения короче |
| Имипрамин | Связь с белками плазмы крови |
| Мидазолам | Биодоступность и системная экспозиция |
| Метопролол | Клиренс, период полувыведения короче; объём распределения |
| Метотрексат | Клиренс, период полувыведения короче |
| Нитроглицерин | Концентрация в крови, биодоступность и системная экспозиция |
| Офлоксацин | Клиренс, период полувыведения короче |
| Перампанел | Клиренс, период полувыведения короче |
| Прегабалин | Клиренс, период полувыведения короче |
| Преднизолон | Объём распределения |
| Пропранолол | Клиренс, период полувыведения короче |
| Ранитидин | Биодоступность (при наличии в составе полиэтиленгликоля) |
| Торасемид | Клиренс, период полувыведения короче |
| Цефотаксим | Клиренс, период полувыведения короче |
| Циметидин | Концентрация в крови |
| Ципрофлоксацин | Клиренс, период полувыведения короче |
| Фентанил | Клиренс, период полувыведения короче |
| Фторхинолоны | Объём распределения |
| Хлордиазепоксид | Связь с белками крови |
| Эритромицин | Концентрация в крови |
| Этанол | Объём распределения |

Примечание. М – мужчины; Ж – женщины; ФК – фармакокинетика.

В США за период с 1996 по 2000 гг. 8 из 10 лекарственных препаратов были отозваны с рынка³ по причине более высокой частоты развития нежелательных реакций у женщин [29].

В таблицах 1 и 2 приведены примеры выявленных фармакокинетических различий у мужчин и женщин, найденные в проанализированных научных публикациях.

Регуляторные документы

С учётом выявленных половых различий фармакокинетики у мужчин и женщин, которые могут приводить к различному профилю безопасности и эффективности лекарственных средств, следует обратиться к официальным документам и методическим рекомендациям, регулирующим проведение клинических исследований и исследований биоэквивалентности.

Ещё в 1993 г. FDA опубликовало руководство по изучению и оценке половых различий в клинической оценке лекарственных средств (Guideline for Study and Evaluation of Gender Differences in the Clinical Evaluation of Drugs)⁴ относительно необходимости включения субъектов в исследование пропорционально по полу в случае применения препарата у пациентов обоего пола.

В настоящее время руководство FDA по исследованиям биоэквивалентности⁵ рекомендует, что в случае, если препарат предназначен для применения у пациентов обоего пола, в исследование следует включать одинаковое количество мужчин и женщин. Такие же требования содержат проекты обновлённых руководств для новых⁶ и воспроизведённых⁷ лекарственных препаратов.

Руководство EMA⁸ менее категорично в этом вопросе и предлагает просто включать субъектов вне зависимости от пола в случае перекрёстного дизайна исследования. В случае параллельного дизайна необходимо, чтобы группы были сопоставимы по всем переменным, которые могут оказать влияние на фармакокинетику, в том числе и по полу субъектов исследования. Руководство ВОЗ⁹ придерживается более строгой позиции FDA.

Однако несмотря на рекомендации, согласно зарубежным авторам, большинство исследований биоэквивалентности проводят у здоровых добровольцев мужского пола [13, 24, 29].

В Российской Федерации имеются методические рекомендации по изучению биоэквивалентности воспроизведённых лекарственных средств¹⁰ и Национальный стандарт «Исследования биоэквивалентности лекарственных препаратов» (ГОСТ 57679-2017)¹¹. В них говорится, что для исследований с перекрёстным дизайном пол субъектов не имеет значения в случае отсутствия каких-либо рисков, связанных с полом. Для исследований с параллельным дизайном требуется, чтобы группы сравнения были сопоставимы по полу.

В правилах проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза¹² приведены такие же требования.

В работе M. Ibarra et al. [24], а также M.L. Chen et al. [13] показано, что в исследованиях биоэквивалентности с участием субъектов обоего пола можно выявить различия у мужчин и женщин по параметрам C_{max} и AUC . Поэтому существующие в Европейском Союзе, Российской Федерации и Евразийском экономическом союзе рекомендации в отношении исследований биоэквивалентности целесообразно пересмотреть, рекомендовать включение в исследования биоэквивалентности лекарственных препаратов, применяющихся и у мужчин, и у женщин, пропорциональные количества субъектов обоего пола и проводить оценку влияния пола на фармакокинетику лекарственных средств и результаты исследования.

Оценка влияния половых факторов на результаты исследований биоэквивалентности, предпосылки и алгоритм оценки

В работе M.L. Chen et al. провели анализ 26 исследований биоэквивалентности на предмет ретроспективного выявления внутрииндивидуальной вариабельности раздельно у мужчин и женщин. Было выявлено, что внутрисубъектная вариабельность в 10 % случаев у женщин значительно выше, чем у мужчин. Для выявления межполовых различий, обусловленных формой дозирования (sex-by-formulation interactions), авторы сравнили отношения геометрических средних исследуемого и референтного препарата (T/R), рассчитанные для каждого пола. Частота выявления различий составила 13 % для AUC и 35 % для C_{max} . Проведён анализ для выявления фармакокинетических различий между полами путём сравнения популяционных средних референтного препарата, рассчитанных для каждого пола. Была показана 39%-я частота случаев наличия более чем 20 % различий AUC и C_{max} (18 и 19 случаев соответственно) [13].

В работе M. Ibarra et al. был проведён аналогичный ретроспективный анализ 11 исследований биоэквивалентности. В 3 исследованиях CV_{intra} у мужчин была выше, чем у женщин (AUC – лопинавир, ритонавир; C_{max} – циклоsporин (с пищей)), в 6 исследованиях CV_{intra}

³ US Government Accountability Office (GAO), 2010. Washington, DC, 20548. Drug safety: most drugs withdrawn in recent years had greater health risks for women.

⁴ Food and Drug Administration. Study and Evaluation of Gender Differences in the Clinical Evaluation of Drugs, 1993.

⁵ Food and Drug Administration. Guidance for Industry Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products – General Guidance for Industry Bioavailability and Bioequivalence, 2000.

⁶ Food and Drug Administration. Guidance for Industry Bioavailability and Bioequivalence Studies Submitted in NDAs or INDs – General Considerations. Draft Guidance, 2014.

⁷ Food and Drug Administration. Guidance for Industry Bioequivalence Studies with Pharmacokinetic Endpoints for Drugs Submitted Under an ANDA. Draft Guidance, 2013.

⁸ European Medicines Agency. Investigation of bioequivalence Guidance, 2010.

⁹ World Health Organization. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Forty-Ninth Report, 2015.

¹⁰ Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том 1. М.: Гриф и К, 2014. 328 с.

¹¹ Национальный стандарт «Исследования биоэквивалентности лекарственных препаратов» ГОСТ 57679-2017.

¹² Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных средств Евразийского экономического союза, 2017.

была выше у женщин (AUC – эфавиренц, невирапин, кетопрофен; C_{max} – циклоспорин (натошак), невирапин, кетопрофен). Анализ различий, обусловленных формой дозирования, показал, что частота выявления различий составила 9 % для AUC и 27 % для C_{max} . Анализ фармакокинетических различий между полами путём сравнения популяционных средних референтного препарата, рассчитанных для каждого пола, не проводился [24]. Вероятно, это было обусловлено отсутствием необходимости такого анализа с учётом уже имеющихся данных для референтных препаратов. Как правило, референтные препараты являются оригинальными и в своей документации уже содержат сведения по оценке фармакокинетических половых различий.

Поэтому, как было предложено авторами этих исследований, является целесообразным выявление возможных отличий среди воспроизведённых препаратов, т. к. в силу различных причин (разная внутрииндивидуальная вариабельность C_{max} и AUC ; влияние особенностей формы дозирования) они могут демонстрировать различную степень эквивалентности с референтным препаратом у мужчин и женщин.

Таким образом, результаты исследований биоэквивалентности воспроизведённых препаратов можно использовать для выявления и оценки возможных половых различий фармакокинетических параметров AUC и C_{max} . Могут быть определены остаточная вариабельность (внутрииндивидуальная вариабельность) отдельно для мужчин и женщин, различия в зависимости от формы дозирования, а также, при

отсутствии необходимой информации в инструкциях референтных препаратов, популяционные половые различия.

Алгоритм анализа различий, обусловленных влиянием пола и формы дозирования (sex-by-formulation interactions) (рис. 1)

1. Полученные результаты параметров C_{max} и AUC для каждого субъекта всей популяции исследования разделить на значения, полученные у мужчин и у женщин, и распределить их по группам исследуемого и референтного препаратов.

2. Рассчитать геометрические средние параметров C_{max} и AUC у мужчин и женщин для исследуемого и референтного препаратов.

3. Рассчитать отношение геометрических средних исследуемого и референтного препаратов (T/R) у мужчин и у женщин для каждого из фармакокинетических (ФК) параметров.

4. Рассчитать разницу между отношением геометрических средних исследуемого и референтного препаратов (T/R) у мужчин и у женщин для C_{max} и AUC . В случае если разница будет больше и равна 0,2 (20 %), можно предположить наличие межполовых различий, обусловленных формой дозирования, что говорит о том, что референтный и воспроизведённый препараты могут быть невзаимозаменяемы во всей популяции пациентов, включающей субъектов обоого пола.

Алгоритм оценки остаточной вариабельности для каждого пола (рис. 2, 3)

1. Исходные значения оценки C_{max} и AUC у мужчин и женщин для исследуемого и референтного пре-

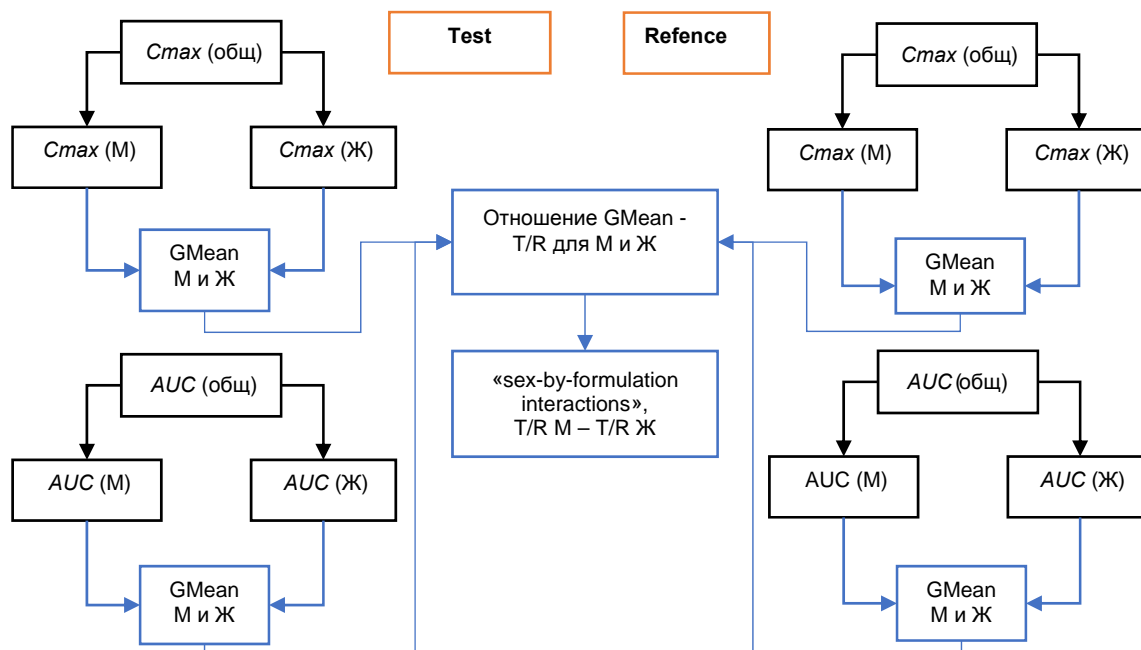


Рис. 1. Схема математической оценки параметров C_{max} и AUC для каждого пола: C_{max} – максимальная концентрация в крови; AUC – площадь под кривой «концентрация – время»; М – мужчины; Ж – женщины; Mean – среднее; GMean – геометрическое среднее; ФК – фармакокинетика; Test – исследуемый препарат; Reference – референтный препарат.

Fig. 1. The scheme of mathematical estimation of parameters C_{max} and AUC for each gender: C_{max} – maximum concentration in blood; AUC – the area under the “concentration – time” curve; М – men; Ж – females; Mean – mean value; GMean – geometric mean; ФК – pharmacokinetics; Test – study medication; Reference – reference medication.

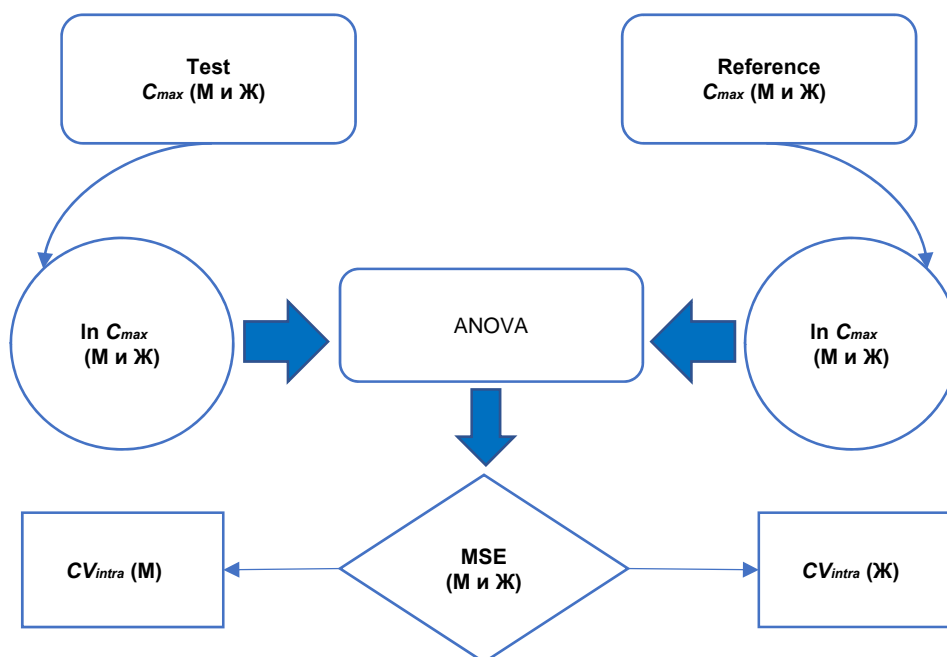


Рис. 2. Схема оценки остаточной вариабельности параметра C_{max} для мужчин и женщин: Test – исследуемый препарат; Reference – референтный препарат; C_{max} – максимальная концентрация в крови; М – мужчины; Ж – женщины; ln – логарифмирование исходных данных для дальнейшего дисперсионного анализа; ANOVA – дисперсионный анализ; MSE – остаточная вариация (среднеквадратичная ошибка); CV_{intra} – коэффициент внутрииндивидуальной вариабельности.

Fig. 2. The scheme for estimating the residual variability of the C_{max} parameter for men and women: Test – study medication; Reference – reference medication; C_{max} – maximum concentration in blood; M – men; Ж – females; ln – logarithmic input of data for further analysis of variance; ANOVA – dispersion analysis; MSE – residual variation (mean square root error); CV_{intra} – intrasubject coefficient of variation.

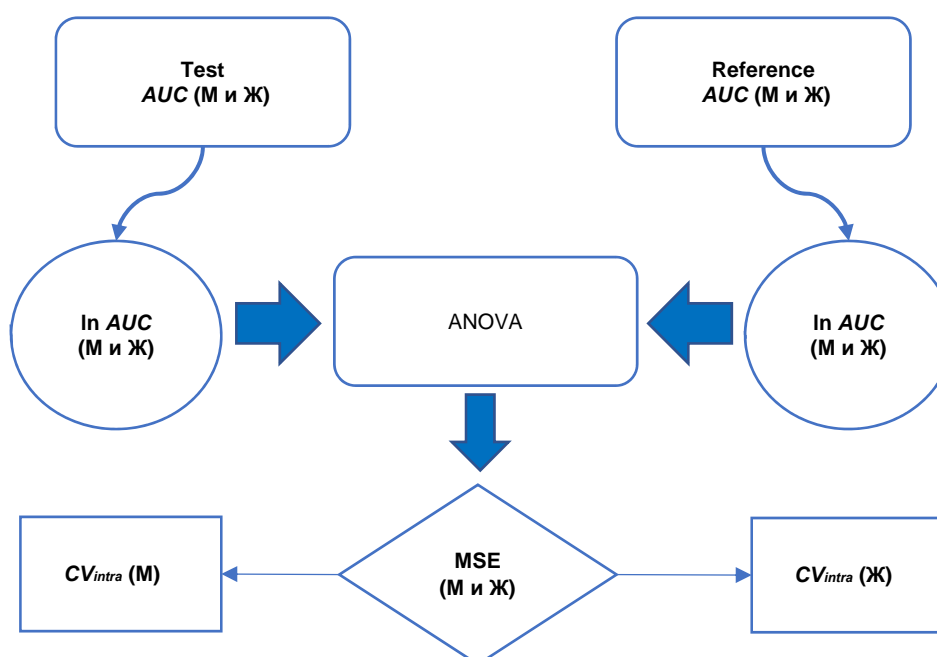


Рис. 3. Схема оценки остаточной вариабельности параметра AUC для мужчин и женщин: Test – исследуемый препарат; Reference – референтный препарат; AUC – площадь под кривой «концентрация-время»; М – мужчины; Ж – женщины; ln – логарифмирование исходных данных для дальнейшего дисперсионного анализа; ANOVA – дисперсионный анализ; MSE – остаточная вариация (среднеквадратичная ошибка); CV_{intra} – коэффициент внутрииндивидуальной вариабельности.

Fig. 3. The scheme of estimation of residual variability of AUC parameter for men and women: Test – study medication; Reference – reference medication; AUC – the area under the “concentration – time” curve; M – men; Ж – females; ln – logarithmic input of data for further analysis of variance; ANOVA – dispersion analysis; MSE – residual variation (mean square root error); CV_{intra} – intrasubject coefficient of variation.

паратов, полученные ранее (см. «Алгоритм анализа популяционных половых различий и различий, обусловленных влиянием пола и формы дозирования»), трансформировать с помощью функции логарифмирования.

2. Логарифмированные значения проанализировать с помощью дисперсионного анализа (Analysis of Variance (ANOVA)). В анализ включить в качестве фиксированных факторов, вносящих вклад в вариацию данных, последовательность, субъект (в последовательности), период, препарат.

3. Полученные значения остаточной вариации MSE (среднеквадратичная ошибка) перевести в коэффициент внутриндивидуальной вариабельности по формуле:

$$CV_{intra} = \sqrt{[exp\ MSE - 1] \times 100}.$$

4. Сравнить полученные значения внутриндивидуальной вариабельности между полами с помощью F-теста (при уровне значимости 0,05).

Расчёт симуляционных 90%-х доверительных интервалов у мужчин и женщин

1. Для логарифмированных значений C_{max} и AUC рассчитать GMean для исследуемого и референтного препаратов у мужчин и женщин.

2. Для каждого из ФК параметров (C_{max} и AUC) рассчитать симуляционные доверительные интервалы согласно следующим уравнениям:

$$L = exp \left(\ln GMeanT - \ln GMeanR - t_{df}^{1-\alpha} \times \left[\sqrt{MSE} \times \sqrt{\frac{2}{n}} \right] \right)$$

$$U = exp \left(\ln GMeanT - \ln GMeanR + t_{df}^{1-\alpha} \times \left[\sqrt{MSE} \times \sqrt{\frac{2}{n}} \right] \right),$$

где: L и U – нижняя и верхняя границы доверительных интервалов; exp – функция экспонирования значения; \ln – функция логарифмирования значения; T – исследуемый препарат; R – референтный препарат; $t_{df}^{1-\alpha}$ – значение квантиля распределения Стьюдента, соответствующее степени свободы ($df = n - 2$) и $\alpha = 0,05$; MSE – остаточная вариация (среднеквадратичная ошибка); n – количество субъектов (для расчётов: количество субъектов масштабировано к исходному значению размера выборки $n = n_m + n_j$).

Прикладное значение для выявления половых различий на данном этапе научной оценки вопроса может иметь оценка внутриндивидуальной вариабельности у мужчин и женщин, а также оценка влияния формы дозирования на половые различия путём сравнения точечных оценок T/R у мужчин и женщин. В случае отсутствия достаточной информации по наличию половых отличий фармакокинетики у референтного препарата (оригинального) возможно проведение ориентировочного популяционного анализа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Половые различия у мужчин и женщин могут оказывать значимое влияние на фармакокинетику лекарственных препаратов, что в рамках исследований биоэквивалентности у субъектов только одного пола может привести к выходу на фармацевтический рынок препаратов, не эквивалентных у популяции

другого пола. Помимо факторов, обусловленных анатомо-физиологическими особенностями мужчин и женщин, данные различия могут быть обусловлены особенностями формой дозирования воспроизведённых лекарств. Т. е., другими словами, воспроизведённый препарат может быть биоэквивалентен референтному у мужчин, но не биоэквивалентен у женщин, например, из-за состава вспомогательных веществ.

Исследования биоэквивалентности следует проводить с включением субъектов мужского и женского пола в пропорциональном соотношении, что следует отразить в регуляторных документах Российской Федерации и Евразийского экономического союза. Включение в дизайн исследования возможности проведения отдельного анализа по полу будет иметь преимущество с точки зрения оценки риска потребителей.

Целесообразно провести научный ретроспективный анализ завершённых исследований биоэквивалентности на предмет выявления половых различий и анализ возможного влияния формы дозирования на эти различия.

При оценке результатов незавершённых и будущих исследований биоэквивалентности следует дополнительно проводить анализ по выявлению половых различий и анализ возможного влияния формы дозирования на эти различия.

Результаты анализа по выявлению соответствующих половых различий дадут полезную информацию, которую в дальнейшем можно будет обобщить и при необходимости включать в инструкции по медицинскому применению.

В целом вопрос выбора методики проведения подобного анализа требует дальнейшего обсуждения, т. к. также возможно включение в оценку дисперсионного анализа таких дополнительных факторов, как пол, вес тела, взаимодействие «пол – препарат», которые могут дать дополнительную информацию.

В качестве примера анализа можно использовать алгоритм, приведённый выше.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

- Колесников Л.Л. Сфинктерный аппарат человека. – СПб.: СпецЛит, 2000. – 183 с.
Kolesnikov LL. (2000). Human sphincters [*Sfinkternyy apparat cheloveka*]. Sankt-Peterburg, 183 p.
- Решетько О.В., Луцевич К.А. Половые различия как платформа для понимания фармакологического статуса женщин // Фармакогенетика и фармакогеномика. – 2015. – № 1. – С. 4–11.
Reshetko OV, Lutsevich KA. (2015). Sex differences as a platform for understanding the pharmacological status of women [Polovye razlichiya kak platforma dlya ponimaniya farmakologicheskogo statusa zhenshchin]. *Farmakogenetika i farmakogenomika*, (1), 4-11.

3. Трухманов А.С., Сторонова О.А., Ивашкин В.Т. Клиническое значение исследования двигательной функции пищеварительной системы: прошлое, настоящее, будущее // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2013. – № 23 (5). – С. 4–14.

Trukhmanov AS, Storonova OA, Ivashkin VT. (2013). Clinical value of motor function of digestive system test: past, present and future [Klinicheskoe znachenie issledovaniya dvigatel'noy funktsii pishchevaritel'noy sistemy: proshloe, nastoyashchee, budushchee]. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*, 23 (5), 4-14.

4. Aarnoudse AL, Dieleman JP, Stricker BH. (2007). Age- and gender-specific incidence of hospitalisation for digoxin intoxication. *Drug Saf*, 30 (5), 431-436.

5. Abad-Santos F, Novalbos J, Gálvez-Múgica MA, Gallego-Sandín S, Almeida S, Vallée F, García AG. (2005). Assessment of sex differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics of amlodipine in a bioequivalence study. *Pharmacol Res*, 51 (5), 445-452.

6. Arthur MJP, Lee A, Wright R. (1984). Sex differences in the metabolism of ethanol and acetaldehyde in normal subjects. *Clin Sci*, 67 (4), 397-401.

7. Ashiru DA, Patel R, Basit AW. (2008). Polyethylene glycol 400 enhances the bioavailability of a BCS class III drug (ranitidine) in male subjects but not females. *Pharm Res*, 25 (10), 2327-2333. DOI: 10.1007/s11095-008-9635-y

8. Bebia Z, Buch SC, Wilson JW, Frye RF, Romkes M, Cecchetti A, Chaves-Gnecco D, Branch RA. Bioequivalence revisited: influence of age and sex on CYP enzymes. *Clin Pharmacol Ther*, 76 (6), 618-627.

9. Berg UB. (2006). Differences in decline in GFR with age between males and females. Reference data on clearances of inulin and PAH in potential kidney donors. *Nephrol Dial Transplant*, 21 (9), 2577-2582.

10. Bigos KL, Pollock BG, Stankevich BA, Bies RR. (2009). Sex differences in the pharmacokinetics and pharmacodynamics of antidepressants: an updated review. *Gender Med*, 6 (4), 522-543. DOI: 10.1016/j.genm.2009.12.004

11. Buchanan FF, Myles PS, Cicuttini F. (2009). Patient sex and its influence on general anaesthesia. *Anaest Int Care*, 37 (2), 207-218.

12. Carmen Carrasco-Portugal M, Lujan M, Flores-Murrieta FJ. (2008). Evaluation of gender in the oral pharmacokinetics of clindamycin in humans. *Biopharm Drug Dispos*, 29 (7), 427-430. DOI: 10.1002/bdd.624

13. Chen ML, Lee SC, Ng MJ, Schuirmann DJ, Lesko LJ, Williams RL. (2000). Pharmacokinetic analysis of bioequivalence trials: implications for sex-related issues in clinical pharmacology and biopharmaceutics. *Clin Pharmacol Ther*, 68 (5), 510-521.

14. Chetty M, Mattison D, Rostami-Hodjegan A. (2012). Sex differences in the clearance of CYP3A4 substrates: exploring possible reasons for the substrate dependency and lack of consensus. *Curr Drug Metab*, 13 (6), 778-786.

15. Englund G, Rorsman F, Ronnblom A, Karlbom U, Lazorova L, Gråsjö J, Kindmark A, Artursson P. (2006). Regional levels of drug transporters along the human intestinal tract: coexpression of ABC and SLC transport-

ers and comparison with Caco-2 cells. *Eur J Pharm Sci*, 29 (3-4), 269-277.

16. Evans RS, Lloyd JF, Stoddard GJ, Nebeker JR, Samore MH. (2005). Risk factors for adverse drug events: a 10-year analysis. *Ann Pharmacother*, 39 (7-8), 1161-1168.

17. Flores Pérez J, Juárez Olguín H, Flores Pérez C, Pérez Guillé G, Guillé Pérez A, Camacho Vieyra A, Toledo López A, Carrasco Portugal M, Lares Asseff I. (2003). Effects of gender and phase of the menstrual cycle on the kinetics of ranitidine in healthy volunteers. *Chronobiol Int*, 20 (3), 485-494.

18. Frohlich M, Albermann N, Sauer A, Walter-Sack I, Haefeli WE, Weiss J. (2004). In vitro and ex vivo evidence for modulation of P-glycoprotein activity by progestins. *Biochem Pharmacol*, 68 (12), 2409-2416.

19. Gaudry SE, Sitar DS, Smyth DD, McKenzie JK, Aoki FY. (1993). Gender and age as factors in the inhibition of renal clearance of amantadine by quinine and quinidine. *Clin Pharmacol Ther*, 54 (1), 23-27.

20. Greenblatt DJ, von Moltke LL. (2008). Gender has a small but statistically significant effect on clearance of CYP3A substrate drugs. *J Clin Pharmacol*, 48 (11), 1350-1355. DOI: 10.1177/0091270008323754

21. Hounnou G, Destrieux C, Desmé J, Bertrand P, Velut S. (2002). Anatomical study of the length of the human intestine. *Surg Radiol Anat*, 24 (5), 290-294.

22. Hu DG, Mackenzie PI. (2009). Estrogen receptor alpha, fos-related antigen-2, and c-Jun coordinately regulate human UDP glucuronosyltransferase 2B15 and 2B17 expression in response to 17beta-estradiol in MCF-7 cells. *Mol Pharmacol*, 76 (2), 425-439. DOI: 10.1124/mol.109.057380

23. Hu ZY, Zhao YS. (2010). Sex-dependent differences in cytochrome P450 3A activity as assessed by midazolam disposition in humans: a meta-analysis. *Drug Metab Dispos*, 38 (5), 817-822. DOI: 10.1124/dmd.109.031328

24. Ibarra M, Vazquez M, Fagiolino P. Sex effect on average bioequivalence. *Clin Ther*, 39, 23-33.

25. Jones AW. (2010). Evidence-based survey of the elimination rates of ethanol from blood with applications in forensic casework. *Forensic Sci Int*, 200 (1-3), 1-20. DOI: 10.1016/j.forsciint.2010.02.021

26. Karim A, Slater M, Bradford D, Schwartz L, Zhao Z, Cao C, Laurent A. (2007). Oral antidiabetic drugs: bioavailability assessment of fixed-dose combination tablets of pioglitazone and metformin. Effect of body weight, gender, and race on systemic exposures of each drug. *J Clin Pharmacol*, 47 (1), 37-47.


27. Karim A, Zhao Z, Slater M, Bradford D, Schuster J, Laurent A. (2007). Replicate study design in bioequivalence assessment, pros and cons: bioavailabilities of the antidiabetic drugs pioglitazone and glimepiride present in a fixed-dose combination formulation. *J Clin Pharmacol*, 47 (7), 806-816.


28. Kees F, Bucher M, Schweda F, Gschaidmeier H, Faerber L, Seifert R. (2007). Neoimmun versus Neoral: a bioequivalence study in healthy volunteers and influence of a fat-rich meal on the bioavailability of Neoimmun. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 375 (6), 393-399.


29. Koren G, Nordeng H, MacLeod S. (2013). Gender differences in drug bioequivalence: time to rethink practices. *Clin Pharmacol Ther*, 93 (3), 260-262. DOI: 10.1038/clpt.2012.233


30. Koren G. (2013). Sex dependent pharmacokinetics and bioequivalence - time for change. *J Popul Ther Clin Pharmacol*, 20 (3), 358361.
31. Mattison DR. (2013). Pharmacokinetics in real life: sex and gender differences. *J Popul Ther Clin Pharmacol*, 20 (3), 340-349.
32. Meibohm B, Beierle I, Derendorf H. (2001). How important are gender differences in pharmacokinetics? *Clin Pharmacokinet*, 41 (5), 329-342.
33. Moore TJ, Cohen MR, Furberg CD. (2009). Serious adverse drug events reported to the Food and Drug Administration, 1998-2005. *Arch Intern Med*, 167 (16), 17521759.
34. Nicolas JM, Espie P, Molimard M. (2009). Gender and interindividual variability in pharmacokinetics. *Drug Metabolism Rev*, 41 (3), 408-421. DOI: 10.1080/10837450902891485
35. Ochs HR, Greenblatt DJ, Divoll M. (1981). Diazepam kinetics in relation to age and sex. *Pharmacology*, 23 (1), 24-30.
36. Rathore SS, Wang Y, Krumholz HM. (2002). Sex-based differences in the effect of digoxin for the treatment of heart failure. *New Engl J Med*, 347 (18), 14031411.
37. Rodriguez I, Kilborn MJ, Liu XK, Pezzullo JC, Woosley RL. (2001). Drug-induced QT prolongation in women during the menstrual cycle. *JAMA*, 285 (10), 1322-1326.
38. Routledge PA, Stargel WW, Kitchell BB, Barchowsky A, Shand DG. (1981). Sex-related differences in the plasma protein binding of lignocaine and diazepam. *Br J Clin Pharmacol*, 11 (3), 245-250.
39. Rubinow DR, Moore M. (2004). Sex-dependent modulation of treatment response. *Dialogues Clin Neurosci*, 6 (1), 39-51.
40. Salena BJ, Hunt RH. (1994). The stomach and duodenum. *First Principles of Gastroenterology: The Basis of Disease and an Approach to Management*, 587 p.
41. Schwartz JB. (2003). The influence of sex on pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet*, 42 (2), 107-121.
42. Soldin OP, Chung SH, Mattison DR. (2011). Sex differences in drug disposition. *J Biomed Biotechnol*, 2011, 187103. DOI: 10.1155/2011/187103
43. Soldin OP, Mattison DR. (2009). Sex differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacokinet*, 48 (3), 143-157. DOI: 10.2165/00003088-200948030-00001
44. Stephen AM, Wiggins HS, Englyst HN. (1986). The effect of age, sex and level of intake of dietary fibre from wheat on large-bowel function in thirty healthy subjects. *Br J Nutr*, 56 (2), 349-361.
45. Succari M, Foglietti MJ, Percheron F. (1990). Microheterogeneity of α -acid glycoprotein: variation during the menstrual cycle in healthy women, and profile in women receiving estrogen-progestogen treatment. *Clinica Chimica Acta*, 187 (3), 235-242.
46. Verster JC, Roth T. (2012). Gender differences in highway driving performance after administration of sleep medication: a review of the literature. *Traffic Inj Prev*, 13 (3), 286-292. DOI: 10.1080/15389588.2011.652751
47. Werner U, Werner D, Heinbuchner S, Graf B, Ince H, Kische S, Thürmann P, König J, Fromm MF, Zolk O. (2010). Gender is an important determinant of the disposition of the loop diuretic torasemide. *J Clin Pharmacol*, 50 (2), 160-168. DOI: 10.1177/0091270009337514
48. Williams LR, Leggett RW. (1998). Reference values for resting blood flow to organs of man. *Clin Physiol Meas*, 10 (3), 187-217.
49. Zhang H, Cui D, Wang B, Han YH, Balimane P, Yang Z, Sinz M, Rodrigues AD. (2007). Pharmacokinetic drug interactions involving 17α -ethinylestradiol: a new look at an old drug. *Clin Pharmacokinet*, 46 (2), 133157.

Сведения об авторах Information about the authors

Ромодановский Дмитрий Павлович – кандидат медицинских наук, главный эксперт управления № 1 по эффективности и безопасности лекарственных средств Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (127051, г. Москва, Петровский бульвар, 8, стр. 2; e-mail: Romodanovsky@expmed.ru)  <https://orcid.org/0000-0002-2980-4518>


Romodanovsky Dmitry Pavlovich – Candidate of Medical Sciences, Chief Expert of Division N 1 on Medicinal Products Efficacy and Safety of the Centre For Evaluation and Control of Finished Medicinal Products, Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products (127051, Moscow, Petrovsky bulvar, 8, str. 2; e-mail: Romodanovsky@expmed.ru)  <https://orcid.org/0000-0002-2980-4518>

Горячев Дмитрий Владимирович – доктор медицинских наук, директор Центра экспертизы и контроля готовых лекарственных средств, ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (e-mail: Gorachev@expmed.ru)  <https://orcid.org/0000-0001-8583-2372>

Goryachev Dmitry Vladimirovich – Doctor of Medical Sciences, Director of the Centre For Evaluation and Control of Finished Medicinal Products, Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products (e-mail: Gorachev@expmed.ru)  <https://orcid.org/0000-0001-8583-2372>

Хохлов Александр Леонидович – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой клинической фармакологии, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России (150000, г. Ярославль, ул. Революционная, 5; e-mail: al460935@yandex.ru)

Khokhlov Alexander Leonidovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of RAS, Head of the Department of Clinical Pharmacology, Yaroslavl State Medical University (150000, Yaroslavl, ul. Revolyutsionnaya, 5; e-mail: al460935@yandex.ru)

Мирошников Алексей Евгеньевич – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры клинической фармакологии, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: ae_miroshnikov@cphinvest.ru)  <https://orcid.org/0000-0001-5060-2403>

Miroshnikov Aleksey Evgenyevich – Candidate of Medical Sciences, Teaching Assistant at the Department of Clinical Pharmacology, Yaroslavl State Medical University (e-mail: ae_miroshnikov@cphinvest.ru)  <https://orcid.org/0000-0001-5060-2403>

Хохлов А.Л.¹, Яичков И.И.^{1,2}, Джурко Ю.А.³, Рыска М.⁴, Кубеш В.⁴, Шитов Л.Н.^{1,3}

Подходы к разработке биоаналитических методик для определения нестабильных соединений в биологических жидкостях

¹ ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России (150000, Ярославль, ул. Революционная, 5, Россия)

² ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского» (150000, г. Ярославль, ул. Республиканская, 108/1, Россия)

³ Биоаналитическая лаборатория «Квинта-Аналитика Ярославль» (150045, г. Ярославль, Ленинградский пр., 52г, Россия)

⁴ Quinta-Analytica s.r.o. (Pražská 1486/18c, 102 00 Praha 15, Czechia)

В статье приведены подходы к разработке биоаналитических методик для определения веществ, содержащих в структуре нестабильные функциональные группы. Процессы окисления и гидролиза являются основными причинами разложения веществ в биологических жидкостях. В качестве примера легкоокисляющихся соединений были выбраны молекулы, содержащие в структуре фенольные гидроксилы, в качестве примера легкоокисляющихся соединений – глюкуроныды лекарственных веществ. Для измерения концентраций микофеноловой кислоты, содержащей в структуре один фенольный гидроксил и в процессе метаболизма образующей глюкуроныды, в плазме крови использовались методы высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим и tandemным масс-спектрометрическим детектированием. Концентрации метилдопы, содержащей в структуре два фенольных гидроксила, в плазме измерялись с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием в диапазоне 0,02–3,00 мкг/мл. Определение деметилированной мебевериновой кислоты, содержащей в структуре один фенольный гидроксил и метаболизирующейся с образованием фенольного глюкуроныда, осуществляли в диапазоне 10–2000 нг/мл совместно с мебевериновой кислотой. В начале разработки методик была изучено влияние фрагментации глюкуроныдов в источнике ионов на количественное определение изучаемых веществ. Затем был произведен выбор антикоагулянта на основании изучения краткосрочной стабильности и стабильности при замораживании/размораживании анализов, а также обратной конверсии их глюкуроновых конъюгатов. Для стабилизации метилдопы была использована комбинация антикоагулянта К₃ЭДТА и раствора антиоксиданта, содержащего смесь аскорбиновой кислоты, натрия сульфита и натрия гидрокарбоната в концентрациях 5,0 %, 0,2 % и 2,4 % соответственно.

Ключевые слова: нестабильность, обратная конверсия, плазма, микофеноловая кислота, метилдопа, деметилированная мебевериновая кислота

Для цитирования: Хохлов А.Л., Яичков И.И., Джурко Ю.А., Рыска М., Кубеш В., Шитов Л.Н. Подходы к разработке биоаналитических методик для определения нестабильных соединений в биологических жидкостях. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 106-115, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.16.

Approaches to the Development of Bioanalytical Methods for Determination of Unstable Substances in Biological Fluids

Khokhlov A.L.¹, Yaichkov I.I.^{1,2}, Dzhurko Yu.A.³, Ryska M.⁴, Kubeš V.⁴, Shitov L.N.^{1,3}

¹ Yaroslavl State Medical University (ul. Revolyutsionnaya 5, Yaroslavl 150000, Russian Federation)

² K.D. Ushinsky Yaroslavl State Pedagogical University (ul. Respublikanskaya 108/1, Yaroslavl 150000, Russian Federation)

³ Quinta-Analytica Yaroslavl LLC (Leningradsky pr. 52g, Yaroslavl 150045, Russian Federation)

⁴ Quinta-Analytica s.r.o. (Pražská 1486/18c, 102 00 Praha 15, Czechia)

The approaches to bioanalytical method development for determination of substances which contain unstable functional groups in the structure are described. The oxidation and the hydrolysis are main causes of the decomposition of substances in biological fluids. Phenolic hydroxyls contain drugs were selected as examples of oxidizable compounds, glucuronides of drugs were selected as examples of hydrolysable compounds. Determination of mycophenolic acid, which contains one phenolic hydroxyl and metabolized by formation of glucuronides, in plasma was performed using high performance liquid chromatography with mass-spectrometry and tandem mass-spectrometry detection. Methylodopa, which contains two phenolic hydroxyls, in stabilized plasma was assayed by high performance liquid chromatography – tandem mass-spectrometry in the range of 0.02–3.00 µg/ml. Concentrations of desmethyl mebeverine acid, which contains in the structure one phenolic hydroxyl and metabolized by formation of phenolic glucuronide, was measured simultaneously with mebeverine acid in the range of 10–2000 ng/ml. The influence of the ion source conversion of glucuronides on the quantitative determination of the substances was studied in the initial part of methods development. The next, selection of anticoagulants based on the study of short-term stability and freeze/thaw stability of the analytes and back conversion of their glucuronides was performed. The combination of anticoagulant K₃EDTA and the antioxidant solution containing a mixture of ascorbic acid, sodium sulfite and sodium hydrogen carbonate in the concentrations of 5.0 %, 0.2 % and 2.4 %, respectively, was used to prevent degradation of methylodopa.

Key words: *instability, back conversion, plasma, mycophenolic acid, methyl dopa, desmethyl mebeverine acid*

For citation: Khokhlov A.L., Yaichkov I.I., Dzhurko Yu.A., Ryska M., Kubeš V., Shitov L.N. Approaches to the development of bioanalytical methods for determination of unstable substances in biological fluids, 3 (5), 106-115, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.16.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из наиболее трудных задач биоаналитических исследований является количественное определение в биологических жидкостях веществ, содержащих в структуре нестабильные функциональные группы. Данной проблеме посвящён ряд статей, в которых приводятся примеры веществ и меры, предпринятые для предотвращения их деградации [6, 10, 16, 23, 24]. Однако в этих работах отсутствует описание процесса разработки методики и последовательности действий при выборе способа для замедления разложения веществ.

Основными причинами нестабильности молекул аналита или его метаболитов являются окисление и гидролиз. Наиболее распространёнными примерами легкоокисляющихся соединений являются лекарственные препараты, содержащие в своей структуре фенольные гидроксилы. Обратная конверсия глюкуронидов лекарственных веществ в исходные соединения является наиболее распространённым примером гидролиза соединений в биологических жидкостях [6, 10, 16, 23, 24]. Стабилизация веществ в биологических пробах достигается путём снижения температуры хранения, подбора антикоагулянта, добавления растворов стабилизаторов [6].

Выявление подходов к разработке методик определения нестабильных соединений в плазме

было выполнено на примере микофеноловой кислоты (МФК), содержащей в структуре один фенольный гидроксил и в процессе метаболизма образующей О-ацилглюкуронид (АГМФК) и фенольный глюкуронид (ФГМФК) [8, 9], деметилированной мебевериновой кислоты (ДМК), также содержащей в структуре один фенольный гидроксил и метаболизирующейся с образованием фенольного глюкуронида (ФГДМК) [22], и метилдопы (МД), содержащей два фенольных гидроксила (рис. 1) [30, 32, 35, 36]. Данные методики разрабатывались для изучения биоэквивалентности (БЭ) лекарственных препаратов данных веществ.

Цель исследования: выявить подходы к разработке методик для определения в плазме веществ, содержащих в структуре нестабильные функциональные группы или образующих нестабильные метаболиты, для проведения биоаналитических исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Определение МФК в плазме методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС) проводилось в диапазоне 0,5–30,0 мкг/мл (табл. 1). Для пробоподготовки был использован метод осаждения белков [5].

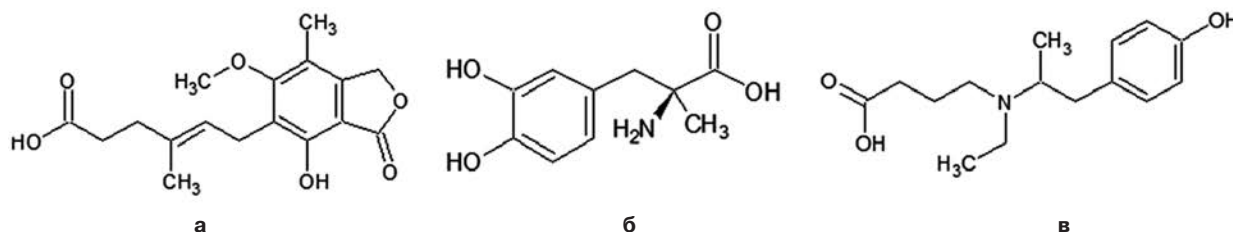


Рис. 1. Структурные формулы микофеноловой кислоты (а), метилдопы (б) и деметилированной мебевериновой кислоты (в).
Fig. 1. Structure of mycophenolic acid (а), methyl dopa (б) and desmethyl mebeverine acid (в).

Параметры ВЭЖХ-МС/МС-определения микофеноловой кислоты в плазме

Таблица 1

Parameters of HPLC-MS/MS determination of mycophenolic acid in plasma

Table 1

| Подготовка проб | Параметры хроматографического разделения | | Параметры масс-спектрометрического детектирования | |
|----------------------------|--|--------------------|---|---|
| | Метод осаждения белков: к аликвоте плазмы 50 мкл плазмы добавляли 450 мкл метанольного раствора МФК-D3, полученную смесь перемешивали на вортексе, затем центрифугировали в течение 10 мин при 3500 об/мин | Колонка | Kinetex C18 (30*4,6 мм, 2,6 мкм) с предколонкой Phenomenex Security guard (C18, 4*3 мм) | Способ ионизации |
| Состав подвижной фазы (ПФ) | | Ацетонитрил : вода | Полярность | Отрицательная |
| Скорость потока | | 0,4 мл/мин | Режим (MRM) | Для МФК: 319 → 191 + 205 m/z. Для МФК-D ₃ : 322 → 191 + 205 m/z |
| Режим элюирования | | Градиентный | | Время анализа |

На начальном этапе разработки данной методики была изучена обратная конверсия фенольного глюкуронида МФК в источнике ионов (рис. 2): выбранные параметры хроматографического процесса позволили разделить анализируемое вещество и ФГМФК.

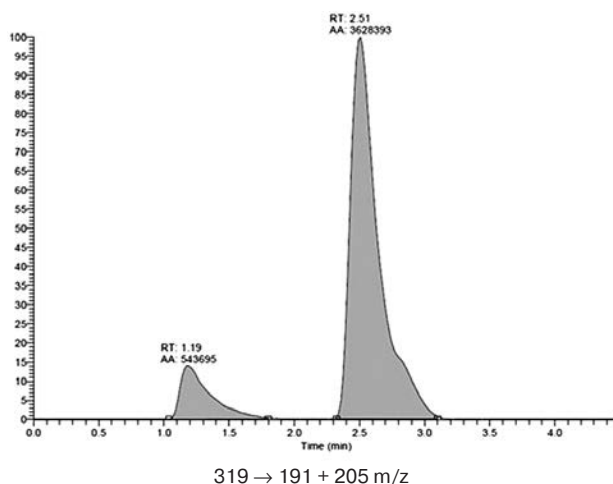


Рис. 2. Хроматограмма смеси МФК ($t_R = 2,51$ мин) и ФГМФК ($t_R = 1,19$ мин), полученная при использовании метода ВЭЖХ-МС/МС.

Fig. 2. Chromatogram of the mixture of mycophenolic acid ($t_R = 2.51$ min) and MPAG ($t_R = 1.19$ min) obtained using HPLC-MS/MS.

ВЭЖХ-МС/МС-методика определения МФК применялась при проведении исследования биоэквивалентности препаратов микофенолата натрия (МФН) в форме таблеток, покрытых оболочкой. Величина максимальной концентрации МФК в плазме (C_{max}) после приёма препарата сравнения составила $12,29 \pm 5,53$ мкг/мл [5]. Таким образом, выбранное значение нижнего предела количественного определения методики (НПКО) находится ниже, чем 5 % от C_{max} и его величины достаточно для изучения биоэквивалентности таблетированных форм МФН. Аналогичное значение НПКО применялось для проведения исследований БЭ [31, 38] и терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ) [11] препаратов МФК. Однако данный уровень чувствительности методики не позволил рассчитать такие фармакокинетические параметры, как константа элиминации, площадь под

фармакокинетической кривой от нулевого значения времени до бесконечности, период полувыведения, среднее время удержания в крови [4].

При определении микофеноловой кислоты с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС) НПКО был снижен до 0,05 мкг/мл, как в большинстве методик определения данного аналита в биологических жидкостях [7, 8, 20, 21]. Это обеспечит возможность детектирования следовых количеств МФК в плазме. Аналитический диапазон составил 0,05–30,00 мкг/мл. Для пробоподготовки была также использована депротенинизация (табл. 2).

При данных параметрах хроматографического процесса было также подтверждено отсутствие влияния фрагментации ФГМФК на точность количественного определения аналита (рис. 3).

Время одного анализа при использовании данной методики составляет 5 мин., что значительно быстрее, чем в методиках [8, 28, 29, 33]. Применение осаждения белков даёт возможность увеличить производительность процесса пробоподготовки в сравнении с [7, 8, 21, 26, 28].

Количественное определение деметилированной мебевериновой кислоты совместно с минорным метаболитом мебеверина – мебевериновой кислотой (МК) – в плазме крови проводили методом ВЭЖХ-МС/МС в диапазоне 10–2000 нг/мл для обоих аналитов (табл. 3) [18].

При разработке данной методики исследовалась обратная конверсия фенольного глюкуронида ДМК в процессе ионизации. При этом фрагментация данного соединения в источнике ионов полностью отсутствовала (рис. 4).

Данная методика была использована для изучения фармакокинетики препарата «Дюспаталин» в форме капсул с пролонгированным высвобождением [18]. Преимуществами этой методики, в сравнении с работами С.А. Khatri et al. [17] и R. Maddela et al. [26], являются более экспрессный способ подготовки проб (осаждение белков без последующего концентрирования) и более короткое время анализа (на 0,5 мин меньше, чем по данным R. Maddela et al. [26]; на 2,5 мин меньше, чем по данным С.А. Khatri et al. [17]). Значение НПКО МК и ДМК, установленное на уровне 10 нг/мл,

Таблица 2

Параметры ВЭЖХ-МС-определения микофеноловой кислоты в плазме

Table 2

Parameters of HPLC-MS determination of mycophenolic acid in plasma

| Подготовка проб | Параметры хроматографического разделения | | Параметры масс-спектрометрического детектирования | |
|----------------------------|---|--|---|------------------|
| | Метод осаждения белков: к 50 мкл плазмы добавляли 200 мкл метанола, перемешивали на вортексе, затем центрифугировали в течение 10 мин при 10000 об./мин | Колонка | Zorbax Eclipse Plus C18 (100*4,6 мм, 3,5 мкм) | Способ ионизации |
| Состав подвижной фазы (ПФ) | | Ацетонитрил : вода : 0,1%-й раствор муравьиной кислоты | Полярность | Отрицательная |
| Скорость потока | | 0,6 мл/мин | Режим (SIM) | Для МФК: 319 m/z |
| Режим элюирования | | Изократический | Время анализа | 5,0 мин |

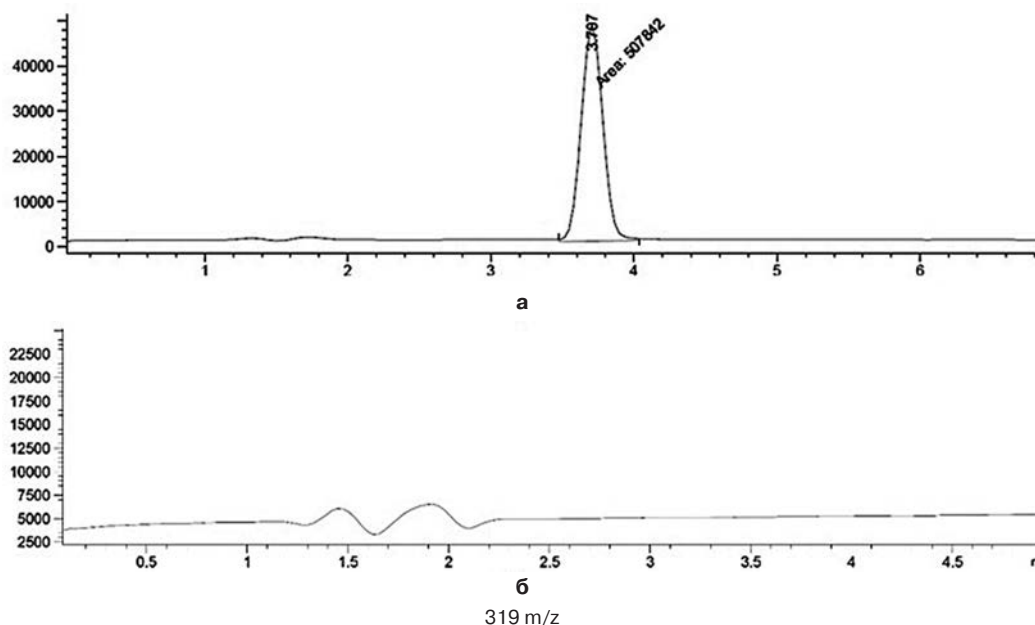
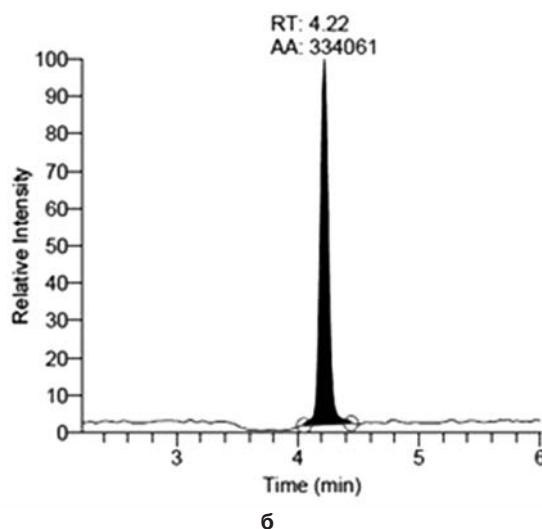
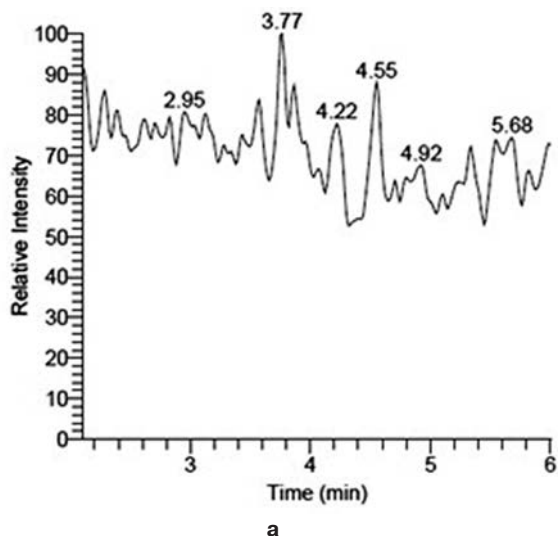


Рис. 3. Хроматограммы растворов микофеноловой кислоты (а) и фенольного глюкуронида микофеноловой кислоты (б), полученные при использовании метода ВЭЖХ-МС.
Fig. 3. Chromatograms of solutions of mycophenolic acid (a) and phenolic glucuronide of mycophenolic acid (b) obtained using HPLC-MS method.

Таблица 3
Table 3

Параметры ВЭЖХ-МС/МС-определения мебевериновой и деметилированной мебевериновой кислот в плазме
Parameters of HPLC-MS/MS determination of mebeverine acid and desmethyl mebeverine acid in plasma

| Подготовка проб | Параметры хроматографического разделения | | Параметры масс-спектрометрического детектирования | |
|----------------------------|---|--|---|---|
| | Метод осаждения белков: 400 мкл метанольного раствора МК-D ₅ и ДМК-D ₅ смешивали с алиquotой плазмы 100 мкл на вортексе и центрифугировали в течение 10 мин при 3500 об./мин | Колонка № 1 | Luna C8 Mercury (20*4,0 мм, 5 мкм) | Способ ионизации |
| Колонка № 2 | | Luna 5u C8 (150*4,6 мм, 5 мкм) | | |
| Состав подвижной фазы (ПФ) | | Ацетонитрил : метанол : и формиат аммония 80 ммоля/л | Полярность | Положительная |
| Режим хром. разделения | | Двумерная хроматография | Режим (MRM) | Для МК: 280 → 121 m/z; для ДМК: 266 → 107 m/z; для МК-D ₅ : 285 → 121 m/z; для ДМК-D ₅ : 271 → 107 m/z. |
| Режим элюирования | | Градиентный | | |
| | | Время анализа | 6,0 мин | |



266 → 107 m/z

Рис. 4. Хроматограммы растворов фенольного глюкуронида деметилированной мебевериновой кислоты (а) и деметилированной мебевериновой кислоты (б).
Fig. 4. Chromatograms of solutions of desmethyl mebeverine acid phenolic glucuronide (a) and desmethyl mebeverine acid (b).

было в 10 раз ниже, чем в исследовании С.А. Khatri et al. [17]. В методиках S. Elliott, V. Burgess [12] и S.A. Stockis [34] для подготовки проб применяется длительная процедура жидкостно-жидкостной экстракции и используются менее селективные методы анализа – ВЭЖХ со спектрофотометрическим и кулонометрическим детектированием. Также в данных методиках отсутствует возможность определения ДМК, которая является основным метаболитом мебеверина.

ВЭЖХ-МС/МС-определение метилдопы в образцах плазмы осуществлялось в диапазоне 0,02–3,00 мкг/мл. Хроматографическое разделение осуществлялось с помощью двух колонок Luna Phenyl-Hexyl (50*3,0 мм; 5 мкм) и Synergi Fusion-RP 80Å (150*3,0 мм; 4 мкм) в режиме двумерной хроматографии (табл. 4) [4].

Разработанная методика количественного определения метилдопы в плазме была применена использована при исследовании биоэквивалентности её таблеток [19]. Использование метода осаждения белка позволило существенно ускорить процесс подготовки проб, по сравнению с методами жидкостно-жидкостной и твердофазной экстракцией, использованными в опубликованных ранее методиках [29, 35].

Валидация разработанных методик проведена согласно требованиям руководства Европейского медицинского агентства (ЕМА) [13], Руководства по экспертизе лекарственных средств Научного центра экспертизы средств медицинского применения (НЦЭСМП) (Т. 1) [2] и Решения Совета Евразийской экономической комиссии № 85 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза (ЕАЭС)» [1]. Полученные результаты валидационных тестов по показателям селективность, линейность, внутрисерийная и межсерийная прецизионность и правильность, эффект разведения, эффект матрицы, эффект переноса из предыдущей пробы, стабильность отвечали всем установленным критериям приемлемости [3, 4, 18, 19].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе анализа данной литературы необходимо обращать внимание на присутствие в структуре из-

учаемого соединения потенциально нестабильных функциональных групп, а также на наличие у него метаболитов, способных в процессе хранения, подготовки проб, а также хромато-масс-спектрометрического определения переходить в исходное вещество. Проведённый обзор показал, что растворы антиоксидантов не использовались при проведении биоаналитических исследуемых соединений [8, 9, 12, 17, 22, 27, 30, 32, 34, 35, 36]. Однако в случае метилдопы, содержащей в структуре два фенольных гидроксила, существует потенциальный риск её окисления. Так, при определении в плазме аналогичных по структуре веществ, леводопы [24] и допамина [37], применяли, соответственно, глутатион и 10%-й раствор натрия метабисульфита. В ряде работ, посвящённых определению микофеноловой кислоты в биологических жидкостях, отмечена необходимость использования буферных растворов для предотвращения гидролиза АГМФК и ФГМФК [8, 9]. Публикации, посвящённые исследованиям фармакокинетики метаболитов мебеверина, немногочисленны, и изучение обратной конверсии ФГДМК в данных работах не было выполнено [12, 17, 22, 27, 34].

На начальном этапе разработки методик осуществлялся подбор антикоагулянта. Так, используемый антикоагулянт не повлиял на стабильность МФК в плазме крови. Результаты предварительной оценки стабильности аналита показали, что после 24 ч хранения образцов при комнатной температуре и 3 циклов замораживания/размораживания среднее содержание микофеноловой кислоты при использовании К₃ЭДТА и гепарината лития находилось в диапазоне 85,0–115,0 % от начальной концентрации. Исследование обратной конверсии ФГМФК в процессе хранения образцов проводилось на образцах с концентрацией данного метаболита 100 мкг/мл [8, 9, 11, 15, 20, 26, 31]. При применении НПКО ВЭЖХ-МС/МС-методики 0,5 мкг/мл после 24 ч хранения при комнатной температуре степень гидролиза данного метаболита не превышала максимально допустимого уровня (20 % от площади хроматографического пика образца МФК с концентрацией на уровне НПКО) при использовании КЗЭДТА и гепарината лития – 2,58 %

Таблица 4
Параметры ВЭЖХ-МС/МС-определения метилдопы в плазме

Parameters of HPLC-MS/MS-determination of methyl dopa in plasma

Table 4

| Подготовка проб | Параметры хроматографического разделения | | Параметры масс-спектрометрического детектирования | |
|----------------------------|---|---|---|---|
| | Метод осаждения белков: 400 мкл метанольного раствора МД-D ₃ добавляли к 100 мкл плазмы, затем перемешивали на вортексе, центрифугировали в течение 10 мин при 3500 об./мин. и температуре +4 °С | Колонка №1 | Luna Phenyl-Hexyl (50*3,0 мм, 5 мкм) | Способ ионизации |
| Колонка №2 | | Synergi Fusion – RP 80Å (150*3,0 мм, 4 мкм) | | |
| Состав подвижной фазы (ПФ) | | Метанол : вода : формиат аммония 80 ммоль/л | Полярность | Положительная |
| Режим хром. разделения | | Двумерная хроматография | Режим (MRM) | Для МД: 212 → 139 m/z; Для МД-D ₃ : 215 → 169 m/z. |
| Режим элюирования | | Изократический | | |

и 7,44 % от площади хроматографического пика образца НПКО соответственно.

При выборе более низкого значения нижнего предела количественного определения методики 0,05 мкг/мл обратная конверсия ФГМФК превышала максимально допустимый уровень после 6 ч хранения при комнатной температуре при использовании К₃ЭДТА (рис. 5). В случае применения гепарината лития степень гидролиза метаболита выходил за установленные пределы уже спустя 2 ч. Поэтому для дальнейших исследований был использован К₃ЭДТА.

Отсутствие влияния обратной конверсии АГМФК и ФГМФК на правильность определения микофеноловой кислоты было также доказано путём повторного анализа образцов плазмы, полученных от 10 белых беспородных крыс-самцов массой 250 ± 10 г. Субстанция микофенолата натрия вводилась крысам перорально в виде водного раствора в дозировке 33,0 мг/кг. Отбор образцов крови был произведён через 2 ч после введения: данная точка соответствует времени достижения максимальной концентрации обоих метаболитов [25]. Различие между начальными значениями и результатами измерений, полученными спустя 1 мес. после отбора, находилось в диапазоне от -3,43 % до 9,49 %, что не превышает максимально допустимого значения 20 % [1, 2, 13]. Таким образом, при проведении биоаналитических исследований микофеноловой кислоты в качестве антикоагулянта следует применять К₃ЭДТА. При этом использование каких-либо растворов стабилизаторов не требуется.

Результаты предварительных испытаний краткосрочной стабильности деметилированной мебевериновой кислоты в образцах плазмы, содержащей К₃ЭДТА и гепаринат лития, после 24 ч хранения при комнатной температуре и стабильности после 3 циклов замораживания/размораживания соответствовали установленным требованиям. Гидролиз фенольного глюкуронида ДМК в образцах с концен-

трацией 2000 нг/мл при комнатной температуре также не наблюдался. Следовательно, добавления плазме раствора стабилизатора в данном случае не требуется. Для дальнейших испытаний был выбран К₃ЭДТА, т. к. данный антикоагулянт наиболее часто используется в нашей лаборатории.

Результаты предварительного изучения стабильности метилдопы не отвечали критериям приемлемости при использовании обоих антикоагулянтов (К₃ЭДТА и гепарината лития). Поэтому на следующем этапе разработки методики осуществлялся подбор комбинации антикоагулянта и раствора антиоксиданта. После проведённых испытаний (рис. 6) было установлено, что оптимальным для предотвращения окисления аналита является добавление к К₃ЭДТА-плазме смеси антиоксидантов, включающей аскорбиновую кислоту, натрия сульфит, натрия гидрокарбонат в концентрациях 5 %, 0,2 % и 2,4 % соответственно в объёмном соотношении 1:5 (раствор антиоксиданта : плазма). Данная комбинация позволила не только предотвратить разложение МД, но и повысить уровень аналитического сигнала.

В работах С.Н. Oliveira et al. [29], Н. Valizadeh et al. [35], L. Vlase et al. [36] раствор антиоксиданта не был использован. Это могло послужить причиной значительного расхождения полученных значений фармакокинетических параметров метилдопы, полученных в ходе данных исследований. Время одного анализа в данных методиках составило 3,4 мин [29], 3,0 мин [35] и 1,05 мин [36]. Однако при этом не были использованы растворы стабилизаторов, которые необходимы для предотвращения окисления метилдопы. Добавление раствора стабилизатора к плазме требует изменения программы хроматографического разделения для устранения усиливающихся при этом матричных эффектов [3]. Поэтому время хромато-масс-спектрометрического определения в разработанной методике составило 8 мин.

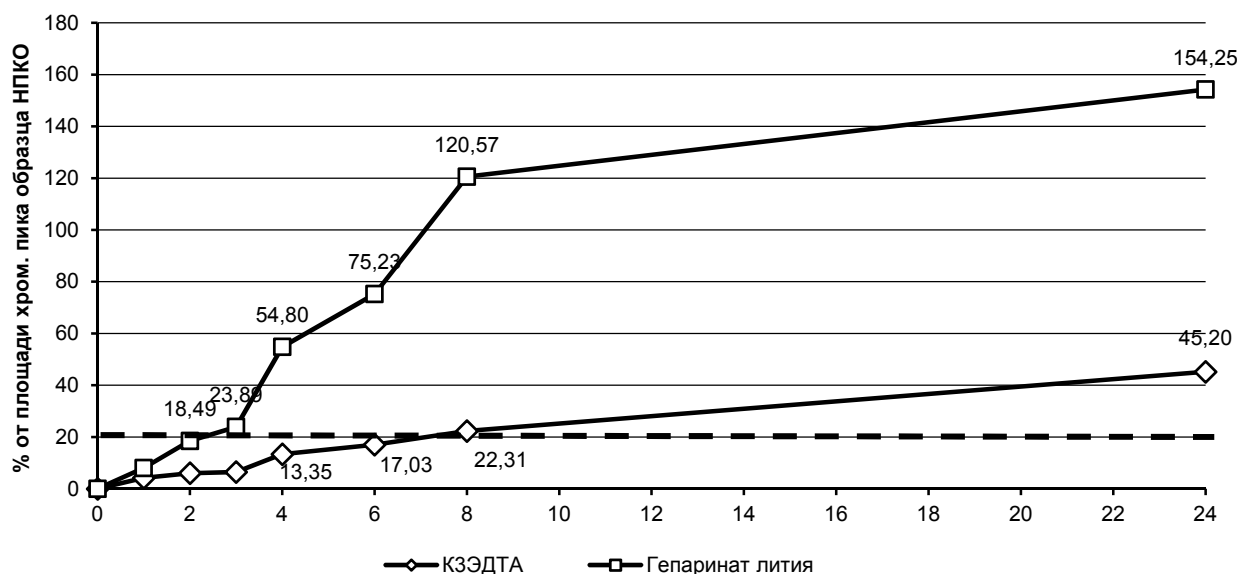


Рис. 5. Изучение обратной конверсии фенольного глюкуронида микофеноловой кислоты в процессе хранения.

Fig. 5. Reverse conversion of phenolic glucuronides of mycophenolic acid during storage.

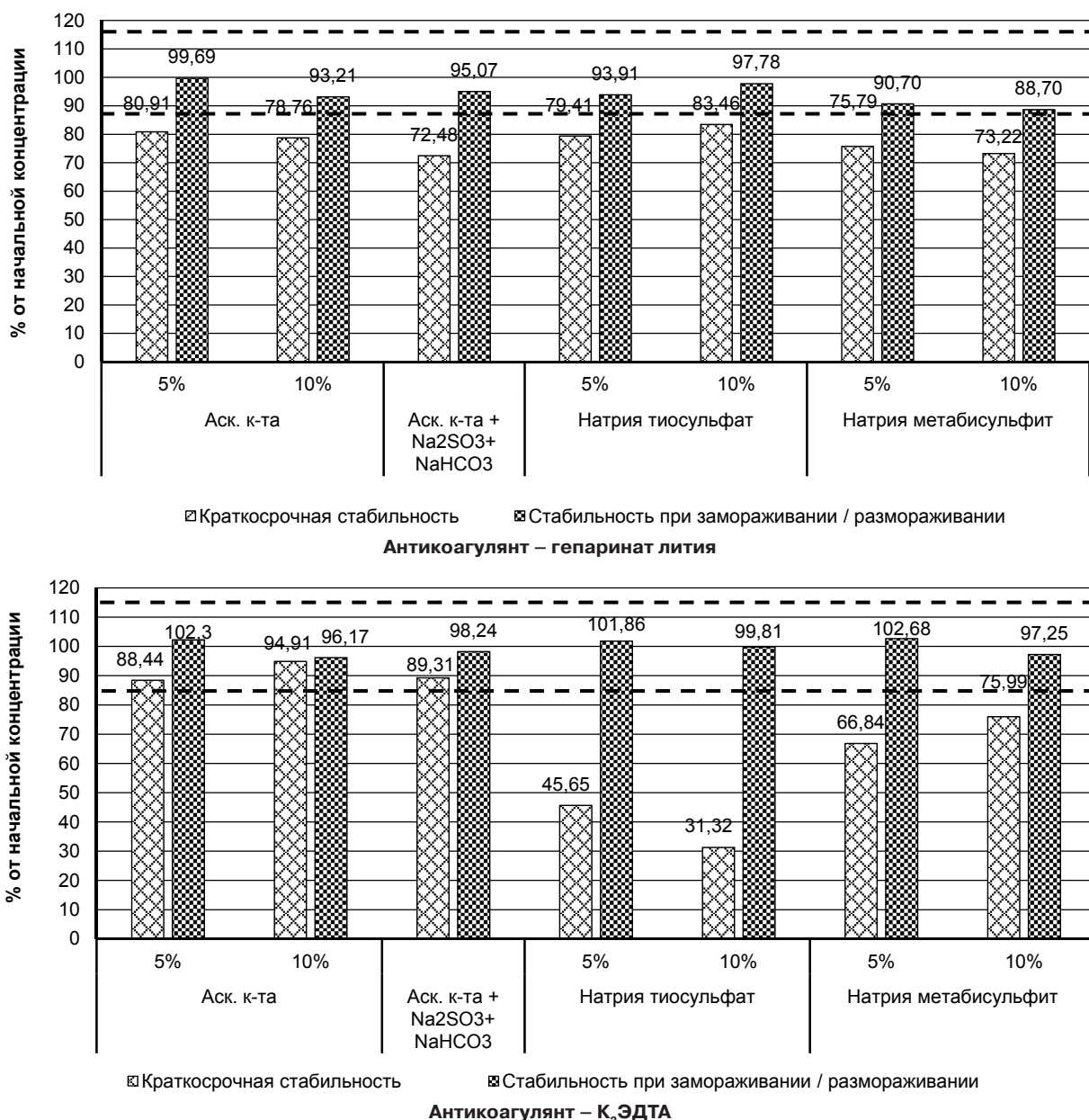


Рис. 6. Подбор комбинации антикоагулянта и антиоксиданта для стабилизации метилдопы в плазме.

Fig. 6. Choosing the combination of anticoagulant and antioxidant for stabilization of methyl dopa in plasma.

Таким образом, предложенные подходы к разработке биоаналитических методик для определения в плазме веществ, содержащих нестабильные функциональные группы или образующих нестабильные метаболиты, пригодны для исследований всех групп легкоразлагающихся соединений (рис. 7).

Этап разработки и валидации биоаналитической методики быть проведён до начала клинической части исследования фармакокинетики и БЭ: до отбора образцов у добровольцев должны быть известны результаты испытаний стабильности аналита и меры, необходимые для предотвращения разложения изучаемого вещества или его метаболитов. При этом сотрудниками лаборатории составляются подробные инструкции для персонала клинического центра по приготовлению растворов стабилизаторов, применяемым антикоагулянтам,

специальным условиям температурного режима и освещения (при работе с чувствительными к свету веществами) [22].

После исследования образцов, полученных от добровольцев, необходимо провести ISR-тест, чтобы гарантировать стабильность изучаемых веществ и отсутствие обратной конверсии метаболитов в реальных объектах. Руководство ЕАЭС по проведению исследований БЭ [1], а также Руководство по экспертизе лекарственных средств (Том 1) [2] рекомендуют при количестве отобранных проб меньше 1000 подвергать реанализу 10 % проб, а при количестве больше 1000 – 5 % проб. Руководство ЕМА [13] рекомендует анализировать дополнительно 5 % образцов от количества, превышающего 1000, руководство FDA [14] – 7 % образцов независимо от объёма исследования.

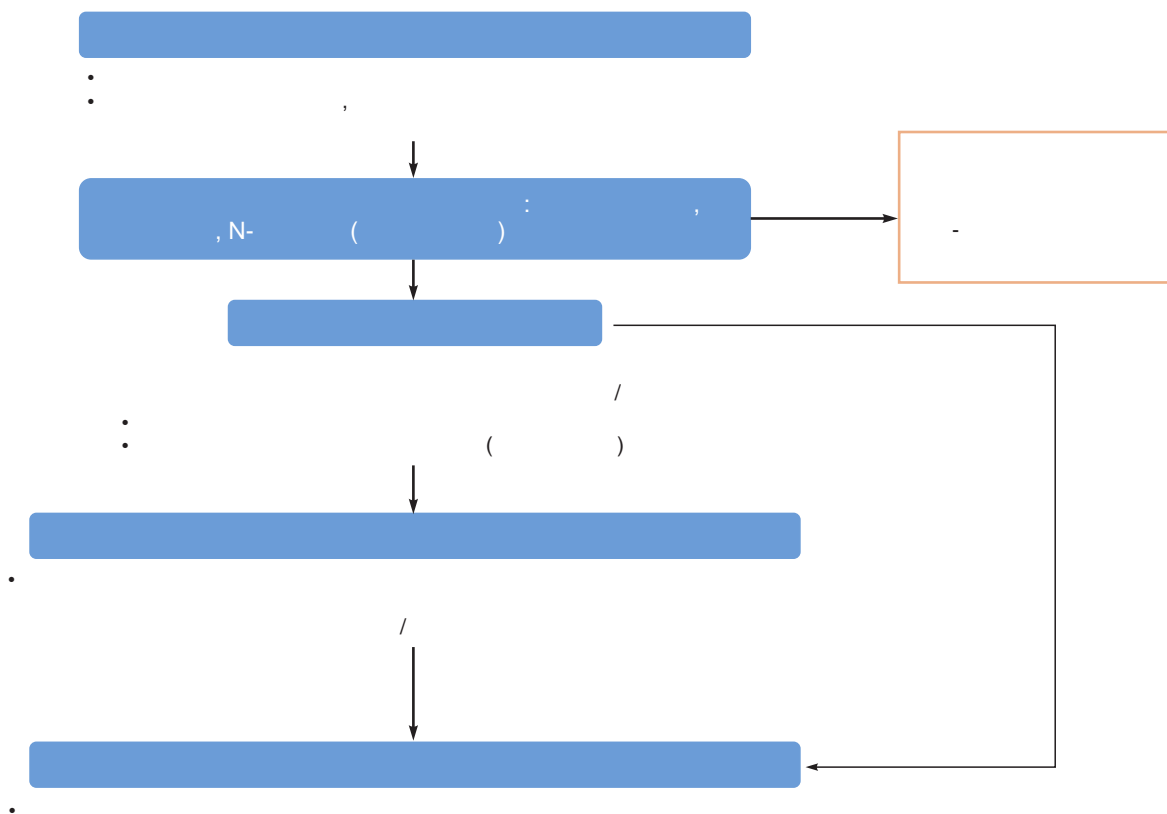


Рис. 7. Подходы к разработке методики для количественного определения в плазме веществ, имеющих нестабильные функциональные группы.

Fig. 7. Approaches to the development of method for quantitation of substances with unstable functional groups in plasma.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стабильность анализируемых веществ в биологических матрицах является одним из основных факторов, влияющих на точность данных, получаемых в ходе биоаналитических исследований. Применение изложенного выше подхода при разработке методики для определения соединений, содержащих в структуре нестабильные функциональные группы или образующих нестабильные метаболиты, позволяет избежать ошибок при измерении их концентрации. Это существенно снижает риск появления на рынке дженерика, не отвечающего требованиям эффективности и безопасности, или неправильной коррекции дозы при использовании результатов терапевтического лекарственного мониторинга.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза: Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 85. – 2016. – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/456026107>.

On the approval of the Rules for conducting bioequivalence studies of medicines in the Eurasian Economic Union. Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission N 85 d.d. November 3, 2016 [Ob utverzhdenii Pravil provedeniya issledovaniy bioekvivalentnosti

lekarstvennykh preparatov v ramkakh Evraziyskogo ekonomicheskogo soyuza: Reshenie Soveta Evraziyskoy ekonomicheskoy komissii ot 3 noyabrya 2016 g. № 85]. (2016). Available at: <http://docs.cntd.ru/document/456026107>.

2. Руководство по экспертизе лекарственных средств / Под ред. А.Н. Миронова. – М.: Полиграф-Плюс, 2014. – Т. 1. – С. 328.

Mironov AN. (ed.). (2014). Guidelines on the expertise of medicines [Rukovodstvo po ekspertize lekarstvennykh sredstv]. Moskva, 328 p.

3. Хохлов А.Л., Рыска М., Кукес В.Г., Писачкова М., Печена М., Яворский А.Н., Шитов Л.Н., Джурко Ю.А., Ромадоновский Д.П., Шитова А.М., Чудова Н.В., Цызман Л.Г., Лилеева Е.Г., Хохлов А.А., Поздняков Н.О., Мирошников А.Е., Воронина Е.А., Рыбачкова Ю.В., Мануилов Д.М., Зимина Н.В., Яичков И.И. Теоретические и практические основы проведения исследований воспроизведённых лекарственных препаратов. – Москва – Ярославль – Прага, 2017. – 227 с.

Khokhlov AL, Ryska M, Kukes VG, Pischakova M, Pechena M, Yavorskiy AN, Shitov LN, Dzhurko YuA, Romadonovskiy DP, Shitova AM, Chudova NV, Tsyzman LG, Lileeva EG, Khokhlov AA, Pozdnyakov NO, Miroshnikov AE, Voronina EA, Rybachkova YuV, Manuilov DM, Zimina NV, Yaichkov II. (2017). Theory and practice of conducting the researches of generic drugs [Teoreticheskie i prakticheskie osnovy provedeniya issledovaniy vosproizvedennykh lekarstvennykh preparatov]. Moskva, Yaroslavl, Praga, 227 p.

4. Хохлов А.Л., Джурко Ю.А., Kubes V., Шитов Л.Н., Яичков И.И., Шитова А.М. Методика количественного определения метилдопы в плазме крови человека // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2017. – Т. 63, № 3. – С. 105–108.

Khokhlov AL, Dzhurko YA, Kubeš V. Shitov LN, Yaichkov II, Shitova AM. (2017). Method for quantitative determination of methyl dopa in human plasma [Metodika kolichestvennogo opredeleniya metildopy v plazme krovi cheloveka]. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*, 63 (3), 105-108.

5. Хохлов А.Л., Яичков И.И., Шитова А.М., Шитов Л.Н., Джурко Ю.А. Исследование сравнительной фармакокинетики таблетированных форм микофеноловой кислоты // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2016. – № 4. – С. 3–8.

Khokhlov AL, Yaichkov II, Shitova AM, Shitov LN, Dzhurko YA, Miroshnikov AE. (2017). Study of comparative pharmacokinetics of coated tablets of mycophenolic acid [Issledovanie sravnitel'noy farmakokinetiki tabletirovannykh form mikofenolovoy kisloty]. *Farmakokinetika i farmakodinamika*, (4), 3-8.

6. Яичков И.И., Хохлов А.Л., Джурко Ю.А., Шитов Л.Н., Трубников А.А. Способы стабилизации лекарственных веществ и их метаболитов в биологических жидкостях при биоаналитических исследованиях (обзор) // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2017. – № 2. – С. 160–164.

Yaichkov II, Khokhlov AL, Dzhurko YA, Shitov LN, Trubnikov AA (2017). Methods of stabilizing drug substances and their metabolites in biological fluids in bioanalytical researches (review) [Sposoby stabilizatsii lekarstvennykh veshchestv i ikh metabolitov v biologicheskikh zhidkostyakh pri bioanaliticheskikh issledovaniyakh (obzor)]. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*, (2), 160-164.

7. Almeida S, Filipe A, Neves R, Spínola AC, Tanguay M, Ortuño J, Farré A, Tornø A. (2010). Mycophenolate mofetil 500-mg tablet under fasting conditions: single-dose, randomized-sequence, open-label, four-way replicate crossover, bioequivalence study in healthy subjects. *Clin Therap*, 32 (3), 556-574. DOI: 10.1016/j.clinthera.2010.03.008

8. Benoit-Biancamano MO, Caron P, Levesque E, Delage R, Couture F, Guillemette C. (2007). Sensitive high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for quantitative analysis of mycophenolic acid and its glucuronide metabolites in human plasma and urine. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 858, 159-167. DOI: 10.1016/j.jchromb.2007.08.023

9. Brandhorst G, Streit F, Goetze S, Oellerich M, Armstrong VW. (2006). Quantification by liquid chromatography tandem mass spectrometry of mycophenolic acid and its phenol and acyl glucuronide metabolites. *Clin Chem*, 52 (10), 1962-1964. DOI: 10.1373/clinchem.2006.074336

10. Dell D. (2004). Labile metabolites. *Chromatogr Suppl*, 59, 139-148. DOI: 10.1365/s10337-003-0169-5

11. Elbarty FA, Shoker AS. (2007). Liquid chromatographic determination of mycophenolic acid and its metabolites in human kidney transplant plasma: Pharma-

cokinetic application. *J Chromatogr B*, 859 (2), 276-281. DOI: 10.1016/j.jchromb.2007.09.036

12. Elliott S, Burgess V. (2006). Investigative implications of the instability and metabolism of mebeverine. *J Anal Toxicol*, 30 (2), 91-97.

13. European Medicines Agency. Committee for Medical Products of Human Use. (2010). Guideline on bioanalytical method validation. – Available at: www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/08/WC500109686.pdf.

14. Food and Drug administration. (2013). Guidance for industry. Bioanalytical method validation. Available at: <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm368107>.

15. Heinig K, Bucheli F, Hartenbach R, Gajate-Perez A. (2010). Determination of mycophenolic acid and its phenyl glucuronide in human plasma, ultrafiltrate, blood, DBS and dried plasma spots. *Bioanal*, 2 (8), 1423-1435. DOI: 10.4155/bio.10.99

16. Hilhorst M, Van Amsterdam P, Heinig K, Swanziger E, Abbott R. (2015). Stabilization of clinical samples collected for quantitative bioanalysis – a reflection from the European Bioanalysis Forum. *Bioanal*, 7 (3), 333-343. DOI: 10.4155/bio.14.290

17. Khatri CA, Phanikumar ChV, Jayaveera K. (2012). Development and validation of bioanalytical method for simultaneous quantification of veratric acid, mebeverine acid and desmethyl mebeverine acid in human EDTA plasma by using LC-MS/MS. *Pharm Chem J*, 4 (6), 11-18.

18. Khokhlov AL, Dzhurko YA, Yaichkov II, Shitov LN, Shitova AM, Miroshnikov AE, Khozova LA. (2017). The rapid and sensitive HPLC-MS/MS-Method of determination of mebeverine metabolites in human plasma. *Mathews J Pharm Sci*, 1 (2), 010. Available at: mathewsopenaccess.com/PDF/pharmaceutical-science/M_J_Pharm_2_1_010.pdf.

19. Khokhlov AL, Yaichkov II, Dzhurko YA, Shitov LN. (2017). Methodical approaches to bioassay of phenolic hydroxylenes contain substances. *Med News North Cauc*, 12 (3), 294-299. DOI: 10.14300/MNNC.2017.12088

20. Kuhn J, Götting C, Kleesiek K. (2009). Sample cleanup-free determination of mycophenolic acid and its glucuronide in serum and plasma using the novel technology of ultra-performance liquid chromatography – electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Talanta*, 80 (5), 1894-1898. DOI: 10.1016/j.talanta.2009.10.040

21. Kuhn J, Prante C, Kleesiek K, Götting C. (2009). Measurement of mycophenolic acid and its glucuronide using a novel rapid liquid chromatography – electrospray ionization tandem mass spectrometry assay. *Clin Biochem*, 42 (1-2), 83-90. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2008.10.004

22. Kristinsson J, Snorrabttir I, Johannsson M. (1994). The metabolism of mebeverine in man: identification of urinary metabolites by gas chromatography/mass spectrometry. *Pharmacol Toxicol*, 74 (3), 174-180.

23. Li W, Zhang J, Tse F. (2013). Handbook of LC-MS bioanalysis. New Jersey, 675 p.

24. Li W, Zhang J, Tse F. (2011). Strategies in quantitative LC-MS/MS analysis of unstable small molecules in biological matrices. *Biomed Chromatogr*, 25 (1-2), 258-277. DOI: 10.1002/bmc.1572

25. Liu Q, Jiao Z, Zhong M, Zhang M, Geng F, Zhao H. (2017). Effect of long-term co-administration of com-

pound glycyrrhizin tablets on the pharmacokinetics of mycophenolic acid in rats. *Xenobiotica*, 46 (7), 627-633. DOI: 10.3109/00498254.2015.1103386

26. Maddela R, Pilli NR, Maddela S. (2017). A novel and rapid LC-MS/MS assay for the determination of mycophenolate and mycophenolic acid in human plasma. *J Young Pharm*, 9 (1), 107-114. DOI: 10.5530/jyp.2017.9.20

27. Moskaleva NE, Baranov PA, Mesonzhnik NV, Appolonova SA. (2017). HPLC-MS/MS method for the simultaneous quantification of desmethylmebeverine acid, mebeverine acid and mebeverine alcohol in human plasma along with its application to a pharmacokinetics study. *J Pharm Biomed Anal*, 138, 118-125. DOI: 10.1016/j.jpba.2017.02.006

28. Ohyama K, Kinoshita N, Kishikawa N, Kuroda N. (2008). A simple and rapid CZE method for the analysis of mycophenolic acid and its phenol glucuronide metabolite in human. *Electrophoresis*, 29 (17), 3658-3664. DOI: 10.1002/elps.200700952

29. Ohyama K, Kishikawa N, Nakagawa H, Kuroda N, Nishikido M, Teshima M, To H, Kitahara T, Sasaki H. (2008). Simultaneous determination of mycophenolic acid and its acyl and phenol glucuronide metabolites in human serum by capillary zone electrophoresis. *J Pharm Biomed Anal*, 47 (1), 201-206. DOI: 10.1016/j.jpba.2007.12.028

30. Oliveira CH, Barrientos-Astigarraga RE, Sucupira M, Graudens GS, Muscará MN, Nuccia G. (2002). Quantification of methyl dopa in human plasma by high-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. Application to a bioequivalence study. *J Chromatogr B*, 768 (2), 341-348. DOI: 10.1016/S1570-0232(01)00612-2

31. Rissling O, Bauer S, Shipkova M, Glander P, Mai M, Hambach P, Budde K. (2016). Simultaneous determination of mycophenolate and its metabolite

mycophenolate-7-o-glucuronide with an isocratic HPLC-UV-based method in human plasma and stability evaluation. *Scand J Clin Lab Invest*, 76 (8), 612-619. DOI: 10.1080/00365513.2016.1230775

32. Róna K, Ary K, Renczes G, Gachályi B, Grézal GY, Drabant S, Klebovich I. (2001). Comparative bioavailability of alpha-methyl dopa normal and film tablet formulations after single oral administration in healthy volunteers. *Eur J Drug Metab Pharmacok*, 26 (1-2), 25-30.

33. Shihabi ZK. (2009). Enhanced detection in capillary electrophoresis: Example determination of serum mycophenolic acid. *Electrophoresis*, 30 (9), 1516-1521.

34. Stockis A, Guelen PJM, De Vos D. (2002). Identification of mebeverine acid as the main circulating metabolite of mebeverine in man. *J Pharm Biomed Anal*, 29 (1-2), 335-340.

35. Valizadeh H, Nemati M, Hallaj-Nezhadi S, Ansarin M, Zakeri-Milani P. (2010). Single dose bioequivalence study of a-methyl dopa tablet formulations using a modified HPLC method. *Arzneimittelforschung*, 60 (10), 607-611. DOI: 10.1055/s-0031-1296333

36. Vlase L, Miha D, Popa D-S, Popa A, Briciu C, Loghin F, Ciortea R, Miha C. (2013). Determination of methyl dopa in human plasma by LC/MS-MS for therapeutic drug monitoring. *Stud Univ Babeş-Bolyai Chem*, 58 (1), 31-41.

37. Van de Merbel NC, Hendriks G, Imbos R, Tuunainen J, Rouru J, Nikkanen H. (2011). Quantitative determination of free and total dopamine in human plasma by LC-MS/MS: the importance of sample preparation. *Bioanal*, 3 (17), 1949-1961. DOI: 10.4155/bio.11.170

38. Wang L, Qiang W, Li Y, Cheng Z, Xie M. (2017). A novel freeze-dried storage and preparation method for the determination of mycophenolic acid in plasma by high-performance liquid chromatography. *Biomed Chromatogr*, 31 (9), 3-27. DOI: 10.1002/bmc.3958

Сведения об авторах Information about the authors

Хохлов Александр Леонидович – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий кафедрой клинической фармакологии, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России (150000, г. Ярославль, ул. Революционная, 5; e-mail: al460935@yandex.ru)

Khokhlov Alexandr Leonidovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of RAS, Head of the Department of Clinical Pharmacology, Yaroslavl State Medical University (150000, Yaroslavl, ul. Revolyutsionnaya, 5; e-mail: al460935@yandex.ru)

Яичков Илья Игоревич – аспирант кафедры клинической фармакологии, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России; младший научный сотрудник Центра трансфера фармацевтических технологий им. М.В. Дорогова, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный педагогический университет им. К.Д. Ушинского» (e-mail: ilya_1993_08@mail.ru)

Yaichkov Ilya Igorevich – Postgraduate at the Department of Clinical Pharmacology, Yaroslavl State Medical University; Junior Research Officer at the M.V. Dorogov Centre of Transfer of Pharmaceutical Technologies, K.D. Ushinsky Yaroslavl State Pedagogical University (150000, Yaroslavl, ul. Respublikanskaya, 108/1; e-mail: ilya_1993_08@mail.ru)

Джурко Юрий Александрович – кандидат фармацевтических наук, старший аналитик, ООО «Квинта-Аналитика Ярославль» (150045, г. Ярославль, Ленинградский пр., 52г; тел. 8 (4852) 98-87-34; e-mail: y.dzhurko@qayar.ru)

Dzhurko Yuriy Alexandrovich – Candidate of Pharmaceutical Sciences, Senior Analyst, Quinta-Analytica Yaroslavl LLC (150045, Yaroslavl, Lenyngradsky pr., 52g, tel. (4852) 98-87-34; e-mail: y.dzhurko@qayar.ru)

Рыска Мирослав – доктор естественных наук, RNDr, экс-президент, Quinta-Analytica s.r.o. (Pražská 1486/18c, 102 00 Praha 15, Czechia; e-mail: miroslav.ryska@quinta.cz)

Miroslav Ryska – Doctor of Natural Sciences, RNDr, ex-president, Quinta-Analytica s.r.o. (Pražská 1486/18c, 102 00 Praha 15, Czechia; e-mail: miroslav.ryska@quinta.cz)

Владимир Кубеш – заведующий лабораторией, Quinta-Analytica s.r.o. (e-mail: vladimir.kubes@quinta.cz)

Vladimir Kubeš – Head of the Laboratory, Quinta-Analytica s.r.o. (e-mail: vladimir.kubes@quinta.cz)

Шитов Леонид Николаевич – кандидат биологических наук, заведующий биоаналитической лабораторией, ООО «Квинта-Аналитика Ярославль»; ассистент кафедры поликлинической терапии и клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: schitov@inbox.ru)

Shitov Leonid Nikolaevich – Candidate of Biological Sciences, Head of the Bioanalytical Laboratory, Quinta-Analytica Yaroslavl LLC, Teaching Assistant at the Department of Ambulatory Treatment and Clinical Laboratory Diagnostics, Yaroslavl State Medical University (e-mail: schitov@inbox.ru)

ХИРУРГИЯ SURGERY

DOI: 10.29413/ABS.2018-3.5.17

УДК 616.623-08

Vorobev V.A.^{1, 2}, Beloborodov V.A.^{1, 2}

Modern Methods of Treating Diseases of the Bulbo-Membranous Part of Urethra

¹ Irkutsk State Medical University
(ul. Krasnogo Vosstaniya 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

² Irkutsk City Clinical Hospital N 1
(ul. Baykalskaya 118, Irkutsk 664046, Russian Federation)

Strictures of the bulbous-membranous urethra are a common cause of obstructive urination disorder. Modern trends in the development of medicine lead to a wider application of endoscopic method, a more frequent cause of iatrogenic injury of the urethra. At present, conservative, endourologic and reconstructive methods of care are used to treat urethral strictures.

There are several conservative, endourological and reconstructive methods for treating patients with urethral stricture. Conservative methods include interventions that do not involve the destruction of urethral stricture or its reconstruction, such as stenting, blind dilatation, and recanalization of the urethra. Performing blind dilatation strictures of the bulbo-membranous urethra is not recommended because of the high risk of false path formation and low efficiency. Endourological operations refer to surgical methods of care and suggest the natural restoration of urethral tissues after the destruction of stricture. Because of the low effectiveness of correction of strictures of the posterior urethra (more than 90 % of relapses in five years), this method is a variant of temporary or palliative care.

Currently, two approaches to the reconstruction of the bulbo-membranous urethra are used: anastomotic and replacement operations. Anastomotic surgery involves excision of the affected area and juxtaposition of healthy urethral tissues without tension. Replacement plastic allows to restore patency of the urethra by increasing the diameter of the lumen due to the implantation of various grafts.

The article shows that, based on international clinical studies, the most effective method of reconstructing the bulbo-membranous urethra is reconstructive surgical methods.

Key words: bulbo-membranous urethra, urethral stricture, urethral stenosis, anastomotic urethroplasty, buccal-mucosa urethroplastic, direct visual internal urethrotomy (DVIU)

For citation: Vorobev V.A., Beloborodov V.A. Modern methods of treating diseases of the bulbo-membranous part of urethra. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 116-125, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.17.

Современные методы лечения поражений бульбо-мембранозного отдела уретры

Воробьев В.А.^{1, 2}, Белобородов В.А.^{1, 2}

¹ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России
(664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

² ОГАУЗ «Иркутская городская клиническая больница № 1»
(664046, г. Иркутск, ул. Байкальская, 118, Россия)

Стриктуры бульбо-мембранозного отдела уретры являются частой причиной обструктивного нарушения мочеиспускания. Современные тенденции развития медицины ведут к более широкому применению эндоскопических методов, более частой причине ятрогенной травмы мочеиспускательного канала. В настоящее время для лечения стриктур уретры применяются консервативные эндоурологические и реконструктивные методы помощи.

Существует несколько консервативных, эндоурологических и реконструктивных методов лечения пациентов со стриктурной болезнью уретры. К консервативным методам относятся вмешательства, не предполагающие разрушения стриктуры уретры или её реконструкцию, такие как стентирование, бужирование и реканализация уретры.

Эндоурологические операции относятся к хирургическим методам помощи и предполагают естественное восстановление тканей уретры после разрушения стриктуры. Из-за низкой эффективности коррекции стриктур задней уретры (более 90 % рецидивов через пять лет) данный метод является вариантом временной или паллиативной помощи.

В настоящее время применяется два подхода к реконструкции бульбо-мембранозного отдела уретры: анастомотические и заместительные операции. Анастомотическая операция предполагает иссечение поражённого участка и сопоставление здоровых тканей уретры без натяжения. Заместительная пластика позволяет восстановить проходимость уретры путём увеличения диаметра просвета за счёт имплантации различных трансплантатов. Перспективным новым методом лечения является регенеративный подход, когда трансплантируют ткане-инженерную конструкцию, выращенную из клеток самого пациента.

В статье продемонстрировано, что на основании международных клинических исследований наиболее эффективным методом восстановления бульбо-мембранозного отдела уретры являются реконструктивные хирургические методы.

Ключевые слова: бульбо-мембранозный отдел уретры, стриктура уретры, стеноз уретры, анастомотическая уретропластика, буккальная пластика уретры, внутренняя оптическая уретротомия (ВОУТ)

Для цитирования: Воробьев В.А., Белобородов В.А. Современные методы лечения поражений бульбо-мембранозного отдела уретры. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 116-125, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.17.

RELEVANCE

Stricture disease of the urethra is a partial or complete narrowing of the urethral lumen. It can occur as a result of trauma or inflammation, which leads to irreversible violations of urination and, possibly, death. Treatment of this disease is still a difficult task.

At present, there is no generalized exact information on the incidence of stricture disease. Hypothetical calculations predict that approximately 0.6 % of men over the age of 55 have a narrowing of the urethral lumen. In a few studies authors report about different incidence rates, ranging from 30 to 627 cases per 100,000 of population. Thus, in Denmark, between 1977 and 2013, the total incidence of stricture disease was 34.8 per 100,000 of population [37]. In this case, men over 60 years accounted for 66.9 % of cases of urethral strictures. In the United States, according to the American Urological Association (AUA) in 2003, the incidence was 193 cases per 100,000 of population [51]. Thus, there is a significant statistical dispersion even in the developed countries of the world.

In Russia, there is no statistical account of the incidence of urethral stricture. This group of patients in statistical reports is combined with other diseases (benign prostatic hyperplasia, neurogenic urination disorders and others). Thus, the frequency of detection of diseases of the urinary system with obstructive symptoms in the city of Moscow for the period of 2011-2012 was 275–291 cases per 100,000 of population.

Information on the incidence of urethral stricture in the hospitals of Irkutsk for the period from 2012 to 2014 is presented in Table 1.

Based on the above reasons, it is difficult to estimate the incidence of urethral strictures and, especially, of its bulbo-membranous part. The average frequency of detection of the narrowing of the bulbo-membranous urethral part (BMP) calculated indirectly is about 8 % of the total incidence of urethral stricture [45].

Currently, two methods of surgical treatment of strictures of the proximal part of the bulbar urethra and the BMP are used: endourologic intervention and reconstructive surgery.

Usually, when an BMP stricture is detected, an endourological operation is performed – direct visual internal urethrotomy (DVIU) with a probable efficacy of 20 to 75 % [32, 33, 38, 39] compared with 24 of 29 patients with shorter strictures (p = 0.001. This method is simple and has the greatest efficiency in lesions less than 10 mm in length. When the stricture is more than 2 cm, the performance of the DVIU is practically ineffective [20, 30, 57] including age, etiology, length and site of the strictures, and catheter duration. Only patients with a minimum followup of 2 years were included. Regular self-catheterization was not used by any child. RESULTS A total of 31 patients (mean age 11.2 years, range 2 to 18. Primary and repeated use of this technique can worsen the course of the disease [22, 24, 34] thus excluding those with hypospadias, lichen sclerosus, pelvic radiation, prior urethroplasty, incomplete data, or pure penile or posterior urethral stenosis. Cases were divided into 2 groups based on the history of transurethral treatment for urethral stricture before urethroplasty, including group 1-0 or 1 and group 2-2 or greater treatments. RESULTS Of 101 patients with bulbar urethral stricture and all data available 50 and 51 underwent 0 to 1 and 2 or greater previous transurethral treatments, respectively. Repeat transurethral manipulation was strongly associated with longer strictures and the need for complex reconstruction. Repeat transurethral manipulation of bulbar urethral strictures was also associated with an eightfold increase in disease duration between stricture diagnosis and curative urethroplasty. CONCLUSIONS Repeat transurethral manipulation of bulbar strictures is associated with increased stricture complexity and a marked delay to curative urethroplasty.”;author":{"dropping-particle":"","family":"Hudak","given":"Steven J","non-dropping-particle":"","parse-names":false,"suffix":"","dropping-particle":"","family":"Atkinson","given":"Timothy H","non-dropping-particle":"","parse-names":false,"suffix":"","dropping-particle":"","family":"Morey","given":"Allen F","non-dropping-particle":"","parse-names":false,"suffix":""},"container-title":"The Journal of urology","id":"ITEM-1","issue":"5","issued":{"date-parts":["2012","5"]},"page":"1691-5","title":"Repeat

Table 1

Incidence of urethral stricture in Irkutsk's hospitals

| Year | Cases, n (%) | Surgical, n (%) | Urgent operations, n (%) | Duration of hospitalization, days | Total urological patients |
|-------|--------------|-----------------|--------------------------|-----------------------------------|---------------------------|
| 2012 | 48 (1,8 %) | 48 (4,3 %) | 12 (2,7 %) | 12,6 | 2532 |
| 2013 | 48 (1,8 %) | 47 (3,7 %) | 16 (2,8 %) | 15,5 | 2571 |
| 2014 | 37 (1,4 %) | 36 (2,7 %) | 2 (0,3 %) | 10,3 | 2518 |
| Total | 133 (1,7 %) | 132 (3,5 %) | 30 (1,9 %) | 12,8 | 7621 |

transurethral manipulation of bulbar urethral strictures is associated with increased stricture complexity and prolonged disease duration.”,”type”:”article-journal,”volume”:”187”},”uris”:[”http://www.mendeley.com/documents/?uuid=b4763632-561f-3f1e-a85f-083522465819”]},{”id”:”ITEM-2,”item-Data”:{”DOI”:”10.1016/j.juro.2013.01.014,”IS SN”:”1527-3792,”PMID”:”23313208,”abstract”:”PURPOSE The long-term success rate of dilation and/or internal urethrotomy is low in cases of recurrent urethral stricture. We investigated the ability of the Memokath™ 044TW stent to maintain urethral patency after dilation or internal urethrotomy for recurrent urethral stricture. MATERIALS AND METHODS A total of 92 patients with recurrent bulbar urethral strictures (mean length 2.7 cm, and data on long-term follow-up of such patients indicate more than 90 % recurrence within five years [50]second, third, fourth and fifth urethrotomy. Patients with complex strictures [36.

Anastomotic reconstruction is also used to treat strictures (efficiency 85–98 % [13, 29, 40]1-stage delayed repairs of complete posterior urethral ruptures in 60 men with at least 1-year followup were reviewed. Two ruptures were due to gunshot wounds and 58 were secondary to a pelvic fracture. There were 58 repairs done by the perineal approach and 5 required an abdominal perineal approach. RESULTS Surgical complications included 2 (3%). This method involves excision of the affected part of the urethra, which leads to its shortening. Additionally performed Webster techniques aimed at creating conditions for anastomosing without tension, increase the risk of injury to blood vessels and nerves. Such an operation can lead to a violation of the erectile function, the development of urine incontinence and the shortening of the penis [36, 41, 43]. In addition, there is a risk of failure to apply anastomosis even with Webster receptions and combined access.

In addition to the anastomotic reconstruction, substitution urethroplasty is used. The method involves replacing part of the urethra with autologous, allogenic, xenogenic or tissue-engineering grafts. This method is one of the most effective in the reconstruction of another part of the urethra, but in the BMP its effectiveness is inferior to anastomotic methods [2].

INDICATIONS, ALGORITHMS OF TREATMENT

Based on the established diagnosis, indications for treatment are determined. Clearly formulated relative indications for surgical intervention for strictures of various parts of the urethra at the present time does not exist. Nevertheless, given the long period of subcompensation, patients are shown to perform dynamic observation and, possibly, treatment for any detected urethral stricture, even under normal urodynamic parameters (maximum urinary flow rate is more than 15 ml/sec, residual urine is absent). It is possible to conduct conservative therapy with fibrinolytics, dilatation and physiotherapy in the early stages of the disease (maximum urine flow rate is 12–15 ml/sec, residual urine volume is less than 100 ml), and in severe inoperable cases.

At present, consensus is reached in the Russian and world practice (EAU Guidelines, 2017, AUAGuidelines,

2016) on the algorithm for helping patients with stricture of the posterior (including the BMP) urethra.

The algorithm for examining and treating lesions of the posterior urethra is based on the causes of stricture. If there is a suspicion of iatrogenic damage to the urethra (for example, catheterization with urethrorrhagia), urethrography is indicated. In case of detection of acute damage, the urethra is drained by a catheter for a period up to the healing of the urethral walls. When revealing stricture of the urethra less than 10 mm in length – DVIU is performed. With strictures of greater length, an anastomotic reconstruction of the urethra is recommended.

If the stenosis of the vesicoureteral anastomosis after radical prostatectomy is revealed, it is possible to dilate the urethra or endoscopic dissection of the stenotic ring. If these methods are ineffective, patients are offered re-anastomosing or permanent drainage of the bladder with a cystostomy.

At a blunt trauma of a urethra endoscopic recanalization or a drainage of a bladder by a cystostoma is carried out for the term up to three months. In the future, if a stricture of the urethra recurs, it is possible to perform a DVIU or an anastomotic reconstruction.

In the presented clinical recommendations, conservative treatment of urethral strictures (recanalization, dilatation, stenting) or performing DVIU is allowed. If they are ineffective, the second stage is used for urethroplastic reconstruction. In the clinical recommendations of the American Urological Association of 2016, the possible negative impact of DVIU and conservative treatment methods on the prognosis of the course of urethral strictures is indicated. Replacement methods of urethroplasty are absent in the presented algorithms because of their low efficiency and lack of advantages over anastomotic methods.

ENDUROLOGICAL METHODS

Performing blind dilatation of strictures of the BMP of the urethra is not recommended because of the high risk of forming a false stroke. The method does not lead to a cure, allowing to maintain an independent urination for several weeks. Recurrence after dilatation is an indication for choosing a different method of treatment. Indication for repeated dilatation is the inability to perform urethral reconstruction [6, 27]Khyber Medical Centre and Khyber Teaching Hospital Peshawar from July 2004 to June 2008. RESULTS: A total of 146 male patients were included in the study. They were divided into two groups of 73 each on alternate basis. Group A was control group and group B with clean intermitting self dilatation and were followed upto 8 months. Study results showed a high rate of recurrence in control group A i.e. 42 patients (57.53%. After performing the DVIU, such patients are recommended to dilate the urethra by self-catheterization with an interval of several days to several weeks with a total duration of more than four months. This procedure is accompanied by painful sensations during the procedure [23, 43]. Constant dilatation of the urethra significantly decreases the quality of life [35]frequency, difficulty and pain associated with intermitting self-dilatation as well as interference of intermitting self-dilatation with daily activity. The primary outcome was patient perceived quality of life. Multivariate analysis was performed to assess factors that affected this

outcome. RESULTS Included in the study were 85 patients with a median age of 68 years, a median of 3.0 years on intermittent self-dilation and a median frequency of 1 dilation per day. On a 1 to 10 scale the median intermittent self-dilation difficulty was 5.0 ± 2.7 , the median pain score was 3.0 ± 2.7 and median interference with daily life was 2.0 ± 1.3 . Overall quality of life in patients with stricture was poor (median score 7.0 ± 2.6 with poor quality of life defined as 7 or greater).

The urethral stents for the first time began to be applied since 1988. There are no stents to restore the permeability of the BMP of the urethra. The use of urethral stents with post-traumatic strictures or a pronounced fibrous process is contraindicated because of the high risk of scarring into the lumen of the stent [5, 26, 46]. For uncoated metallic stents, the expected obstruction by a neoplastic or granulation tissue in the first six months reaches 51.2 %. Polymer coatings (teflon, polyurethane and silicone) reduce the risk of obstruction approximately twice. Currently, there are special modifications of stents to correct stenosis of anastomoses and treatment of patients with severe concomitant pathology, which cannot perform surgical reconstruction [9, 21] 4%-9% of men after brachytherapy and 1%-13% after external beam radiotherapy will develop stenosis. The rate will be greater after combination therapy and can exceed 40% after salvage radical prostatectomy. Although postradical prostatectomy stenoses mostly develop within 2 years, postradiotherapy stenoses take longer to appear. Many result in storage and voiding symptoms and can be associated with incontinence. The evaluation consists of a workup similar to that for lower urinary tract symptoms, with additional testing to rule out recurrent or persistent prostate cancer. Treatment is usually initiated with an endoscopic approach commonly involving dilation, visual urethrotomy with or without laser treatment, and, possibly, UroLume stent placement. Open surgical urethroplasty has been reported, as well as urinary diversion for recalcitrant stenosis. A proposed algorithm illustrating a graded approach has been provided.,"author":{"dropping-particle":"","family":"Herschorn","given":"Sender","non-dropping-particle":"","parse-names":false,"suffix":""},"dropping-particle":"","family":"Elliott","given":"Sean","non-dropping-particle":"","parse-names":false,"suffix":""},"dropping-particle":"","family":"Coburn","given":"Michael","non-dropping-particle":"","parse-names":false,"suffix":""},"dropping-particle":"","family":"Wessells","given":"Hunter","non-dropping-particle":"","parse-names":false,"suffix":""},"dropping-particle":"","family":"Zinman","given":"Leonard","non-dropping-particle":"","parse-names":false,"suffix":""},"container-title":"Urology","id":"ITEM-1","issue":"3 Suppl","issued":{"date-parts":["2014","3"]},"page":"S59-70","title":"SIU/ICUD Consultation on Urethral Strictures: Posterior urethral stenosis after treatment of prostate cancer.,"type":"article-journal","volume":"83"},"uris":["http://www.mendeley.com/documents/?uuid=9bf8ed20-9fca-3bbd-85df-0b166f8703e5"],{"id":"ITEM-2"},"itemData":{"ISSN":"0004-0614","PMID":"27725336","abstract":"Urethral stents were first introduced in 1988, and since then, they have undergone significant improvements. However, they did not gain a wide popularity and their use is limited to a small number of centers

around the world. Urethral stents can be used in the entire urethra and for various and diverse indications. In the anterior urethra, it can be used to treat urethral strictures. In the prostatic urethra, they can be used for the treatment of prostatic obstruction, including benign, malignant and iatrogenic prostatic obstruction. Moreover, although not widely used, it can be also applied for the treatment of posterior urethral stricture and bladder neck contracture, usually resulting in urinary incontinence and the need for subsequent procedures. Our main experience are with Allium urethral stents, and as such, we provide the latest updates in urethral stents with special emphasis on the various types of Allium urethral stents: bulbar, prostatic and bladder neck stents.,"-author":{"dropping-particle":"","family":"Bahouth","given":"Z","non-dropping-particle":"","parse-names":false,"suffix":""},"dropping-particle":"","family":"Meyer","given":"G","non-dropping-particle":"","parse-names":false,"suffix":""},"dropping-particle":"","family":"Yildiz","given":"G","non-dropping-particle":"","parse-names":false,"suffix":""},"dropping-particle":"","family":"Nativ","given":"O","non-dropping-particle":"","parse-names":false,"suffix":""},"dropping-particle":"","family":"Moskovitz","given":"B","non-dropping-particle":"","parse-names":false,"suffix":""},"container-title":"Archivos espanoles de urologia","id":"ITEM-2","issue":"8","issued":{"date-parts":["2016","10"]},"page":"601-606","title":"Update in urethral stents.,"type":"article-journal","volume":"69"},"uris":["http://www.mendeley.com/documents/?uuid=22420580-e18d-320a-aa9d-387df9f4c458"]},"mendeley":{"formattedCitation":"[9, 21]","plainTextFormattedCitation":"[9, 21]","previouslyFormattedCitation":"[47; 52]"},"properties":{"noteIndex":0},"schema":"https://github.com/citation-style-language/schema/raw/master/csl-citation.json"}. Complication of the urethral stent, in addition to the germination of scar tissue, is a dislocation into the bladder and ischemia of the urethra.

Recanalization is a method of restoring the urethra on a catheter, performed in the bladder with a fibrourethrocystoscope. When the urethra is recanalized in a patient with a distraction defect, drainage of the urethra by the catheter should be stopped only when the re-epithelialization of the affected area is completed [15]. At week 9, it is achieved in 83 % of patients, the remaining 13 % – by the 12th week of drainage. This technique does not guarantee a cure, and the process of re-epithelialization should be controlled by the method of periodic flexible ureteroscopy. The overall efficiency of recanalization is low. The subsequent formation of strictures is revealed in 14–79 % of cases, urinary incontinence is < 5 %, impotence is 10–55 % [33, 38] post-void residual and cystoscopic evaluation. Failure of early endoscopic realignment was defined as patients requiring urethral dilation, direct vision internal urethrotomy, posterior urethroplasty or self-catheterization after initial urethral catheter removal. RESULTS A total of 19 consecutive patients (mean age 38 years.

DVIU is the development of the blind uretrotomy technique, allowing to improve the effectiveness and reduce the incidence of complications. It is performed by a cold knife or laser. Strictly contraindicated is holding

the BMP to compensate for a decrease in its length after excision, in some cases, dissection of the intercavernosum septum, resection of the lower branch of the pubic bone, or movement of the urethra (rerouting) over the cavernous body foot (Webster's method) are needed. This set of techniques is technically difficult, it requires a lot of time and involves a high risk of operational injury. Nevertheless, the efficiency of such anastomotic reconstruction reaches 85–90 % [13, 18, 41, 52] 1-stage delayed repairs of complete posterior urethral ruptures in 60 men with at least 1-year followup were reviewed. Two ruptures were due to gunshot wounds and 58 were secondary to a pelvic fracture. There were 58 repairs done by the perineal approach and 5 required an abdominal perineal approach. RESULTS Surgical complications included 2 (3%.

The implementation of anastomotic reconstruction is accompanied by damage to various anatomical structures of the perineum, which can lead to a number of complications. Urinary incontinence often develops due to the surgical trauma of any of the elements of the distal urinary sphincter. In case of its occurrence, expensive implantation of an artificial urinary sphincter will be required, however, not guaranteeing disposal of incontinence [41]. Violation of erectile function is a consequence of the destruction of cavernous vessels and nerves. The risk of severe erectile dysfunction after anastomotic urethroplasty is more than 5 %, and the risk of impairment of erectile function reaches 36–38 % [36, 54] suggesting a neurogenic aetiology in the majority. Bilateral pubic rami fracture was also associated with a high incidence of impotence. CONCLUSION Disruption of the cavernosal nerves lateral to the prostatomembranous urethra behind the symphysis pubis is the most likely cause of impotence in this injury. author: [{"dropping-particle": "", "family": "Mark", "given": "S D", "non-dropping-particle": "", "parse-names": false, "suffix": ""}, {"dropping-particle": "", "family": "Keane", "given": "T E", "non-dropping-particle": "", "parse-names": false, "suffix": ""}, {"dropping-particle": "", "family": "Vandemark", "given": "R M", "non-dropping-particle": "", "parse-names": false, "suffix": ""}, {"dropping-particle": "", "family": "Webster", "given": "G D", "non-dropping-particle": "", "parse-names": false, "suffix": ""}], container-title: "British journal of urology", id: "ITEM-1", issue: "1", issued: {"date-parts": [{"1995", "1"}]}, page: "62-4", title: "Impotence following pelvic fracture urethral injury: incidence, aetiology and management.", type: "article-journal", volume: "75", uris: [{"http://www.mendeley.com/documents/?uuid=e7699bda-da92-30a9-acc6-5dda-f43a5837"}], {"id": "ITEM-2", "itemData": {"DOI": "10.1097/01.ju.0000067660.51231.05", "ISSN": "0022-5347", "PMID": "12771742", "abstract": "PURPOSE Erectile dysfunction is a common sequel of pelvic fractures, particularly those associated with posterior urethral injury when it can be neurogenic or arteriogenic due to damage to the cavernous nerves or branches of the pudendal arteries. We studied erectile function of patients with posterior urethral injuries due to pelvic fractures. MATERIALS AND METHODS Patients referred for posterior urethral reconstruction and strictures due to pelvic fractures were evaluated before reconstruction. All patients underwent nocturnal penile tumescence

testing, and if those results were abnormal, penile duplex ultrasound with intracavernous injection was performed. Patients with normal vascular function on duplex ultrasound were diagnosed with neurogenic erectile dysfunction. Those patients with abnormal arterial function on duplex ultrasound underwent arteriography to further define the extent and location of arterial damage. RESULTS The study included 25 consecutive patients with posterior urethral strictures and a mean age of 28.6 years. Of the patients 18 (72%.

There are several variants of vessel-sparing anastomotic operations (Jordan's method [25]) 10 patients underwent vessel sparing urethral reconstruction including 3 after radical prostatectomy, 6 following straddle trauma and 1 potentially with a congenital stricture. A plane was developed between the urethra and the proximal blood supply at the bulbospongiosum, allowing for division of the urethra without dividing the spongy tissue of the corpus spongiosum or the arteries to the bulb. Only 7 patients are presented for data analysis because the other 3 have not had sufficient followup to date. RESULTS Patient age range was 15 to 72 years (mean 47, alternative intraurethral anastomosis of Andrich – Mundy [7] and others) that prevent violations of the normal blood supply of the corpus spongiosum and successfully perform the reconstruction of the distal strictures of the urethra. These methods for their technical characteristics are limitedly applicable for lesions longer than 2–3 cm.

The presence of strictures of the distal urethra limits the use of anastomotic reconstruction. The effectiveness of one-stage or subsequent reconstruction is reduced due to a violation of the blood supply to the corpus spongiosum [28]. Particular attention is required to patients with congenital hypospadias due to more severe ischemic disorders of the blood supply of the bulbar urethra during its devascularization.

SUBSTITUTING URETHROPLASTICS

In addition to the anastomotic reconstruction, substitution urethroplasty is used. In cases where it is impossible to perform an anastomosing operation (with an extensive distraction defect, urethral strictures longer than 7 cm, or with ineffectiveness of the preceding anastomotic urethroplasty), it is recommended to do the flap or graft reconstruction [42].

The membrane of the urethra is not surrounded by feeding structures. It passes in the thickness of the muscles of the pelvic floor and consists of a gentle transitional epithelium. It is believed that the anastomotic reconstruction of the membranous urethra is preferable to graft replacement due to poor survival of the flaps on the muscular base [11] 22 urethral reconstructions were completed using a graft of buccal mucosa. Eighteen of 22 patients had previously failed hypospadias repairs, while three had bulbar urethral stricture and one had penile carcinoma. Grafts were taken from either the inner cheek or the lower lip, and seven were used as a combined graft. Onlay grafts were used in 6 cases and tubularized grafts in 16 cases. RESULTS Two patients developed complications at the donor site. Nine of 22 patients had complications of the urethroplasty-two had meatal stenosis, four developed a urethral fistula, and

three developed urethral stricture. All complications have been managed successfully to date. CONCLUSIONS Buccal mucosa is an excellent source of graft material for urethral replacement in complex urethroplasties. It is readily available, in abundant supply, and has physical properties beneficial to free graft survival.”; author: [“dropping-particle”:””; family:”Caldamone”; given:”A A”; non-dropping-particle”:””; parse-names”:false; suffix:””]; [“dropping-particle”:””; family:”Edstrom”; given:”L E”; non-dropping-particle”:””; parse-names”:false; suffix:””]; [“dropping-particle”:””; family:”Koyle”; given:”M A”; non-dropping-particle”:””; parse-names”:false; suffix:””]; [“dropping-particle”:””; family:”Rabinowitz”; given:”R”; non-dropping-particle”:””; parse-names”:false; suffix:””]; [“dropping-particle”:””; family:”Hulbert”; given:”W C”; non-dropping-particle”:””; parse-names”:false; suffix:””]; container-title:”Urology”; id:”ITEM-1”; issue:”5A Suppl”; issued: [“date-parts”: [“1998”; “5”]]; page:”15-9”; title:”Buccal mucosal grafts for urethral reconstruction.”; type:”article-journal”; volume:”51”; uris: [“http://www.mendeley.com/documents/?uuiid=e46c743a-f8ab-32b8-91b7-d53dcaa63798”]]; mendeley: {“formattedCitation”:”[11]”; plainTextFormattedCitation:”[11]”; previouslyFormattedCitation:”[9]”; properties: {“noteIndex”:0}; schema:”https://github.com/citation-style-language/schema/raw/master/csl-citation.json”}.

The experimental work performed on animals can be considered as an evidence against the hypothesis of poor engraftment of grafts on a muscular basis. The study established [3] that the survival rate of the buccal graft on the gallbladder of the penis is 93.4 %, on the muscle – 90.7 %, on fat – 81 %. Thus, the reason for the ineffectiveness of the replacement urethroplasty of the membranous part of the urethra is not the muscular basis for transplantation, but the disruption of normal blood supply in the surgery area and the use of tubularized grafts.

The creation of a urethral tube from a revascularized radial flap is technically complex and time-consuming [14, 48] particularly in patients who have had previous amputation for penile tumour or who have undergone gender reassignment. Many reconstructive techniques currently in use recreate the urethra but are prone to recurrent stricture formation and fail to achieve micturition with a good stream when standing. The authors propose using the radial forearm fasciocutaneous free flap as a single-stage technique of male urethral reconstruction. METHODS During 1999-2004, nine patients underwent microsurgical reconstruction of the male urethra using the radial forearm fasciocutaneous free flap. Three patients underwent urethral reconstruction following previous subcutaneous penectomy for penile cancer. Another six patients had urethral reconstruction performed after failure of primary urethra construction as part of their gender reassignment surgery. RESULTS The average age at the time of surgery was 35.1 yr (range: 22-55 yr. Indication for such an operation is the impossibility of repeated anastomosing or too long defect of the urethra for anastomosing [44]. This method is also widely used in the formation of a penoid.

Urethroplasty with a tubularized flap is performed from crotch access. The transplant is sewn circularly

on the urethral catheter with the proximal end fixed with a 3-0 thread. Then the transplant is cut along the length of the defect and anastomosed with the distal end of the urethra, beginning with the dorsal semicircle. This one-step approach leads to a high risk of relapse (about 50 %) [47] pedicled flap, free graft and complex urethral reconstruction are reported. New trends such as dorsal urethroplasty and the use of buccal mucosa are reviewed. SUMMARY Most urethral strictures can be managed successfully by urethral surgery. A wide spectrum of effective procedures is available. To obtain optimal results, adequate knowledge and experience of the most common techniques are required.”; author: [“dropping-particle”:””; family:”Pansadoro”; given:”Vito”; non-dropping-particle”:””; parse-names”:false; suffix:””]; [“dropping-particle”:””; family:”Emiliozzi”; given:”Paolo”; non-dropping-particle”:””; parse-names”:false; suffix:””]; container-title:”Current opinion in urology”; id:”ITEM-1”; issue:”3”; issued: [“date-parts”: [“2002”; “5”]]; page:”223-7”; title:”Which urethroplasty for which results?”; type:”article-journal”; volume:”12”; uris: [“http://www.mendeley.com/documents/?uuiid=fa620485-5aa7-3428-862d-0a698b904277”]]; mendeley: {“formattedCitation”:”[47]”; plainTextFormattedCitation:”[47]”; previouslyFormattedCitation:”[37]”; properties: {“noteIndex”:0}; schema:”https://github.com/citation-style-language/schema/raw/master/csl-citation.json”}.

Alternative methods of substitution urethroplasty: combined tissue transfer (for example, dorsal transbulbar transplantation in combination with a ventral flap in one stage), combined dorsal and ventral transplants (Asopa [8] and an elliptical raw area was created over the tunica on which a free full-thickness graft of preputial or buccal mucosa was secured. The urethra was retubularized in one stage. RESULTS After a follow-up of 8 to 40 months, one recurrence developed and required dilation. CONCLUSIONS The ventral sagittal urethrotomy approach for dorsal free graft urethroplasty is not only feasible and successful, but is easy to perform.”; author: [“dropping-particle”:””; family:”Asopa”; given:”H S”; non-dropping-particle”:””; parse-names”:false; suffix:””]; [“dropping-particle”:””; family:”Garg”; given:”M”; non-dropping-particle”:””; parse-names”:false; suffix:””]; [“dropping-particle”:””; family:”Singhal”; given:”G G”; non-dropping-particle”:””; parse-names”:false; suffix:””]; [“dropping-particle”:””; family:”Singh”; given:”L”; non-dropping-particle”:””; parse-names”:false; suffix:””]; [“dropping-particle”:””; family:”Asopa”; given:”J”; non-dropping-particle”:””; parse-names”:false; suffix:””]; [“dropping-particle”:””; family:”Nischal”; given:”A”; non-dropping-particle”:””; parse-names”:false; suffix:””]; container-title:”Urology”; id:”ITEM-1”; issue:”5”; issued: [“date-parts”: [“2001”; “11”]]; page:”657-9”; title:”Dorsal free graft urethroplasty for urethral stricture by ventral sagittal urethrotomy approach.”; type:”article-journal”; volume:”58”; uris: [“http://www.mendeley.com/documents/?uuiid=24e61b2a-a140-39c9-911f-68ac37d33afe”]]; mendeley: {“formattedCitation”:”[8]”; plainTextFormattedCitation:”[8]”; previouslyFormattedCitation:”[14]”; properties: {“noteIndex”:0}; schema:”https://github.com/citation-style-language/schema/raw/master/csl-citation.json”}.

com/citation-style-language/schema/raw/master/csl-citation.json"}, Barbagli, Kulkarni methods). The effectiveness of similar methods of replacement of the BMP plasticity varies greatly, reaching 92.9 % ($n = 14$) [19] [ISSN:"1699-7980"; PMID:"24948356"; abstract:"INTRODUCTION Urethroplasty with oral mucosa grafting is the most popular technique for treating nontraumatic bulbar urethral strictures; however, cases involving the membranous portion are usually treated using progressive perineal anastomotic urethroplasty. We assessed the feasibility of performing dorsal (or ventral. The limitation is the dissection of vessels and nerves, analogous to anastomotic methods, which can (30 % chance) lead to impaired erectile function or urinary incontinence [10].

Intraurethral replacement plastic [56]21 ANTA, described in 2012, is one of the most complex of substitute urethroplasty methods. This technique is performed with strictures of the proximal part of the bulbar urethra. In the BMP of the urethra this method is not applicable.

Rarer techniques such as endoscopic urethroplasty with a skin or mucosal flap with different fixation mechanisms have the advantage of being less invasive, but not sufficiently studied to talk about their success. Preliminary data are contradictory – the effectiveness was from 54.5 to 80 % [17, 31] endoscopic antegrade urethroplasty was performed in 11 patients with recurrent vesicourethral anastomotic strictures that developed after retropubic radical prostatectomy (RRP).

The most promising new method for the reconstruction of the posterior urethra is tissue-engineering surgery [16, 53] re-epithelialization, and remodeling that are limited by the size of the defect. Scar formation occurs because of an inability of native cells to regenerate over the defect before fibrosis takes place. We investigated the maximum potential distance of normal native tissue regeneration over a range of distances using acellular matrices for tubular grafts as an experimental model. MATERIALS AND METHODS Tubularized urethroplasties were performed in 12 male rabbits using acellular matrices of bladder submucosa at varying lengths (0.5, 1, 2, and 3 cm. In a pilot study [49] published in 2011, the results of the replacement of the BMP of the urethra in 10–14 year old boys with the use of tissue-engineered tubular flaps were analyzed. With a median follow-up of 71 months, the efficacy was 100 %. Similar results claim a new “gold standard” of assistance after a multicenter study [55].

CONCLUSION

Based on the review of currently used methods for treating of strictures of the BMP of the urethra, it is possible to draw a number of conclusions. First, DVIU is ineffective and dangerous operation, which can worsen the results of subsequent treatment and make the disease more difficult. Secondly, there is a significant group of patients for whom the performance of anastomotic reconstruction can lead to negative consequences due to damage to anatomical perineal structures (perineal muscles, urethral sphincter, vessels and nerves of the urethra and penis). Third, the methods of traditional substitution urethroplasty are inferior in effectiveness to anastomotic reconstructions, or are not available in

everyday urological practice for technical reasons (tissue-engineering surgery).

In summary, the stricture of the BMP of the urethra is a rare, but extremely urgent and dangerous pathology. The given conclusion is caused by technical complexity, low efficiency and heavy consequences of existing methods of treatment.

Thus, there is a need to develop a different, more effective method of helping patients with strictures of BMP of the urethra, the proximal part of the bulbar urethra or stenoses of anastomoses in the posterior urethra.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Transparency of the research

The study had no sponsorship. Researchers are fully responsible for providing the final version of the manuscript for publication.

Declaration on financial and other interactions

All authors participated in the development of the concept and design of the study and in the writing of the manuscript. The final version of the manuscript was approved by all authors. The authors did not receive a fee for the study.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Коган М.И., Митусов В.В., Красулин В.В., Шангичев А.В., Глухов В.П., Аметов Р.Э., Митусова Е.В. Внутренняя оптическая уретротомия при стриктурной болезни уретры усложняет последующую реконструктивную операцию // Урология. – 2012. – № 3. – С. 27–30.
2. Kogan MI, Mitusov VV, Krasulin VV, Shangichev AV, Glukhov VP, Ametov RE, Mitusova EV. (2012). Internal optical urethrotomy in stricture of the urethra complicates the subsequent reconstructive surgery [Vnutrennyaya opticheskaya uretrotomiya pri strikturnoy bolezni uretry uslozhnyayet posleduyushchuyu rekonstruktivnuyu operatsiyu]. *Urologiya*, (3), 27-30.
3. Лоран О.Б., Велиев Е.И., Котов С.В., Беломытцев С.В. Выбор оптимального свободного лоскута для заместительной уретропластики при протяжённых стриктурах уретры // Урология. – 2011. – № 4. – С. 11–16.
4. Lorán OB, Veliev EI, Kotov SV, Belomyttsev SV. (2011). Choice of an optimal free graft for replacement urethroplasty in extensive urethral strictures [Vybor optimal'nogo svobodnogo loskuta dlya zamestitel'noy uretropolitiki pri protyazhennykh strikturakh uretry]. *Urologiya*, (4), 11-16.
5. Котов С.В. Стриктуры уретры у мужчин – современное состояние проблемы // Медицинский вестник Башкортостана. – 2015. – Т. 10, № 3. – С. 266–270.
6. Kotov SV. (2015). Structures of the urethra in men – the current state of the problem [Striktury uretry u muzhchin – sovremennoe sostoyanie problemy]. *Meditinskij vestnik Bashkortostana*, 10 (3), 266-270.
7. Мартов А.Г., Ергаков Д.В., Фахрединов Г.А., Дутов В. Опыт длительного применения уретрального стента при рецидивной стриктуре мочеиспускательного канала // Урология. – 2010. – № 5. – С. 72–73.
8. Martov AG, Ergakov DV, Fakhredinov GA, Dutov V. (2010). Experience in the long-term use of the urethral

stent in recurrent urethral stricture [Opyt dlitel'nogo primeneniya uretral'nogo stenta pri retsidivnoy strikture mocheispuskatel'nogo kanala]. *Urologiya*, (5), 72-73.

5. Мартов А.Г., Фахрединов Г.А., Максимов В.А., Корниенко С.И., Ергаков Д.В. Осложнения и неудачи трансуретральных операций на мочеиспускательном канале // Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии Минздрава России. – 2011. – Т. 2, № 11. – С. 18.

Martov AG, Fakhredinov GA, Maksimov VA, Kornienko SI, Ergakov DV. (2011). Complications and failures of transurethral operations on the urethra [Oslozheniya i neudachi transuretral'nykh operatsiy na mocheispuskatel'nom kanale]. *Vestnik Rossiyskogo nauchnogo tsentra rentgenoradiologii Minzdrava Rossii*, 2 (11), 18.

6. Afridi NG, Khan M, Nazeem S, Hussain A, Ahmad S, Aman Z. (2010). Intermittent urethral self dilatation for prevention of recurrent stricture. *J Postgrad Med Inst*, 24 (3), 239-243.

7. Andrich DE, Mundy AR. (2012). Non-transecting anastomotic bulbar urethroplasty: a preliminary report. *BJU Int*, 109 (7), 1090-1094. DOI: 10.1111/j.1464-410X.2011.10508.x

8. Asopa HS, Garg M, Singhal GG, Singh L, Asopa J, Nischal A. (2001). Dorsal free graft urethroplasty for urethral stricture by ventral sagittal urethrotomy approach. *Urology*, 58 (5), 657-659.

9. Bahouth Z, Meyer G, Yildiz G, Nativ O, Moskovitz B. (2016). Update in urethral stents. *Arch Esp Urol*, 69 (8), 601-606.

10. Blakely S, Caza T, Landas S, Nikolavsky D. (2016). Dorsal Onlay Urethroplasty for Membranous Urethral Strictures: Urinary and Erectile Functional Outcomes. *J Urol*, 195 (5), 1501-7. doi: 10.1016/j.juro.2015.11.028

11. Caldamone AA, Edstrom LE, Koyle MA, Rabonowitz R, Hulbert WC. (1998). Buccal mucosal grafts for urethral reconstruction. *Urology*, 51 (5A suppl), 15-19.

12. Cooperberg MR, McAninch JW, Alsikafi NF, Elliott SP. (2007). Urethral reconstruction for traumatic posterior urethral disruption: outcomes of a 25-year experience. *J Urol*, 178 (5), 2006-2010.

13. Corriere JN. (2001). 1-Stage delayed bulboprosthetic anastomotic repair of posterior urethral rupture: 60 patients with 1-year follow-up. *J Urol*, 165 (2), 404-407.

14. Dabernig J, Shelley OP, Cuccia G, Schaff J. (2007). Urethral reconstruction using the radial forearm free flap: experience in oncologic cases and gender reassignment. *Eur Urol*, 52 (2), 547-553.

15. El Darawany HM. (2017). When to remove the urethral catheter after endoscopic realignment of traumatic disruption of the posterior urethra? *Prog Urol*, 27 (11), 594-599. DOI: 10.1016/j.purol.2017.06.006

16. Dorin RP, Pohl HG, De Filippo RE, Yoo JJ, Atala A. (2008). Tubularized urethral replacement with unseeded matrices: what is the maximum distance for normal tissue regeneration? *World J Urol*, 26 (4), 323-326. DOI:10.1007/s00345-008-0316-6

17. Farahat YA, Elbahnasy AM, El-Gamal OM, Ramadan AR, El-Abd SA, Taha MR. (2009). Endoscopic urethroplasty using small intestinal submucosal patch in cases of recurrent urethral stricture: a preliminary study. *J Endourol*, 23 (12), 2001-2005. DOI: 10.1089/end.2009.0074

18. Flynn BJ, Delvecchio FC, Webster GD. (2003). Perineal repair of pelvic fracture urethral distraction defects: experience in 120 patients during the last 10 years. *J Urol*, 170 (5), 1877-1880.

19. Gimbernat H, Arance I, Redondo C, Meilán E, Andrés G, Angulo JC. (2014). Treatment for long bulbar urethral strictures with membranous involvement using urethroplasty with oral mucosa graft. *Actas Urol Esp*, 38 (8), 544-51. DOI: 10.1016/j.acuro.2014.04.001

20. Hafez AT, El-Assmy A, Dawaba MS, Sarhan O, Bazeed M. (2005). Long-term outcome of visual internal urethrotomy for the management of pediatric urethral strictures. *J Urol*, 173 (2), 595-7. DOI: 10.1097/01.ju.0000151339.42841.6e

21. Herschorn S, Elliott S, Coburn M, Wessells H, Zinman L. (2014). SIU/ICUD Consultation on Urethral Strictures: Posterior urethral stenosis after treatment of prostate cancer. *Urology*, 83 (3 Suppl), S59-70. DOI: 10.1016/j.urol.2013.08.036

22. Hudak SJ, Atkinson TH, Morey AF. (2012). Repeat transurethral manipulation of bulbar urethral strictures is associated with increased stricture complexity and prolonged disease duration. *J Urol*, 187 (5), 1691-1695. DOI: 10.1016/j.juro.2011.12.074

23. Husmann DA, Rathbun SR. (2006). Long-term follow-up of visual internal urethrotomy for management of short (less than 1 mm) penile urethral strictures following hypospadias repair. *J Urol*, 176 (4), 1738-1741. DOI: 10.1016/S0022-5347(06)00617-3

24. Jordan GH, Eltahawy EA, Virasoro R. (2007). The technique of vessel sparing excision and primary anastomosis for proximal bulbous urethral reconstruction. *J Urol*, 177 (5), 1799-1802.

25. Jordan GH, Wessells H, Secrest C, Squadrito Jr JF, McAninch JW, Levine L, Van Der Burght M. (2013). Effect of a temporary thermo-expandable stent on urethral patency after dilation or internal urethrotomy for recurrent bulbar urethral stricture: Results from a 1-year randomized trial. *J Urol*, 190 (1), 130-136. DOI: 10.1016/j.juro.2013.01.014

26. Katz G, Shapiro A, Pode D. (1994). Obstruction of urethral stents by mucosal overgrowth. *J Endourol*, 8 (1), 73-74.

27. Khan S, Khan RA, Ullah A, ul Haq F, ur Rahman A, Durrani SN, Khan MK. (2011). Role of clean intermittent self catheterisation (CISC) in the prevention of recurrent urethral strictures after internal optical urethrotomy. *J Ayub Med Coll Abbottabad*, 23 (2), 22-25

28. Kitrey ND, Djakovic N, Gonsalves M, Kuehhas FE, Lumen N, Serafetinidis E, Sharma DM, Summerton DJ. (2017). Urological trauma. EAU Guidelines. European Association of Urology. Available at: <http://uroweb.org/guideline/urological-trauma>.

29. Koraitim MM. (2015). Optimising the outcome after anastomotic posterior urethroplasty. *Arab J Urol*, 13 (1), 27-31. doi: 10.1016/j.aju.2014.12.006

30. Kumar S, Kapoor A, Ganesamoni R, Nanjappa B, Sharma V, Mete UK. (2012). Efficacy of holmium laser urethrotomy in combination with intralesional triamcinolone in the treatment of anterior urethral stricture. *Korean J Urol*, 53 (9), 614-618

31. Kuyumcuoglu U, Eryildirim B, Tarhan F, Faydaci G, Ozgül A, Erbay E. (2010). Antegrade endourethroplasty

- with free skin graft for recurrent vesicourethral anastomotic strictures after radical prostatectomy. *J Endourol*, 24 (1), 63-67. DOI: 10.1089/end.2009.0076
32. Launonen E, Sairanen J, Ruutu M, Taskinen S. (2014). Role of visual internal urethrotomy in pediatric urethral strictures. *J Pediatr Urol*, 10 (3), 545-549. DOI: 10.1016/j.jpuro.2013.11.018
33. Leddy LS, Vanni AJ, Wessells H, Voelzke BB. (2012). Outcomes of endoscopic realignment of pelvic fracture associated urethral injuries at a level 1 trauma center. *J Urol*, 188 (1), 174-178. DOI: 10.1016/j.juro.2012.02.2567
34. Levine J, Wessells H. (2001). Comparison of open and endoscopic treatment of posttraumatic posterior urethral strictures. *World J Surg*, 25 (12), 1597-1601.
35. Lubahn JD, Zhao LC, Scott JF, Hudak SJ, Chee J, Terlecki R, Breyer B, Morey AF. (2014). Poor quality of life in patients with urethral stricture treated with intermittent self-dilation. *J Urol*, 191(1), 143-147. DOI: 10.1016/j.juro.2013.06.054
36. Mark SD, Keane TE, Vandemark RM, Webster GD. (1995). Impotence following pelvic fracture urethral injury: incidence, aetiology and management. *Br J Urol*, 75 (1), 62-64. DOI: 10.1111/j.1464-410X.1995.tb07234.x
37. Morris BJ, Krieger JN. (2017). Re: Cultural background, non-therapeutic circumcision and the risk of meatal stenosis and other urethral stricture disease: Two nationwide register-based cohort studies in Denmark 1977-2013. *Surgeon*, 16 (2), 126-129. DOI: 10.1016/j.surge.2017.08.001
38. Moudouni SM, Patard JJ, Manunta A, Guiraud P, Lobel B, Guillé F. (2001). Early endoscopic realignment of post-traumatic posterior urethral disruption. *Urology*, 57 (4), 628-632.
39. Mouraviev VB, Coburn M, Santucci RA. (2005). The treatment of posterior urethral disruption associated with pelvic fractures: comparative experience of early realignment versus delayed urethroplasty. *J Urol*, 173 (3), 873-876.
40. Mundy AR. (1996). Urethroplasty for posterior urethral strictures. *Br J Urol*, 78 (2), 243-247.
41. Mundy AR, Andrich DE. (2011). Urethral strictures. *BJU Int*, 107 (1), 6-26. DOI: 10.1111/j.1464-410X.2010.09800.x
42. Mundy AR, Andrich DE. (2011). Urethral trauma. Part II: Types of injury and their management. *BJU Int*, 108 (5), 630-650. DOI: 10.1111/j.1464-410X.2011.10340.x
43. Murthy PV, Gurunadha Rao TH, Srivastava A, Sitha Ramaiah K, Ramamurthy N, Sasidharan K. (1997). Self-dilatation in urethral stricture recurrence. *Indian J Urol*, 14 (1), 33-35.
44. Ozkan O, Ozkan O. (2009). The prefabricated pedicled anterolateral thigh flap for reconstruction of a full-thickness defect of the urethra. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 62 (3), 380-384. DOI: 10.1016/j.bjps.2008.03.065
45. Palminteri E, Berdondini E, Verze P, De Nunzio C, Vitarelli A, Carmignani L. (2013). Contemporary urethral stricture characteristics in the developed world. *Urology*, 81 (1), 191-196. DOI: 10.1016/j.urology.2012.08.062
46. Pansadoro V, Chapple C, Barbagli G, Jordan G, Mundy AR, Rodrigues-Netto N, McAninch JW. (2004). Consensus statement on urethral trauma. *BJU Int*, 93 (9), 1195-1202. DOI: 10.1111/j.1464-410X.2004.04805.x
47. Pansadoro V, Emiliozzi P. (2002). Which urethroplasty for which results? *Curr Opin Urol*, 12 (3), 223-227.
48. Rashid M, Sarwar SU. (2005). Avulsion injuries of the male external genitalia: classification and reconstruction with the customised radial forearm free flap. *Br J Plast Surg*, 58 (5), 585-592. DOI: 10.1016/j.bjps.2004.12.014
49. Raya-Rivera A, Esquiliano DR, Yoo JJ, Lopez-Bayghen E, Soker S, Atala A. (2011). Tissue-engineered autologous urethras for patients who need reconstruction: an observational study. *Lancet*, 377 (9772), 1175-1782. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)62354-9
50. Santucci R, Eisenberg L. (2010). Urethrotomy has a much lower success rate than previously reported. *J Urol*, 183 (5), 1859-1862. DOI: 10.1016/j.juro.2010.01.020
51. Santucci RA, Joyce GF, Wise M. (2007). Male urethral stricture disease. *J Urol*, 177 (5), 1667-1674.
52. Santucci RA, Mario LA, McAninch JW. (2002). Anastomotic urethroplasty for bulbar urethral stricture: analysis of 168 patients. *J Urol*, 167 (4), 1715-1719.
53. Sarkar S, Schmitz-Rixen T, Hamilton G, Seifalian AM. (2007). Achieving the ideal properties for vascular bypass grafts using a tissue engineered approach: a review. *Med Biol Eng Comput*, 45 (4), 327-336. DOI: 10.1007/s11517-007-0176-z
54. Shenfeld OZ, Kiselgorf D, Gofrit ON, Verstandig AG, Landau EH, Pode D, Jordan GH, McAninch JW. (2003). The incidence and causes of erectile dysfunction after pelvic fractures associated with posterior urethral disruption. *J Urol*, 169 (6), 2173-2176.
55. Sievert KD. (2011). The next step in urethral reconstruction. *Lancet*, 377 (9772), 1130-1131. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)60312-7
56. Welk BK, Kodama RT. (2012). The augmented nontransected anastomotic urethroplasty for the treatment of bulbar urethral strictures. *Urology*, 79 (4), 917-921.
57. Zehri AA, Ather MH, Afshan Q. (2009). Predictors of recurrence of urethral stricture disease following optical urethrotomy. *Int J Surg*, 7 (4), 361-364. DOI: 10.1016/j.ijsu.2009.05.010

Information about the authors

Vorobev Vladimir Anatolievich – Urologist, Irkutsk City Clinical Hospital N 1 (664046, Irkutsk, ul. Baykalskaya, 118; e-mail: terdenecer@gmail.com) © <https://orcid.org/0000-0002-3299-1924>

Beloborodov Vladimir Anatolyevich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of General Surgery, Irkutsk State Medical University (664003, Irkutsk, ul. Krasnogo Vosstaniya, 1, tel. (3952) 70-37-29; e-mail: bva555@yandex.ru)

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

DOI: 10.29413/ABS.2018-3.5.18

УДК 57:550.386.6

Баженов А.А.^{1,2}, Прикоп М.В.^{1,2}, Аверина А.С.¹, Суховская В.В.³, Ухова А.В.¹

Отклик биологических систем на геомагнитные возмущения *

¹ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет»
(664011, г. Иркутск, ул. Нижняя Набережная, 6, Россия)

² ООО «Аксиум»
(664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 289, Россия)

³ Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России
(664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

К настоящему моменту накоплен огромный массив данных, свидетельствующий о влиянии слабых магнитных полей, связанных с солнечной и геомагнитной активностью, на биологические системы разного уровня. Известно, что геомагнитные возмущения наряду с параметрами земной погоды (температура окружающей среды, влажность воздуха, атмосферное давление и т.п.) оказывают воздействие на физиологические показатели организма человека, развитие сердечно-сосудистых патологий, нервных и психических заболеваний. В то же время механизмы воздействия, с помощью которых геомагнитные поля влияют на биологические системы, в том числе человека, остаются не ясны. Одним из подходов, позволяющим сузить поиск механизмов, условий максимальной биотропности геомагнитных возмущений, может служить сравнительное исследование динамики разных биологических показателей, проявляющих чувствительность к влиянию геомагнитных полей. При этом усиление исследований будет являться дополнительным включением в анализ характеристик (показывающих чувствительность к геомагнитным полям) биообъектов, которые находятся в контролируемых лабораторных условиях. В рамках данного подхода, на предмет связи с вариациями магнитного поля Земли нами были исследованы: динамика количества выездов скорой медицинской помощи в г. Иркутске по диагнозам острый инфаркт миокарда, инфаркт мозга; количество спонтанной родовой деятельности. В качестве показателя, полученного в контролируемых условиях, бралась динамика двигательной активности лабораторных популяций *Drosophila melanogaster*. Результаты исследований подтвердили чувствительность выбранных характеристик к геомагнитным возмущениям. Кроме того, были обнаружены различия в количестве выездов скорой помощи и проявлении активности групп особей плодовой мушки во время магнитных бурь в зависимости от пола.

Ключевые слова: геомагнитные возмущения, биологические системы, механизм воздействия, скорая медицинская помощь, пол

Для цитирования: Баженов А.А., Прикоп М.В., Аверина А.С., Суховская В.В., Ухова А.В. Отклик биологических систем на геомагнитные возмущения. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 126-131, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.18.

Response of Biological Systems to Geomagnetic Storms

Bazhenov A.A.^{1,2}, Prikop M.V.^{1,2}, Averina A.S.¹, Sukhovskaya V.V.³, Ukhova A.V.²

¹ Irkutsk State University
(ul. Nizhnyaya Naberezhnaya 6, Irkutsk 664011, Russian Federation)

² ООО Aksium
(ul. Lermontova 289, Irkutsk 664033, Russian Federation)

³ Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education –
Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education
(Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

At present, influence of weak magnetic fields associated with solar and geomagnetic activity on biological systems is gaining more interest. Taking into account the accumulated data on the influence of geomagnetic storms on different biological levels, it is obvious that the mechanism of influence is universal. One of the approaches in this search may be the study of patterns and differences in the response to geomagnetic storms of various biological objects. As a research material served: data on the number of ambulance calls in the city of Irkutsk for acute myocardial infarction, cerebral infarction; results of retrospective analysis of the number of spontaneous parturition of the city of Irkutsk; data on the motion activity of fruit fly *Drosophyla melanogaster*, obtained by automated monitoring. The investigated indicators

* Статья опубликована на основании доклада на III Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, октябрь, 2018).

were compared with the parameters of geomagnetic activity at different time scales. As indicators of geomagnetic storms, three-hour (ap) and daily (Ap) equal to the average amplitude of variation of the geomagnetic field of the Earth. In the case of comparing the motion activity of fruit flies with magnetic storms, the local companions of the Earth's magnetic field were additionally considered according to the data of the Irkutsk magnetic observatory. As a result of the conducted studies it was established that the detected response of biological systems depends on the characteristics of the state of the Earth's magnetic field, which falls on the period of passage of magnetic storms. The obtained data also indicate possible gender differences in the response to the effects of the geomagnetic factor by organisms of different levels.

Key words: geomagnetic disturbances, biological systems, impact mechanism, emergency medical care

For citation: Bazhenov A.A., Prikop M.V., Averina A.S., Sukhovskaya V.V., Ukhova A.V. Response of Biological Systems to Geomagnetic Storms. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 126-131, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.18.

На биологические системы действует множество экзогенных факторов: атмосферное давление, температура, влажность воздуха, социальные факторы, условия существования и ряд других экологических показателей. Одно из важных мест среди них занимают геомагнитные возмущения, связанные с активностью Солнца.

Влияние геомагнитных возмущений, относящихся к слабым воздействиям, прослеживается на разных биологических системах [3], в том числе человеке. Известны факты о связи заболеваний и функционального состояния некоторых показателей сердечно-сосудистой системы, нервных и психических заболеваний с геомагнитными возмущениями [2, 11, 14, 17, 20]. В последнее время всё больше встречается работ, указывающих на возможную зависимость неблагоприятного состояния плода у беременных женщин или патологии при рождении [7, 13] с гелиогеофизическими параметрами.

Таким образом, можно утверждать, что к настоящему моменту накоплен огромный массив информации, свидетельствующий о влиянии вариаций магнитного поля Земли на биологические системы и здоровье человека. Однако недостаточная изученность и дискуссионность многих вопросов, касающихся воздействия возмущений магнитного поля Земли, начиная от неопределённости механизмов и мишени воздействия, до проблемы воспроизводимости результатов, требует проведения дополнительных исследований. При этом акцент последних смещается от накопления доказательств геомагнитного влияния к поиску механизмов их воздействия [15, 19]. Важным этапом могут явиться уточняющие исследования, в частности, изучение таких влияний в зависимости от условий среды обитания, географической широты [8, 9, 12], состояния самой биологической системы и т.д.; а также изучение различий и общих закономерностей адаптационной ответной реакции для систем разного уровня, разной таксономической принадлежности.

В рамках данных направлений одним из подходов изучения связи показателей человеческого организма с вариациями геомагнитной активности является использование биологических объектов, которые характеризуются простотой и доступностью для проведения магнитобиологических экспериментов и наблюдений. К таким биообъектам относится плодовая мушка *Drosophila melanogaster*, не только отличающаяся чувствительностью к магнитным полям [18, 21, 22], но и не раз зарекомендовавшая себя в медико-биологических исследованиях [16, 23, 24].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Поиск возможных закономерностей (различий) в ответной реакции биологических систем различного уровня (поведенческая активность *Drosophila melanogaster*, приступы острого инфаркта миокарда (ОИМ) и инфаркта мозга у пациентов, наступление спонтанной родовой деятельности) на геомагнитные возмущения в условиях проявления наибольшей биотропности магнитных бурь.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалами для исследования послужили:

а) ежедневные данные количества вызовов скорой помощи в г. Иркутске по диагнозам острый инфаркт миокарда и инфаркт мозга за период с 1.01.2007 г. по 31.12.2010 г. Всего был проанализирован 1461 день, 2729 случаев острого инфаркта миокарда и 9906 случаев инфаркта мозга. В качестве дополнительных параметров рассматривался пол и возраст обратившихся пациентов.

б) результаты ретроспективного анализа количества спонтанных родов в Областном перинатальном центре ГБУЗ Иркутской области «Знак почёта» областной клинической больницы (ОПЦ ГБУЗ «ИОКБ») за период с 1 января по 31 мая 2013 г.

в) динамика двигательной активности лабораторной популяции *Drosophila melanogaster*, полученная по результатам автоматизированного мониторинга за двигательной активностью лабораторной популяции *Drosophila melanogaster* в г. Иркутске, проходящем при круглосуточном освещении с поддержанием постоянной температуры +25 °C [5].

В работе соблюдали этические принципы, предьявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2013 ред.)).

В качестве показателя геомагнитной активности использовался трёхчасовой (ap) и суточный (Ap) индекс, равный средней амплитуде вариации геомагнитного поля по земному шару. Дополнительно при рассмотрении геомагнитных бурь с учётом имеющих минутных значений двигательной активности плодовых мушек использовались аналогичные по временному разрешению значения горизонтальной (H) и вертикальной (Z) компонент вектора геомагнитного поля по данным Иркутской магнитной обсерватории ИСЗФ РАН (IRT 52°17' с. ш. 104°45' в. д.).

Сведения об уровне геомагнитной активности были получены из базы Центра прогнозирования космической погоды при Национальном управлении

по исследованию океанов и атмосферы США (NOAA, <http://www.ngdc.noaa.gov>), о компонентах вектора геомагнитного поля – из мировой сети обсерваторий, осуществляющих мониторинг магнитного поля Земли (INTERMAGNET, <http://www.intermagnet.org>).

Отметим, что кроме параметров магнитного поля Земли учитывались метеорологические показатели.

Статистический анализ проводился с помощью пакета программ STATISTICA 6.0 и STATGRAPHICS Plus. Для поиска взаимосвязи между исследуемыми временными рядами использовался корреляционный и кросскорреляционный анализы. Для сравнения средних значений выборок использовался t-критерий Стьюдента. В случае данных, распределение которых отличалось от нормального, статистическую значимость различий между показателями определяли по U-критерию Манна – Уитни. Проверка на нормальность распределения осуществлялась с помощью критерия Колмогорова – Смирнова.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты корреляционного анализа показали наличие достоверной положительной корреляционной связи для количества выездов скорой помощи по исследуемым диагнозам с Ар индексом. В случае обращения пациентов с ОИМ коэффициент корреляции равен 0,07 ($p < 0,01$). В случае обращения пациентов с инфарктом мозга коэффициент составил 0,12 ($p < 0,001$). Необходимо отметить что, несмотря на достоверность, низкие значения коэффициентов корреляции указывают на слабость связи между количеством выездов скорой помощи и вариацией геомагнитного поля. Причиной этому может служить большая протяжённость изучаемых временных рядов, что, несомненно, повышает статистическую значимость оценок доверительных интервалов, однако с учётом сложности биологических процессов, усиления вероятности проявления на больших промежутках времени влияния других факторов и т.д. снижает значение коэффициента корреляции исследуемых параметров, его практическую значимость.

Одним из возможных способов преодоления данной трудности является разделение «основных временных рядов» на ряды с более коротким временным промежутком и их дальнейшее изучение (с обязательным учётом результатов корреляционного анализа для «основных рядов»). Такой подход использовался в предыдущих работах авторов [1] при первоначальном изучении динамики количества выездов скорой помощи по диагнозам ОИМ и инфаркт мозга в г. Иркутске. Результаты этого изучения показали, что основной массив коэффициентов корреляции оставался в пределах значений, характеризующих слабую связь. Вероятной причиной (наряду с перечисленными выше для «основных рядов») могла явиться нелинейность связи между количеством выездов скорой помощи и геомагнитной активностью, ограничивающая (совместно с причинами для «основных рядов») применение классического корреляционного метода в дальнейшей детализации условий чувствительности биологических систем к влиянию геомагнитного фактора и поиску его механизмов. Поэтому в настоящей работе были использованы дополнительные к корреляционному методы анализа данных. Один из которых заключался в распределении количества выездов скорой помощи в зависимости от состояния магнитного поля Земли. Данный метод показал, что число выездов скорой помощи к пациентам во время геомагнитных бурь ($ar \geq 39$) по сравнению со спокойным состоянием геомагнитного поля ($ar < 22$) возрастало: для ОИМ – на 14,69 %, для инфаркта мозга – на 7,79 %. Однако в последнем случае различия не были достоверны.

Возрастание количества выездов скорой помощи по диагнозу ОИМ во время геомагнитных бурь происходило за счёт увеличения числа инфарктов у мужчин (рис. 1). Так, количество выездов скорой помощи к мужчинам во время геомагнитных бурь увеличивалось на 24,49 % по сравнению со спокойным состоянием магнитосферы. Для женщин показатели выездов скорой помощи во время прохождения магнитных бурь и спокойным состоянием практически

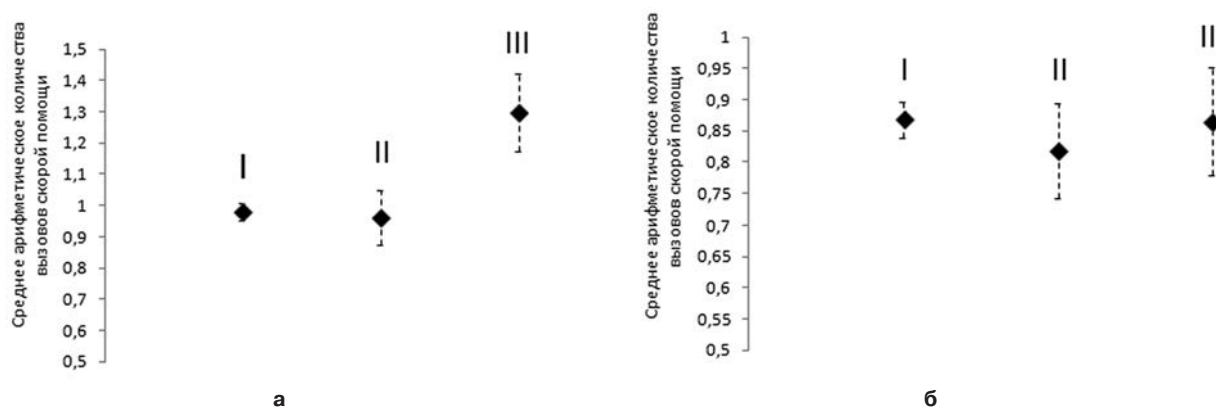


Рис. 1. Среднее значение количества вызовов скорой помощи, связанных с острым инфарктом миокарда, в зависимости от возмущения геомагнитного поля: **а** – мужчины; **б** – женщины; I – спокойное состояние геомагнитного поля ($ar < 22$); II – возмущённое состояние ($22 < ar < 39$); III – магнитная буря ($ar \geq 39$).

Fig. 1. The average value of the number of ambulance calls associated with acute myocardial infarction, depending on the geomagnetic field perturbation: **а** – men; **б** – women; I – quiet state of the geomagnetic field ($ar < 22$); II – disturbed state ($22 < ar < 39$); III – magnetic storm ($ar \geq 39$).

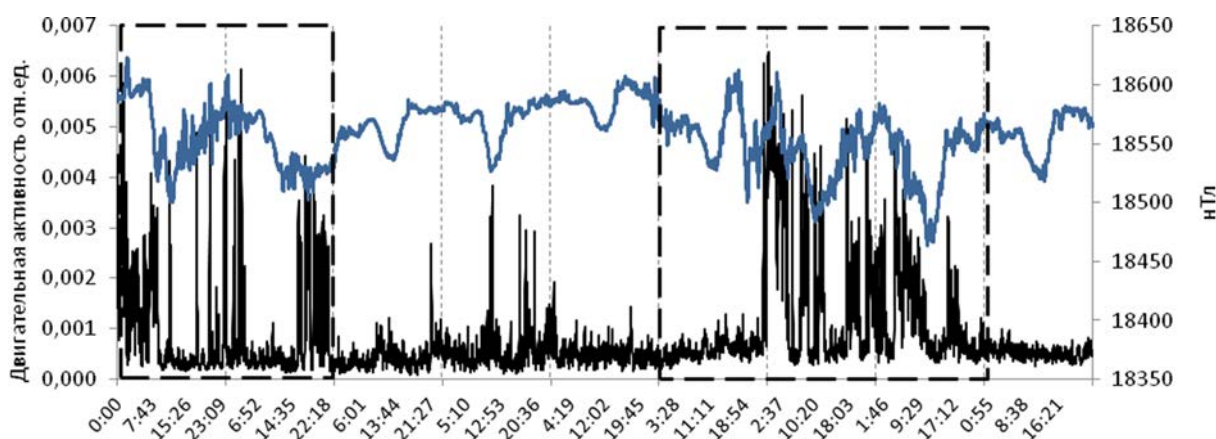


Рис. 2. Динамика двигательной активности плодовых мушек и значений горизонтальной (H) компоненты вектора геомагнитного поля по данным Иркутской магнитной обсерватории за период с 10.04.2015 г. по 18.04.2015 г. включительно. I – горизонтальная компонента ГМП; II – двигательная активность. Жирной пунктирной линией выделены участки возмущённого состояния геомагнитного поля, магнитных бурь.

Fig. 2. Dynamics of the motion activity of fruit flies and the values of the horizontal (H) component of the geomagnetic field vector from the data of the Irkutsk Magnetic Observatory for the period from 10.04.2015 to 18.04.2015. I – horizontal component of GMF; II – motion activity. Bold black dashed line identifies areas of the geomagnetic storms.

не менялись. Очевидно такие различия связаны с особенностями протекания и симптоматикой [4, 6] инфаркта миокарда у мужчин и женщин.

В случае с показателями родовой деятельности, несмотря на отмеченную связь количества спонтанных срочных родов с геомагнитной активностью, по данным кросскорреляционного анализа, пик кросскорреляционной кривой ($r = 0,43, p < 0,05$) приходится на 3-й день после бури (лаг +3)), говорить о её зависимости от состояния магнитного поля в связи с малой величиной анализируемого периода преждевременно.

Результаты исследования динамики поведения *Drosophila melanogaster* на предмет возможного влияния геомагнитного фактора показали наличие связи между параметрами вариаций магнитного поля Земли и активностью изучаемых биообъектов, проявление которой, как и в случае с показателями медицинской статистики, зависит от уровня геомагнитной возмущённости. Так, при сравнении общих рядов активности мушек с Ар индексом, достоверной корреляционной связи обнаружено не было. Однако рассмотрение каждого опыта в отдельности с более высоким временным разрешением позволило выявить отклик особей *Drosophila melanogaster* на геомагнитные возмущения, подтверждённый наличием достоверных коэффициентов корреляции ($p < 0,05$), приходящихся на опыты, во время проведения которых были зарегистрированы геомагнитные бури. При этом дополнительный анализ временных рядов двигательной активности в минутном временном масштабе позволил обнаружить в динамике поведения плодовых мушек резкое скачкообразное повышение уровня их активности (рис. 2), появление которого совпадало с периодом регистрации магнитных бурь [10]. Важно отметить, что такое поведение было присуще в основном для групп самцов, нежели групп самок.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведённых исследований установлено, что обнаруженный отклик

биологических систем зависит от характеристики состояния магнитного поля Земли, приходясь на период прохождения магнитных бурь. Кроме того, полученные данные свидетельствуют о возможных гендерных различиях при ответной реакции на воздействия геомагнитного фактора организмами разного уровня. Необходимо отметить, что имеется большое количество публикаций по влиянию геомагнитных возмущений на различные виды организмов, указывающих на обязательный учёт физиологических различий разных групп, при этом большинство из авторов акцентируются на возрастной структуре [6, 11]. Однако установленный факт обращает внимание на необходимость исследования физиологических, поведенческих и других особенностей, характеризующих особей разного пола, при изучении влияния геомагнитного воздействия на биологические системы.

Авторы выражают благодарность д.б.н. Е.В. Осиповой за помощь и ценные советы при анализе материалов и оформлении статьи.

Авторы признательны за содействие Иркутской городской станции скорой медицинской помощи в лице главврача А.В. Манькова и заместителя по организационно-методической работе А.Д. Макарова в получении материалов по количеству выездов скорой медицинской помощи.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Баженов А.А., Аверина А.С., Прикоп М.В. Влияние гелиогеофизических факторов на здоровье человека // Acta biomedica scientifica. – 2014. – № 6 (100). – С. 125–129.
2. Bazhenov AA, Averina AS, Prikop MV. (2014). Influence of heliogeophysical factors on human health [Vliyaniye geliogeofizicheskikh faktorov na zdorov'e cheloveka]. Acta biomedica scientifica, (6), 125-129.
3. Варакин Ю.Я., Ионова В.Г., Горностаева Г.В., Сазанова Е.А. Влияние гелиогеофизических возмущений

на гемореологические параметры у здоровых людей // Земский врач. – 2011. – № 2. – С. 21–24.

Varakin YuYa, Ionova VG, Gornostaeva GV, Sazanova EA. (2011). Impact of heliogeophysical disturbances on haemorheological parameters in healthy people [Vliyanie geliogeofizicheskikh vozmushcheniy na gemoreologicheskie parametry u zdorovykh lyudey]. *Zemskiy vrach*, (2), 21-24.

3. Владимирский Б.М., Темурьянц Н.Л. Влияние солнечной активности на биосферу – ноосферу // Гелиобиология от А.Л. Чижевского до наших дней. – 2000. – С. 374.

Vladimirsky BM, Temur'yants NL. (2000). Influence of solar activity on the biosphere – noosphere [Vliyanie solnechnoy aktivnosti na biosferu – noosferu]. *Geliobiologiya ot A.L. Chizhevskogo do nashikh dnei*, 374.

4. Гарганеева А.А., Округин С.А., Зяблов Ю.И., Паршин Д.А. Острый инфаркт миокарда: гендерные особенности возникновения и течения в популяции средне урбанизированного города Западной Сибири // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2012. – № 11 (3). – С. 12–15.

Garganeeva AA, Okrugin SA, Zyablov YuI, Parshin DA. (2012). Acute myocardial infarction: gender specifics of development and clinical course in an urban Western Siberian [Ostryi infarkt miokarda: gendernye osobennosti vozniknoveniya i techeniya v populyatsii sredne urbanizirovannogo goroda Zapadnoy Sibiri]. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika*, (11), 12-15.

5. Кравченко К.Л., Баженов А.А., Воронов В.А., Прикоп М.В. Анализ двигательной активности лабораторной популяции *Drosophila melanogaster* и её связь с параметрами космической погоды // Космос и биосфера: Тез. докл. X междунар. крымской конф. – 2013. – С. 88–89.

Kravchenko KL, Bazhenov AA, Voronov VA, Prikop MV. (2013). *Drosophila melanogaster* laboratory population motion activity analysis and its connection which the space weather parameters [Analiz dvigatel'noy aktivnosti laboratornoy populyatsii Drosophila Melanogaster i ee svyaz s parametrami komicheskoy pogody]. *Kosmos i biosfera: Tezisy dokladov X Mezhdunarodnoy krymskoy konferentsii*, 88-89.

6. Курочкина О.Н., Спаский А.А., Хохлов А.Л. Течение инфаркта миокарда с позиции гендерных различий: результаты ретроспективного исследования // Проблемы женского здоровья. – 2012. – № 3. – С. 18–23.

Kurochkina ON, Spasskiy AA, Khokhlov AL. (2012). The course of myocardial infarction from the position of gender differences: the results of a retrospective study [Techenie infarkta miokarda s pozitsii gendernykh razlichiy: rezul'taty retrospektivnogo issledovaniya]. *Problemy zhenskogo zdorov'ya*, (3), 18-23.

7. Моисеева Н.И. Космофизические флуктуации и развитие человеческого эмбриона // Биофизика. – 1992. – Т. 37, № 4. – С. 700–704.

Moiseeva NI. (1992). Cosmophysical fluctuations and development of the human embryo [Kosmofizicheskie fluktuatsii i razvitie chelovecheskogo embriona]. *Biofizika*, 37 (4), 700-704.

8. Плисс М.Г., Кузьменко Н.В., Цырлин В.А. Влияние географической широты на количество

госпитализаций по поводу сердечно-сосудистых заболеваний в годы с низкой и высокой геомагнитной активностью // Трансляционная медицина. – 2017. – № 4 (6). – С. 13–21.

Pliss MG, Kuzmenko NV, Cyrilin VA. (2017). The influence of geographical latitude on the number of hospitalizations for cardiovascular disease in years with low and high geomagnetic activity [Vliyanie geograficheskoy shirotы na kolichestvo gosospitalizatsiy po povodu serdechno-sosudistykh zabolevaniy v gody s nizkoy i vysokoy geomagnitnoy aktivnost'yu]. *Translyatsionnaya meditsina*, 4 (6), 13-21.

9. Попова Е.А., Андропова С.В., Попов А.И. Изменение физиологических показателей жителей крайнего севера под влиянием астрономических возмущений // Вестник Челябинского государственного университета. – 2014. – № 13. – С. 342.

Popova EA, Andronova SV, Popov AI. (2014). Change in physiological parameters of the inhabitants of the Far North under the influence of astronomical perturbations [Izmenenie fiziologicheskikh pokazateley zhiteley kraynego severa pod vliyaniem astronomicheskikh vozmushcheniy]. *Vestnik Chelyabinskogo gosudarstvennogo universiteta*, (13), 342.

10. Прикоп М.В. Баженов А.А. Всплески двигательной активности лабораторных групп особей *Drosophila melanogaster* и геомагнитные возмущения // Биология 21 век: Матер. 21-й междунар. Пушчинской школы-конф. молодых учёных. – 2017. – С. 71

Prikop MV, Bazhenov AA. (2017). Fluctuation of level of motion activity of laboratory groups *Drosophila melanogaster* and geomagnetic storms [Vspleski dvigatel'noy aktivnosti laboratornykh grupp osobey Drosophila melanogaster i geomagnitnye vozmushcheniya]. *Biologiya 21 vek: Materialy 21-y Mezhdunarodnoy Pushchinskoy shkoly-konferentsii molodykh uchenykh*, 71.

11. Степанова Т.Ю., Николаева А.В., Курмаев Д.П. Влияние геомагнитных возмущений на агрегационную функцию тромбоцитов у лиц пожилого и старческого возраста, страдающих ИБС // Клинические и фундаментальные аспекты геронтологии. – 2015. – С. 330–335.

Stepanova TYu, Nikolaeva AV, Kurmaev DP. (2015). Influence of geomagnetic disturbances on aggregation function of platelets in elderly and old people with CHD [Vliyanie geomagnitnykh vozmushcheniy na aggregatsionnyuyu funktsiyu trombotsitov u lits pozhilogo i starcheskogo vozrasta, stradayushchikh IBS]. *Klinicheskie i fundamental'nye aspekty gerontologii*, 330-335.

12. Шадрин Л.П., Самсонов С.Н., Манькина В.И. Различия в изменениях кардиограмм жителей арктической и среднеширотной зон во время геомагнитных бурь // MEDICUS. – 2017. – № 4 (16). – С. 24–27.

Shadrina LP, Samsonov SN, Manykina VI. (2017). The differences in cardiogram changes in the inhabitants of arctic and mid-latitude zones during geomagnetic storms [Razlichiya v izmeneniyakh kardiogramm zhiteley arkticheskoy i sredneshirotnoy zon vo vremya geomagnitnykh bur']. *MEDICUS*, 4 (16), 24-27.

13. Шумилов О.И., Касаткина Е.А., Еникеев А.В., Храмов А.А. Исследование воздействия геомагнитных возмущений в высоких широтах на внутриутробное

состояние плода методом кардиотокографии // Биофизика. – 2003. – Т. 48, № 2. – С. 374–379.

Shumilov OI, Kasatkina EA, Enikeev AV, Khramov AA. (2003). Investigation of the effect of geomagnetic disturbances in high latitudes on the intrauterine state of the fetus using the method of cardiocography [Issledovanie vozdeystviya geomagnitnykh vozmushcheniy v vysokikh shirotakh na vnutriutrobnoe sostoyanie ploda metodom kardiocografii]. *Biofizika*, 48 (2), 374-379.

14. Azcarate T, Mendoza B, Levi JR. (2016). Influence of geomagnetic activity and atmospheric pressure on human arterial pressure during the solar cycle 24. *Adv Space Res*, 58 (10), 2116-2125.

15. Breus TK, Binhi VN, Petrukovich AA. (2016). Magnetic factor of the solar terrestrial relations and its impact on the human body: physical problems and prospects for research. *Physics-Uspeski*, (59), 502-510. DOI: 10.3367/UFNe.2015.12.037693

16. Conn PM (ed.). (2008). Sourcebook of models for biomedical research. Totowa, NJ, 778 p.

17. Halberg F, Cornélissen G, Otsuka K, Watanabe Y, Katinas GS, Burioka N, Delyukov A, Gorgo Y, Zhao Z, Weydahl A, Sothorn RB, Siegelova J, Fiser B, Dusek J, Syutkina EV, Perfetto F, Tarquini R, Singh RB, Rhees B, Lofstrom D, Lofstrom P, Johnson PW, Schwartzkopff O, the International BIOCOS Study Group. (2000). Cross-spectrally coherent ~10,5- and 21-year biological and physical, magnetic storms and myocardial infarctions. *Neuro Endocrinology Letters*, 21 (3), 233-258.

18. Geegar R, Casselman A, Waddell S, Reppert S. (2008). Cryptochrome mediates light-dependent magnetosensitivity in *Drosophila*. *Nature*, 454 (7207), 1014-1019. DOI: 10.1038/nature07183

19. Krylov VV. (2017). Biological effects related to geomagnetic activity and possible mechanisms. *Bioelectromagnetics*, (38), 497-510. DOI: 10.1002/bem.22062

20. McCraty R, Atkinson M, Stolc V, Alabdulgoder A, Vainoras A, Ragulskis M. (2017). Synchronization of human autonomic nervous system rhythms with geomagnetic activity in human subjects. *Int J Environ Res Public Health*, 14 (7), 770. DOI: 10.3390/ijerph14070770


21. Painter MS, Dommer DH, Altizer WW, Muheim R, Phillips JB. (2013). Spontaneous magnetic orientation in larval *Drosophila* shares properties with learned magnetic compass responses in adult flies and mice. *J Exp Biol*, 216 (97), 1307-1316. DOI: 10.1242/jeb.077404


22. Phillips JB, Sayeed O. (1992). Wavelength-dependent effects of light on magnetic compass in *Drosophila*. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol*, (172), 303-308.


23. Ugur B, Chen K, Bellen HJ. (2016). *Drosophila* tools and assays for the study of human diseases. *Disease Models & Mechanisms*, (9), 235-244. DOI: 10.1242/dmm.023762


24. Wangler MF, Yamamoto S, Bellen HJ. (2015). Fruit flies in biomedical research. *Genetic*, (199), 639-653. DOI: 10.1534/genetics.114.171785


Сведения об авторах Information about the authors


Баженов Александр Александрович – ассистент кафедры естественнонаучных дисциплин педагогического института, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет»; заместитель директора по общим вопросам, ООО «Аксиум» (664011, г. Иркутск, ул. Нижняя Набережная, 6; тел. (3952) 24-10-97; e-mail: alex1703-19901990@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0002-4548-8682>


Bazhenov Alexander Alexandrovich – Teaching Assistant at the Department of Natural Sciences Disciplines of the Pedagogical Institute, Irkutsk State University; Deputy Director on General Issues, ООО Aksium (664011, Irkutsk, ul. Nizhnaya Naberezhnaya, 6; tel. (3952) 24-10-97; e-mail: alex1703-19901990@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0002-4548-8682>

Аверина Антонина Сергеевна – аспирант кафедры естественнонаучных дисциплин педагогического института, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (e-mail: bucharova89@gmail.com)  <http://orcid.org/0000-0002-0322-3643>


Averina Antonina Sergeevna – Postgraduate at the Department of Natural Sciences Disciplines of the Pedagogical Institute, Irkutsk State University (e-mail: bucharova89@gmail.com)  <http://orcid.org/0000-0002-0322-3643>


Прикоп Михаил Васильевич – ассистент кафедры естественнонаучных дисциплин педагогического института, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет»; заместитель директора по вопросам развития, ООО «Аксиум» (e-mail: prikop1@gmail.com)  <http://orcid.org/0000-0002-7663-9113>

Prikop Mikhail Vasilyevich – Teaching Assistant at the Department of Natural Sciences Disciplines of the Pedagogical Institute, Irkutsk State University; Deputy Director on Development Issues, ООО «Аксиум» (e-mail: prikop1@gmail.com)  <http://orcid.org/0000-0002-7663-9113>

Ухова Анастасия Владимировна – магистрант кафедры естественно-научных дисциплин педагогического института, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (e-mail: kaching1212@yandex.ru)  <http://orcid.org/0000-0002-3469-929X>

Ukhova Anastasia Vladimirovna – Graduate Student at the Department of Natural Science Disciplines of the Pedagogical Institute of Irkutsk State University (e-mail: kaching1212@yandex.ru)  <http://orcid.org/0000-0002-3469-929X>

Суховская Владислава Валерьевна – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры перинатальной и репродуктивной медицины, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100; тел. (3952) 46-53-26; e-mail: suhovlada@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0002-6697-5201>

Sukhovskaya Vladislava Valeryevna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor at the Department of Perinatal and Reproductive Medicine, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (664049, Irkutsk, Yubileyniy, 100; tel. (3952) 46-53-26; e-mail: suhovlada@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0002-6697-5201>

Дубровина В.И.¹, Витязева С.А.¹, Корытов К.М.¹, Пятидесятникова А.Б.¹, Войткова В.В.¹,
Прозорова Г.Ф.², Поздняков А.С.², Иванова А.А.², Балахонов С.В.¹

Функциональное состояние клеток иммунофагоцитарной системы под действием сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном и металлосодержащих нанокompозитов

¹ ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока
Роспотребнадзора
(664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78, Россия)
² ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН
(664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1, Россия)

В настоящее время актуальным направлением в медицине является создание иммунобиологических препаратов для повышения эффективности специфической иммунотерапии и иммунопрофилактики, содержащих в своём составе иммуномодуляторы, способные стимулировать отдельные реакции иммунного ответа. В связи с этим поиск и разработка новых безопасных и эффективных искусственных биоорганических комплексов, способных обеспечить иммунный ответ организма с целью снижения инфекционной заболеваемости, является важным направлением исследований.

В качестве таких перспективных соединений на данный момент могут выступать водорастворимые полимерные материалы и органо-неорганические полимерные нанокompозиты с наночастицами различных металлов, обладающие иммуномодулирующими и бактерицидными свойствами.

Проведено исследование действия сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном и нанокompозитов на его основе с наночастицами золота и серебра на острую токсичность, функциональное состояние клеток иммунофагоцитарной системы экспериментальных животных и продукцию цитокинов IFN- γ , TNF- α и IL-4 лимфоцитами крови человека. Установлено, что исследуемые препараты не вызывают повышение температуры тела, уменьшение массы и гибель животных. Экспериментально показано, что они обладают разнонаправленным действием в условиях *in vitro* на продукцию цитокинов клетками крови человека, а также способностью повышать активность фермента окислительного взрыва и антиоксидантной защиты фагоцитов.

Полученные данные позволяют обосновать необходимость дальнейшего исследования действий сополимера и нанокompозитов на его основе в условиях *in vitro* и *in vivo*.

Ключевые слова: сополимер 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном, нанокompозиты, фагоциты, клетки крови, цитокины, острая токсичность

Для цитирования: Дубровина В.И., Витязева С.А., Корытов К.М., Пятидесятникова А.Б., Войткова В.В., Прозорова Г.Ф., Поздняков А.С., Иванова А.А., Балахонов С.В. Функциональное состояние клеток иммунофагоцитарной системы под действием сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном и металлосодержащих нанокompозитов. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 132-136, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.19.

Action of 1-Vinyl-1,2,4-Triazole Copolymer with N-Vinylpyrrolidone and Metal-Containing Nanocomposites on Functional State of Phagocytic Cells

Dubrovina V.I.¹, Vityazeva S.A.¹, Korytov K.M.¹, Pyatidesyatnikova A.B.¹, Voytkova V.V.¹,
Prozorova G.F.², Pozdnyakov A.S.², Ivanova A.A.², Balakhonov S.V.¹

¹ Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor
(ul. Trilissera 78, Irkutsk 664047, Russian Federation)
² A.E. Favorsky Institute of Chemistry SB RAS
(ul. Favorskogo 1, Irkutsk 664033, Russian Federation)

The creation of immuno-biological drugs to increase the effectiveness of specific immunotherapy and immunoprophylaxis is a current trend in medicine to date. Therefore, the search and development of new safe and effective artificial bioorganic complexes (immunomodulators) capable of stimulating individual responses of immune system to reduce infectious morbidity is an important area of research.

At the moment, such promising preparations can be considered water-soluble polymeric materials and organo-inorganic polymer nanocomposites with nanoparticles of various metals which possess immunomodulating and bactericidal properties.

The study results of the effects of 1-vinyl-1,2,4-triazole copolymer with N-vinylpyrrolidone and nanocomposites based on it with gold and silver nanoparticles on acute toxicity and functional state of immunophagocytic cells of experimental animals, as well as the production of IFN- γ , TNF- α and IL-4 by human blood lymphocytes are represented in this article. It was established that the tested preparations do not cause increase in body temperature, decrease in mass and death of animals. It was shown that they also have the multidirectional action on cytokine production by human blood cells *in vitro*, the ability to increase activity of oxidative stress-related enzymes and antioxidant protection of phagocytes. The data obtained by us allow to explain the need for further investigation of the actions of nanocomposites and copolymer *in vitro* and *in vivo*.

Key words: copolymer, 1-vinyl-1,2,4-triazole with N-vinylpyrrolidone, nanocomposite, phagocyte, cell of blood, cytokine

For citation: Dubrovina V.I., Vityazeva S.A., Korytov K.M., Pyatidesyatnikova A.B., Voytkova V.V., Prozorova G.F., Pozdnyakov A.S., Ivanova A.A., Balakhonov S.V. Action of 1-Vinyl-1,2,4-Triazole Copolymer with N-Vinylpyrrolidone and Metal-Containing Nanocomposites on Functional State of Phagocytic Cells. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 132-136, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.19.

Современным направлением исследований в медицине является создание иммунобиологических препаратов для повышения эффективности специфической иммунотерапии и иммунопрофилактики, экстренной индукции неспецифической резистентности в эпидемически опасной ситуации. Используемые в практике вакцинные препараты содержат различного рода вещества, добавляемые с целью стабилизации, консервации или сорбции антигена, которые могут приводить к тяжёлым последствиям (осложнения и аллергизация привитых). Кроме того, некоторые бактериальные антигены и продукты геномных технологий, используемые при создании вакцинных препаратов, обладают недостаточной иммуногенностью. Поэтому возникает необходимость включения в состав вакцин иммуномодуляторов, которые способны стимулировать отдельные реакции иммунного ответа [2, 6, 8]. Данные обстоятельства обуславливают необходимость создания безопасных и эффективных искусственных биоорганических комплексов, способных обеспечить иммунный ответ организма. С учётом того, что специфические факторы, влияющие на резистентность макроорганизма, не всегда достаточно эффективны, важность поиска новых способов стимуляции иммунитета не вызывает сомнений.

В настоящее время перспективными в этом направлении являются водорастворимые полимерные материалы и органо-неорганические полимерные наноконпозиты с наночастицами различных металлов, обладающие иммуномодулирующими и бактерицидными свойствами [1, 5, 7, 9]. Разработка на их основе эффективных отечественных средств и препаратов для создания новых и усовершенствования уже имеющихся вакцин против возбудителей инфекционных болезней является актуальным.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить действие сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном и его металло-содержащих наноконпозитов на функциональное состояние клеток иммунофагоцитарной системы в условиях *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе в качестве объекта исследования использовали экспериментальные препараты, полученные в лаборатории функциональных полимеров Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского СО РАН: сополимер 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном (СПЛ), наноконпозит на основе СПЛ с наночастицами золота (НК-Au, содержание золота составляет 8,3 %, размеры наночастиц находятся в диапазоне 1–14 нм, из них преимущественное количество наночастиц золота (90 %) имеют размеры 1–4 нм) и с наночастицами

серебра (НК-Ag, содержание серебра составляет 3,9 % с размерами наночастиц 2–6 нм). СПЛ синтезировали методом радикальной сополимеризации соответствующих мономеров в присутствии инициатора азобисизобутиронитрила. Наноконпозиты НК-Ag и НК-Au синтезировали методом химического восстановления ионов металла из нитрата серебра (AgNO_3) и золотохлористоводородной кислоты (HAuCl_4) в водных растворах СПЛ с последующей диализной очисткой через мембрану с размером пор 5 КДа (MFPI, Cellu Sep H1) и лиофильной сушкой. СПЛ и наноконпозиты НК-Ag и НК-Au хорошо растворяются в воде и органических растворителях [4, 5].

Исследования проведены на 30 морских свинок (масса 200–250 г) и 100 белых беспородных мышах (18–20 г) обоих полов стандартных по условиям содержания, полученных из питомника ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора. Животных выводили из эксперимента в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», Приложение № 4, СП 1.3.1285-03, «Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских целях» (2010), Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и других научных целях (Страсбург, 1986). Количество животных для опыта подбирали с учётом получения статистически достоверных результатов. Для каждого срока наблюдения во всех сериях эксперимента материал брали от 5–10 морских свинок или белых мышей.

При изучении действия экспериментальных препаратов на продукцию лимфоцитами $\text{IFN-}\gamma$, $\text{TNF-}\alpha$ и IL-4 использовали кровь от пяти добровольцев, предоставивших своё добровольное информированное согласие для участия в исследовании.

Изучение спонтанной/индуцированной продукции цитокинов клетками крови человека проводили в группах: 1 – образцы со спонтанной продукцией цитокинов (контроль); 2 – индуцированные препаратом СПЛ; 3 – индуцированные НК-Au; 4 – индуцированные НК-Ag. К 1 мл крови добавляли препараты в концентрации 20,0 мкг/мл и инкубировали в течение 24 часов при 37 ± 1 °С. Концентрацию цитокинов определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (г. Кольцово, Новосибирская область) согласно инструкции производителя и выражали в пг/мл. Учёт оптической плотности осуществляли на автоматическом ридере ELx 808 IU (Biotek Instruments Inc, США) при длине волны 450 нм.

Для изучения влияния металло-содержащих наноконпозитов на функциональное состояние клеток морских свинок фагоциты (10^6 фагоцитов/1,0 мл) в

условиях *in vitro* примировали СПЛ, НК-Au или НК-Ag в дозах 20,0 и 30,0 мкг/мл, в течение 60 мин при 37 ± 1 °C с последующим определением суммарной активности Г-6-ФДГ [3]. Контролем служили клетки интактных животных. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли в системах, содержащих макрофаги (10^6 фагоцитов в 1,0 мл) интактных морских свинок в условиях *in vitro*, стимулированных экспериментальными препаратами в течение 60 мин, контролем служили интактные фагоциты [3]. Учёт оптической плотности осуществляли на автоматическом ридере ELx 808 IU (Biotek Instruments Inc, США) при длине волны 340 нм в случае Г-6-ФДГ и 540 нм – в случае СОД. Об активации ферментов Г-6-ФДГ и СОД перитонеальными макрофагов судили по индексу стимуляции (ИС), который рассчитывали по формуле $(\frac{ПО - ПК}{ПО})100$ %, где ПО – показатели в опытной группе, ПК – показатели в контрольной группе).

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA» версия 6.1 параметрическим критерием Стьюдента с поправкой Бонферрони и непараметрическим критерием Краскела – Уоллиса для сравнения нескольких независимых выборок. Полученные данные выражали в виде медианы (Me) и диапазона квартильных отклонений (Q25; Q75). При этом различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При испытании тестируемых препаратов (СПЛ, НК-Au, НК-Ag) на острую токсичность установлено, что они при однократном подкожном введении в дозах 1,0; 0,1 и 0,01 г сухого вещества на кг веса животного не вызывали гибели белых мышей, а также повышения температуры и уменьшения массы тела, по сравнению с исходной. Важно отметить, что при подкожном введении экспериментальным животным НК-Au в дозах 1,0 и 0,1 г/кг веса в месте введения выявлен некроз и яркое окрашивание в чёрный цвет подлежащей ткани. Кроме того, в случае применения НК-Au в дозе 1,0 г/кг печень дрябловатая, глинистого цвета, что может указывать на развитие интоксикации.

Показано, что применение СПЛ, НК-Au или НК-Ag способствует повышению ИС ферментов окислительного взрыва (Г-6-ФДГ) по сравнению с контролем (табл. 1), при этом наиболее выраженный эффект выявлен в случае применения НК-Au и НК-Ag.

Препараты НК-Au и НК-Ag в дозе 30 мкг на 10^6 клеток/мл статистически значимо ($p < 0,05$) повышают активность Г-6-ФДГ перитонеальных макрофагов (ПМ) морских свинок по сравнению с СПЛ. Так, ИС в случае применения НК-Au в 2,1 раза, а НК-Ag – 2,5 раза выше, чем данный показатель у фагоцитов, примированных СПЛ. Стоит отметить, что в пробах с клетками, стимулированными НК-Au в дозе 20 мкг/мл, ИС Г-6-ФДГ был достоверно ($p < 0,05$) в среднем в 1,4 раза выше, чем в аналогичных пробах с СПЛ и НК-Ag. В меньших дозах значимых различий между интактными клетками и пробами с СПЛ и нанокompозитами не установлено.

Таким образом, проведённые исследования показали, что в ПМ, примированных экспериментальными препаратами, в условиях *in vitro* повышается активность фермента гексозомонофосфатного шунта (Г6ФДГ), а наибольшее усиление каталитической активности Г6ФДГ отмечено в фагоцитах, примированных НК-Ag.

Также было установлено, что препараты СПЛ, НК-Au и НК-Ag достоверно повышают активность супероксиддисмутазы (СОД) фагоцитов по сравнению с контролем (интактные клетки). Тем не менее, в случае применения НК-Au показатель ИС клеток иммунофагоцитарной системы достоверно в 2,5 раза ($p < 0,01$) превышал ИС фагоцитов, примированных НК-Ag (табл. 1).

Таким образом, экспериментальные препараты СПЛ, НК-Au и НК-Ag в дозе 30 мкг/ 10^6 клеток в 1 мл способствуют повышению продукции фагоцитами медиатора воспаления – супероксиддисмутазы, вместе с тем, выраженность этого процесса зависит от использованного в эксперименте препарата.

Большую роль в функциональной активности клеток, принимающих участие в различных реакциях иммунной системы на местном и системном уровне, будь то пролиферация и дифференцировка иммунокомпетентных клеток, переключение синтеза иммуноглобулинов или индукция цитотоксичности макрофагов, играют низкомолекулярные белки, цитокины. Поэтому определение их уровня отражает текущую работу иммунной системы и развитие защитных реакций, при этом спонтанная индукция свидетельствует об активности клеток в результате развития воспаления или иммунопатологического процесса, а индуцированная – о потенциальной способности этих клеток.

Следующим этапом в исследовании стала оценка влияния тестируемых препаратов на спонтанную и индуцированную продукцию провоспалительных (TNF-α и IFN-γ) и противовоспалительных (IL-4) цитокинов лимфоцитами периферической крови. При этом было установлено, что в группе 3, в которой клетки индуцировались НК-Au, значение медианы концентрации IL-4 достоверно в 3,7 раза выше, чем в контроле ($p = 0,005$), а в группах 2 и 3 – в среднем в 3,6 раза выше, чем в группе 4, индуцированной НК-Ag ($p < 0,005$). Продукция IFN-γ в пробе 4 достоверно ($p < 0,05$) в 1,2 раза выше как в контроле, так и в пробах 2 и 3. Выработка лимфоцитами крови человека TNF-α в пробах 1 и 2 статистически значимо ($p < 0,05$) выше в среднем в 9,1 раза, чем в пробах 3 и 4 (рис. 1).

Таблица 1
Влияние нанокompозитов на показатели функционального состояния фагоцитов морских свинок

Table 1
Effect of nanocomposites on the functional state indicators of phagocytes in guinea pigs

| Препарат | ИС, % | |
|----------|---------|--------|
| | Г-6-ФДГ | СОД |
| СПЛ | 2,1 | 1,0 |
| НК-Au | 4,4* | 35,2** |
| НК-Ag | 5,3* | 13,8 |

Примечание. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ по сравнению с СПЛ.

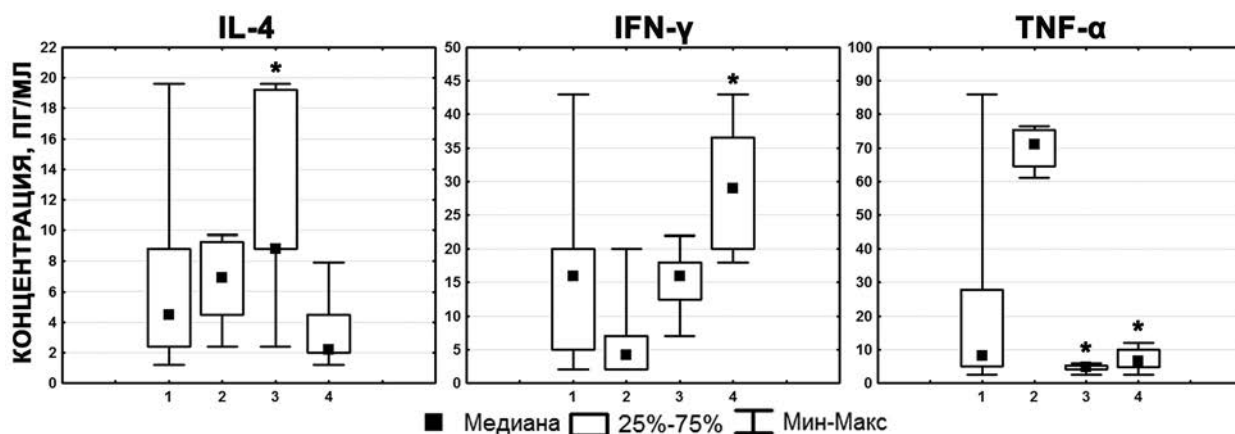


Рис. 1. Продукция цитокинов под влиянием СПЛ и нанокompозитов на его основе. 1 – группа образцов со спонтанной продукцией цитокинов; 2 – группа образцов, индуцированных СПЛ; 3 – группа образцов, индуцированная НК-Au; 4 – группа образцов, индуцированная НК-Ag; * – статистически значимое различие в сравнении с контролем ($p < 0,05$).

Fig. 1. Production of cytokines under the action of copolymer and nanocomposites based on it. 1 – group of samples with spontaneous production of cytokines; 2 – group of samples induced by copolymer; 3 – group of samples induced by NK-Au; 4 – group of samples induced by NK-Ag; * – statistically significant difference in comparison with control ($p < 0.05$).

Важно отметить, что показатели продукции цитокинов в контрольной (спонтанной) пробе, т.е. лимфоциты крови человека не стимулированные металлосодержащими нанокompозитами (НК-Au и НК-Ag) или СПЛ, не превышали значений цитокинового статуса в норме (согласно инструкции тест-системы).

Таким образом, сравнительный анализ действия металлосодержащих нанокompозитов и сополимера на функциональное состояние клеток иммунофагоцитарной системы опытных животных и клеток крови человека показал, что НК-Au и НК-Ag в условиях *in vitro* обладают способностью повышать активность фермента окислительного взрыва (Г-6-ФДГ) и антиоксидантные свойства (СОД) фагоцитов. СПЛ в дозах 20 и 30 мкг/мл не вызывает повышения функциональной активности фагоцитов в условиях *in vitro*.

Установлено разнонаправленное действие экспериментальных препаратов в условиях *in vitro* на продукцию цитокинов клетками крови человека. Так, концентрация IL-4 лимфоцитами, стимулированными СПЛ и НК-Au, выше ($p < 0,005$), а продукция IFN-γ ниже ($p < 0,05$), чем в случае применения НК-Ag. Кроме того, СПЛ статистически значимо ($p < 0,05$) повышает продукцию TNF-α лимфоцитами крови человека, в отличие от НК-Au и НК-Ag.

Полученные результаты свидетельствуют о необходимости дальнейшего комплексного исследования действия металлосодержащих нанокompозитов (НК-Au и НК-Ag) и сополимера на функциональное состояние клеток иммунофагоцитарной системы как в условиях *in vitro*, так и *in vivo*.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Иванова А.А., Ермакова Т.Г., Прозорова Г.Ф. Сополимеры 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном и нанокompозиты золота на их основе // Фаворский-2017: Сборник тезисов докладов Международного юбилейного конгресса, посвящённого 60-летию Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского СО РАН. – 2017. – С. 130.

Ivanova AA, Ermakova TG, Prozorova GF. (2017). Copolymers of 1-vinyl-1,2,4-triazole with N-vinylpyrrolidone and nanocomposites of gold based on them. [Sopolimery 1-vinil-1,2,4-triazola s N-vinilpirrolidonom i nanokompozity zolota na ikh osnove]. *Favorskiy-2017: Sbornik tezisev dokladov Mezhdunarodnogo yubileynogo kongressa, posvyashchennogo 60-letiyu Irkutskogo instituta khimii im. A.E. Favorskogo SO RAN*. Irkutsk, 130.

2. Иммуномодулирующее действие металлосодержащих нанокompозитов / Под ред. профессора С.В. Балахонова. – Иркутск: ООО «Мегапринт», 2017. – 77 с.

Balakhonov SV. (ed.). (2017). Immunomodulating effect of metal-containing nanocomposites [Immunomoduliruyushchee deystvie metallosoderzhshchikh nanokompozitov]. Irkutsk, 77 p.

3. Клеточные и гуморальные факторы иммунитета в патогенезе туляремии / Под ред. профессора С.В. Балахонова. – Иркутск: ФГБНУ «ИНЦХТ», 2017. – 136 с.

Balakhonov SV. (ed.). (2017). Cellular and humoral immunity factors in the pathogenesis of tularemia [Kletochnyye i gumoral'nyye faktory immuniteta v patogeneze tulyaremi]. Irkutsk, 136 p.

4. Поздняков А.С., Иванова А.А., Емельянов А.И., Ермакова Т.Г., Прозорова Г.Ф. Нанокompозиты с наночастицами серебра на основе сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2017. – № 6. – С. 1099–1103.

Pozdnyakov AS, Ivanova AA, Emelyanov AI, Ermakova TG, Prozorova GF. (2017) Nanocomposites with silver nanoparticles based on copolymer of 1-vinyl-1,2,4-triazole with N-vinylpyrrolidone [Nanokompozity s nanochastitsami serebra na osnove sopolimera 1-vinil-1,2,4-triazola s N-vinilpirrolidonom]. *Izvestiya Akademii nauk. Seriya khimicheskaya*, (6), 1099-1103.

5. Прозорова Г.Ф., Коржова С.А., Поздняков А.С., Емельянов А.И., Ермакова Т.Г., Дубровина В.И. Иммуномодулирующие свойства серебросодержащего нанокompозита на основе поливинилтриазола // Из-

вестия Академии наук. Серия химическая. – 2015. – № 6. – С. 1437–1439.

Prozorova GF, Korzhova SA, Pozdnyakov AS, Emelyanov AI, Ermakova TG, Dubrovina VI. (2015). Immunomodulatory properties of silver-containing nanocomposite based on polyvinyltriazole. [Immunomoduliruyushchie svoystva serebrosoderzhashchego nanokompozita na osnove poliviniltriazola]. *Izvestiya Akademii nauk. Seriya khimicheskaya*, (6), 1437-1439.


6. Bourquin C, Wurzenberger C, Heidegger S, Fuchs S, Anz D, Weigel S, Sandholzer N, Winter G, Coester C, Endres S. (2010). Delivery of immunostimulatory RNA oligonucleotides by gelatin nanoparticles triggers an efficient antitumoral response. *J Immunother*, (33), 935-944. DOI: 10.1097/CJI.0b013e3181f5dfa7

7. Dallas P, Zboril R, Sharma VK. (2011). Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: classification, synthetic paths, applications, and perspectives. *Adv Colloid Interface Sci*, 166 (1-2), 119-135. DOI: 10.1016/j.cis.2011.05.008


8. Dubrovina VI, Balakhonov SV, Voitkova VV, Vityazeva SA, Starovoitova TP, Korytov KM, Prozorova GF, Aleksandrova GP, Kolesnikov SI. (2017). Effect of metal-containing nanocomposites on functional status of the thymus in experimental animals. *Bull Exp Biol Med*, 162 (5), 666-670. DOI: 10.1007/s10517-017-3642-0


9. Jones CF, Grainger DW. (2009). In vitro assessments of nanomaterial toxicity. *Adv Drug Deliv Rev*, 61 (6), 438-456. DOI: 10.1016/j.addr.2009.03.005


Сведения об авторах Information about the authors


Дубровина Валентина Ивановна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора (664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78; тел. +7 (3952) 22-01-35, факс +7 (3952) 22-01-40; e-mail: dubrovina-valya@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0001-8561-6207>


Dubrovina Valentina Ivanovna – Doctor of Biological Sciences, Head of Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor (664047, Irkutsk, ul. Trilissera, 78; tel. (3952) 22-01-35, fax (3952) 22-01-40; e-mail: dubrovina-valya@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0001-8561-6207>


Витязева Светлана Александровна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела микробиологии чумы, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора.  <http://orcid.org/0000-0003-0959-4987>


Vityazeva Svetlana Aleksandrovna – Candidate of Medical Sciences, Senior Research Officer at the Department of Plague Microbiology, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor.  <http://orcid.org/0000-0003-0959-4987>


Корытов Константин Михайлович – младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора.  <http://orcid.org/0000-0003-1137-6049>


Korytov Konstantin Mikhaylovich – Junior Research Officer at the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor.  <http://orcid.org/0000-0003-1137-6049>


Пятидесятникова Анна Борисовна – лаборант-исследователь лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора.  <http://orcid.org/0000-0002-6381-4517>


Pyatidesyatnikova Anna Borisovna – Laboratory Assistant at the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor.  <http://orcid.org/0000-0002-6381-4517>


Войткова Валентина Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора.  <http://orcid.org/0000-0002-0685-7625>


Voitkova Valentina Vladimirovna – Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer at the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor.  <http://orcid.org/0000-0002-0685-7625>


Прозорова Галина Фирсовна – доктор химических наук, ведущий научный сотрудник, ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1; тел. (3952) 51-14-28; e-mail: prozorova@iriokh.irk.ru)  <http://orcid.org/0000-0003-3833-9002>


Prozorova Galina Firsovna – Doctor of Chemical Sciences, Leading Research Officer, A.E. Favorsky Institute of Chemistry SB RAS (664033, Irkutsk, ul. Favorskogo 1; tel. (3952) 51-14-28; e-mail: prozorova@iriokh.irk.ru)  <http://orcid.org/0000-0003-3833-9002>


Поздняков Александр Сергеевич – кандидат химических наук, заведующий лабораторией функциональных полимеров, ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН (тел. (3952) 42-65-11)  <http://orcid.org/0000-0002-9365-3697>

Pozdnyakov Aleksandr Sergeevich – Candidate of Chemical Sciences, Head of the Laboratory of Functional Polymers, A.E. Favorsky Institute of Chemistry SB RAS (tel. (3952) 42-65-11)  <http://orcid.org/0000-0002-9365-3697>

Иванова Анастасия Андреевна – сотрудник биохимического отдела, ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН.  <http://orcid.org/0000-0003-4738-8906>

Ivanova Anastasiya Andreevna – Research Officer at the Biochemical Department, A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS.  <http://orcid.org/0000-0003-4738-8906>

Балахонов Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, директор, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора (e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru)  <http://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Balakhonov Sergey Vladimirovich – Doctor Medical Sciences, Professor, Director, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor (e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru)  <http://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г.

Влияние JNK MAPK на репарацию повреждённой скелетной мышцы

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»
(664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

Регенерация мышц после травм, а также разработка способов, стимулирующих данный процесс, является актуальной проблемой в медицине и биологии.

Цель исследования: оценить влияние локального блокирования активности митогенактивируемой протеинкиназы (MAPK) группы JNK (c-Jun N-terminal kinase) на репарацию мышечной ткани.

Материалы и методы. На модели кожно-мышечной раны у крыс линии Wistar изучено влияние блокатора JNK MAPK SP600125 на репарацию мышечной ткани. Основной группе (n = 30) вводилась лекарственная пластина, содержащая SP600125 с медленным высвобождением действующего вещества, контрольной группе (n = 30) – пластина без активного вещества. Оценивалось количество делящихся миосателлитов и мышечных почек в зоне повреждения.

Результаты. Экспериментальные исследования показали, что при использовании лекарственной пластины, содержащей блокатор JNK SP600125 с медленным высвобождением действующего вещества, количество делящихся миосателлитов и формирующихся мышечных почек в зоне травмы мышцы в основной группе на 7-е, 14-е и 30-е сутки было достоверно выше (p < 0,05), чем в контрольной.

Заключение. Локальная блокада JNK MAPK в зоне повреждения мышечной ткани обеспечивает возможность стимуляции репарации поврежденной скелетной мышцы.

Ключевые слова: репарация, MAPK, JNK, мышца, SP600125

Для цитирования: Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г. Влияние JNK MAPK на репарацию повреждённой скелетной мышцы. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 137-140, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.20.

Effect of JNK MAPK on the Repair of Damaged Skeletal Muscle

Shurygina I.A., Shurygin M.G.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology
(ul. Bortsov Revolutsii 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Regeneration of muscles after injuries, as well as the development of methods that stimulate this process, is an important problem in medicine and biology.

The objective of the study was to evaluate the effect of local blocking of mitogen-activated protein kinase (MAPK) activity of the JNK group (c-Jun N-terminal kinase) on the repair of muscle tissue.

Materials and methods. The effect of the JNK MAPK SP600125 blocker on the repair of muscle tissue was studied on a model of a skin and muscle wound in Wistar rats. The main group (n = 30) was injected with a drug plate containing SP600125 with a slow release of the active substance, the control group (n = 30) – the plate without the active substance. The number of dividing myosatellites and muscle kidneys in the damage zone was estimated.

Results. Experimental studies have shown that when using a drug plate containing a JNK SP600125 blocker with a slow release of the active substance, the number of dividing myosatellites and forming muscle kidneys in the injury zone of the muscle in the main group on the 7th, 14th and 30th days was significantly higher (p < 0.05) than in the control.

Conclusion. Local blockade of JNK MAPK in the zone of muscle damage provides the ability to stimulate the repair of damaged skeletal muscle.

Key words: reparation, MAPK, JNK, muscle, SP600125

For citation: Shurygina I.A., Shurygin M.G. Effect of JNK MAPK on the repair of damaged skeletal muscle. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 137-140, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.20.

Регенерация мышц после травм, а также разработка способов, стимулирующих данный процесс, является актуальной проблемой в медицине и биологии. В настоящее время общеизвестно, что регенерация мышцы достигается за счёт деления особых клеток – миосателлитов [4, 8, 10, 12, 13].

Известны различные средства и способы стимуляции репарации повреждённой мышечной ткани. Так, известен структурированный биоматериал Аллоплант, который используют для фиксирующей пластики при восстановлении функции повреждённой скелетной мышцы. Для этого Аллоплант в форме ленты или нити проводят через мышечное брюшко и фиксируют узловыми швами к костным или соедини-

тельно-тканым опорным структурам, а также вводят в место вкола в брюшко. При этом в мышечное ложе для трансплантата осуществляют инъецирование диспергированного биоматериала Аллоплант – «Стимулятор регенерации» в количестве 5–6 [2]. К недостаткам данного средства следует отнести сложность его производства, необходимость использования донорского трупного материала, нестандартность материала, риск заражения и антигенность материала.

Также для стимуляции регенерации мышечной ткани возможно применение смеси растворов рекомбинантного интерферона бета (IFN-β) в концентрации 1 × 10⁵ ЕД/мл и полиэтиленгликоля с молекулярной массой 6000 (ПЭГ 6000) с концентрацией

$0,03 \times 10^{-9}$ моль/мл, взятых в соотношении 1 : 4 [3]. К недостаткам данного способа следует отнести использование интерферонов, которые вызывают реакцию гриппоподобного симптомокомплекса – лихорадка, озноб, боль в суставах, недомогание, потливость, головная боль или боль в мышцах, а также и реакции в месте введения – покраснение, отёк, воспаление, боль, гиперчувствительность.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить влияние локального блокирования активности митогенактивируемой протеинкиназы (МАРК) группы JNK (с-Jun N-terminal kinase) на репарацию мышечной ткани.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для экспериментальной проверки гипотезы о влиянии локального введения блокаторов JNK МАРК на репарацию мышечной ткани после повреждения были изготовлены лекарственные плёнки, содержащие водные растворы желатина, агар-агара, глицерина, метилцеллюлозы, этанола [1]. В качестве субстанции лекарственного средства в состав плёнки был введён блокатор активности JNK МАР киназы SP600125. Плёнка обеспечивала медленное высвобождение блокатора JNK МАР киназы в области повреждения мышцы. Аналогично изготавливали плёнку без активного вещества, где вместо лекарственного раствора вводили физиологический раствор.

Лабораторным животным – крысам линии Wistar весом 220–250 г в возрасте 9 мес. – наносили линейную кожно-мышечную рану в области грудной клетки, паравертебрально. Длина раны составила 5 см. После остановки кровотечения основной группе животных ($n = 30$) в рану однократно вводили пластину с блокатором SP600125. Контрольной группе животных ($n = 30$) однократно вводили пластину без активного вещества. Для зашивания раны на кожу накладывали пять швов нитью пролен 4/0 (Ethicon). Через 7 суток швы снимали. Животных выводили из эксперимента в сроки от 2 часов до 30 суток.

Исследования выполняли с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (Страсбург, Франция, 1986), а также в соответствии с правилами гуманного обращения с животными, которые регламентированы «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755). Для исследования забирали фрагмент мышечной ткани из зоны травмы для гистологического исследования, фиксировали раствором FineFix (Milestone, Италия). Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

После фиксации осуществляли проводку и заливку материала в парафиновые блоки, изготавливали серийные срезы толщиной 3 мкм. Исследования проводили методом световой микроскопии с использованием стандартных окрасок гематоксилин-эозином. Проводили фотодокументирование изображений.

Морфометрию проводили с использованием программы ImageJ Национального института здо-

ровья (США) с набором модулей для медицинской морфометрии от Wayne Rasband. Применяли планметрический метод в модификации с использованием подсчёта элементов на 1 микрофотографии. Подсчёт морфологических элементов производили с использованием плагина «Cells counter» для «ImageJ» на микрофотографии, полученной при регистрации изображения через объектив 40× и фоторегистрирующую систему Nikon с 5 МПикс сенсором размером 2/3". При этом учитывали те объекты, которые полностью располагаются на микрофотографии, и прибавляли уменьшенное вдвое число объектов, пересечённых границами изображения.

На препарате подсчитывали количество миосателлитов и количество образующихся «мышечных почек».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что в контрольной группе единичные делящиеся миосателлиты зарегистрированы на 3-и сутки, максимальная интенсивность деления миосателлитов и образования мышечных почек в зоне травмы мышцы отмечена на 14-е сутки (рис. 1, 2).

В основной группе единичные делящиеся миосателлиты зарегистрированы на 1-е сутки, максимальная интенсивность деления миосателлитов и образования мышечных почек в зоне травмы мышцы отмечена на 7-е сутки, делящиеся миосателлиты зарегистрированы и на 14-е, и на 30-е сутки.

Экспериментальные исследования показали, что при использовании лекарственной пластины, содержащей блокатор JNK SP600125 с медленным высвобождением действующего вещества, количество делящихся миосателлитов и формирующихся мышечных почек в зоне травмы мышцы в основной группе на 7-е, 14-е и 30-е сутки было достоверно выше ($p < 0,05$), чем в контрольной (рис. 1 и 2). Полученные данные свидетельствуют об усилении регенерации мышечной ткани в зоне повреждения.

На рис. 3 показана высокая интенсивность деления миосателлитов и образования мышечных почек в зоне травмы мышцы в основной группе, на рис. 4 – единичные делящиеся миосателлиты и формирующаяся мышечная почка в зоне травмы мышцы в контрольной группе на 7-е сутки после травмы.

Как известно, митогенактивируемые протеинкиназы принимают участие в регуляции деления клеток и апоптоза [6]. В доступной литературе обсуждаются вопросы участия МАРК механизмов в регуляции репарации мышечной ткани. В частности, доказано участие p38 [7, 11] и ERK МАРК в передаче сигналов к дифференцировке [9]. Гораздо меньше внимания уделено JNK каскаду. Нашими предварительными исследованиями установлено, что активная фосфорилированная форма JNK в зоне травматического повреждения мышцы выявляется с 3-х по 9-е сутки после травмы, причём окрашиваются мышечные почки [5].

Результаты настоящего исследования позволяют считать, что локальная блокада JNK МАРК в зоне повреждения мышечной ткани обеспечивает возможность стимуляции репарации повреждённой скелетной мышцы.



Рис. 1. Количество мышечных почек на препарате.
Fig. 1. The amount of muscle buds on the preparation.



Рис. 2. Количество миосателлитов на препарате.
Fig. 2. The amount of myosatellites on the preparation.

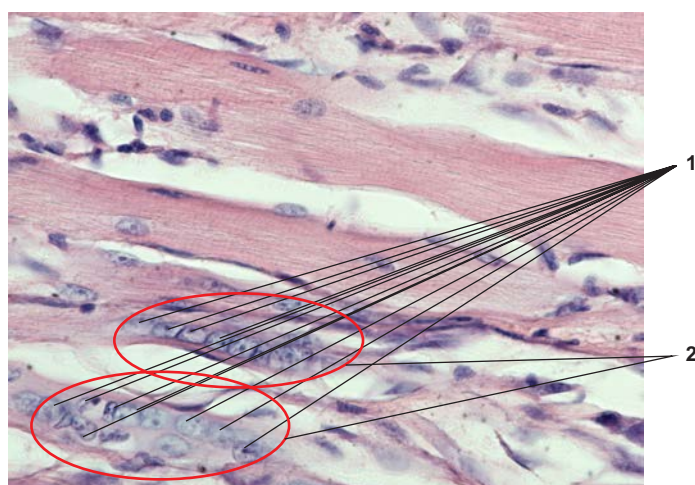


Рис. 3. Мышечные почки и большое количество делящихся миосателлитов на препарате, основная группа, 7-е сутки, окраска гематоксилином и эозином, 400х. 1 – ядра миосателлитов; 2 – мышечные почки.
Fig. 3. Muscle buds and large amount of deviding myosatellites on the preparation, the main group, the 7th day, haematoxylin and eosin staining, 400x. 1 – nuclei of myosatellites; 2 – muscle buds.

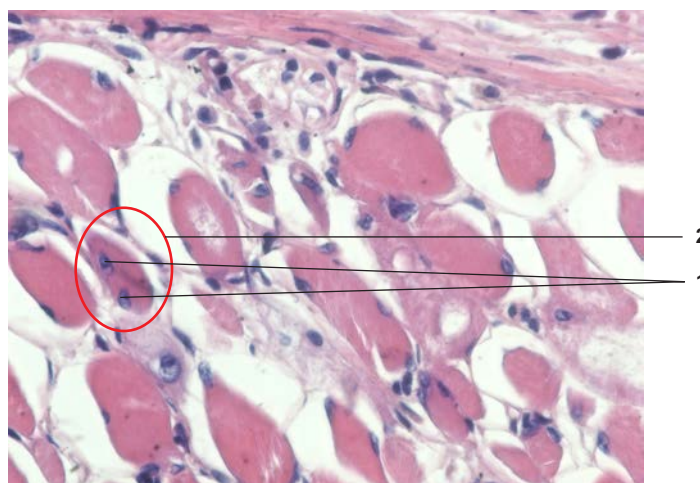


Рис. 4. Мышечная почка и единичные делящиеся миосателлиты на препарате, контрольная группа, 7-е сутки, окраска гематоксилином и эозином, 400х. 1 – ядра миосателлитов; 2 – мышечная почка.
Fig. 4. The muscle bud and individual deviding myosatellites on the preparation, the control group, the control group, haematoxylin and eosin staining, 400x. 1 – nuclei of myosatellites; 2 – muscle buds.

**ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES**

1. Лекарственная плёнка пролонгированного действия, способ изготовления и способ её приме-

нения: Пат. № 2445074 Рос. Федерация; МПК А61К 9/00 (2006.01), А61К 47/10 (2006.01), А61К 47/38 (2006.01), А61Р 17/02 (2006.01) / М. Г. Шурыгин, И. А. Шурыгина; заявитель и патентообладатель Учреждение Россий-

ской академии медицинских наук Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии Сибирского отделения РАМН. – № 2010127029/15, заявл. 01.07.2010; опублик. 20.03.2012. – Бюл. № 8.

Shurygin MG, Shurygina IA. (2012). Drug film of prolonged action, the method of manufacture and the method of its application: Patent 2445074 of the Russian Federation [*Lekarstvennaya plenka prolongirovannogo deystviya, sposob izgotovleniya i sposob ee primeneniya: Pat. № 2445074 Ros. Federatsiya*].

2. Способ восстановления функции поврежденной скелетной мышцы: Пат. № 2302215 Рос. Федерация; МПК А61В 17/56, А61К 35/32 / Мулдашев Э.Р., Нигматуллин Р.Т., Гафаров В.Г., Мухаметов А.Р., Шангина О.Р., Щербakov Д.А., Салихов Э.А.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное учреждение «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию». – № 2005126878/14; заявл. 25.08.2005; опублик. 10.07.2007. – Бюл. № 19.

Muldashev ER, Nigmatullin RT, Gafarov VG, Mukhamevov AR, Shangina OR, Sherbakov DA, Salikhov EA. (2007). A method for restoring the function of a damaged skeletal muscle: Patent 2302215 of the Russian Federation [*Sposob vosstanovleniya funktsii povrezhdennoy skeletnoy myshtsy: Pat. № 2302215 Ros. Federatsiya*].

3. Способ приготовления средства, обладающего свойством стимуляции регенерации хрящевой, костной, мышечной тканей и способ стимуляции регенерации хрящевой, костной, мышечной тканей с использованием приготовленного средства: Пат. № 2527701 Рос. Федерация; МПК А61К 38/21, А61К 47/30, А61Р 19/02 / Лебедев В.Ф., Дмитриева Л.А., Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Сумароков А.В., Коршунова Е.Ю.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – № 2013123962/15; заявл. 24.05.2013; опублик. 10.09.2014. – Бюл. № 25.

Lebedev VF, Dmitrieva LA, Shurygina IA, Shurygin MG, Sumarokov AV, Korshunova EY. (2014). A method for preparing an agent having the property of stimulating the regeneration of cartilage, bone and muscle tissues, and a method of stimulating the regeneration of cartilage, bone, and muscle tissues using a prepared preparation: Patent 252770 of the Russian Federation [*Sposob prigotovleniya sredstva, obladayushchego svoystvom stimulyatsii regeneratsii khryashchevoy, kostnoy, myshechnoy tkaney i sposob stimulyatsii regeneratsii khryashchevoy, kostnoy, myshechnoy tkaney s ispol'zovaniem prigotovlennogo sredstva: Pat. № 252770 Ros. Federatsiya*].

**Сведения об авторах
Information about the authors**

Шурыгина Ирина Александровна – доктор медицинских наук, профессор РАН, заместитель директора по науке, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1; тел. (3952) 29-03-69; e-mail: irinashurygina@gmail.com) © <http://orcid.org/0000-0003-3980-050X>

Shurygina Irina Aleksandrovna – Doctor of Medical Sciences, Professor of RAS, Deputy Director for Science, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (664003, Irkutsk, ul. Bortsov Revolyutsii, 1; tel. (3952) 29-03-69; e-mail: irinashurygina@gmail.com) © <http://orcid.org/0000-0003-3980-050X>

Шурыгин Михаил Геннадьевич – доктор медицинских наук, заведующий научно-лабораторным отделом, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (e-mail: shurygin@rambler.ru) © <http://orcid.org/0000-0001-5921-0318>

Shurygin Mikhail Gennadyevich – Doctor of Medical Sciences, Head of the Scientific Laboratory Department, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (e-mail: shurygin@rambler.ru) © <http://orcid.org/0000-0001-5921-0318>

4. Шурыгин М.Г., Болбат А.В., Шурыгина И.А. Миосателлиты как источник регенерации мышечной ткани // *Фундаментальные исследования*. – 2015. – № 1–8. – С. 1741–1746.

Shurygin MG, Bolbat AV, Shurygina IA. (2015) Myosatellite cells as a source of regeneration of muscle tissue [Miosatellity kak istochnik regeneratsii myshechnoy tkani]. *Fundamental'nye issledovaniya*, (1-8), 1741-1746.

5. Шурыгина И.А., Дремина Н.Н., Шаульская Е.С., Шурыгин М.Г. Активность митогенактивируемых сигнальных каскадов при травме поперечнополосатой мышцы // *Современные проблемы науки и образования*. – 2016. – № 5. – С. 145.

Shurygina IA, Dremina NN, Shaul'skaya ES, Shurygin MG. (2016) Activity of mitogen-activated signal cascades in trauma of muscle [Aktivnost' mitogenaktiviruemykh signal'nykh kaskadov pri travme poperechnopolosatoy myshtsy]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*, (5), 145.

6. Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Зеленин Н.В., Гранина Г.Б. Роль MAP-киназных механизмов в регуляции клеточного роста (обзор литературы) // *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. – 2009. – Т. 89, № 6. – С. 36–40.

Shurygina IA, Shurygin MG, Zelenin NV, Granina GB. (2009) Role of MAP-kinase mechanisms in the regulation of cell growth (review) [Rol' MAP-kinaznykh mekhanizmov v regulyatsii kletochnoy rosta (obzor literatury)]. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*, (6), 36-40.

7. De Angelis L. (2005). Regulation of vertebrate myotome development by the p38MAPkinase-MEF2 signaling pathway. *Dev Biol*, 283, 171-179. DOI: 10.1016/j.ydbio.2005.04.009

8. Fukada SI. (2018). The roles of muscle stem cells in muscle injury, atrophy and hypertrophy. *J Biochem*, 163 (5), 353-358. DOI: 10.1093/jb/mvy019

9. Jang YN, Baik EJ. (2013). JAK-STAT pathway and myogenic differentiation. *JAKSTAT*, 2 (2), e23282. DOI: 10.4161/jkst.23282

10. Hwang AB, Brack AS. (2018). Muscle stem cells and aging. *Curr Top Dev Biol*, 126, 299-322. DOI: 10.1016/bs.ctdb.2017.08.008

11. Ruiz-Bonilla V. (2008). Efficient adult skeletal muscle regeneration in mice deficient in p38beta, p38gamma and p38delta MAP kinases. *Cell Cycle*, 7 (14), 2208-2214.

12. Relaix F, Zammit PS. (2012) Satellite cells are essential for skeletal muscle regeneration: the cell on the edge returns centre stage. *Development*, 139 (16), 2845-2856. DOI: 10.1242/dev.069088

13. Yusuff F, Brand-Saberi B. (2012). Myogenesis and muscle regeneration. *Histochem Cell Biol*, 138 (2), 187-199. DOI: 10.1007/s00418-012-0972-x

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ EPIDEMIOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2018-3.5.21

УДК 616-006.5-092.6:618.146-006.6 (571.53)

Беляева Е.В.¹, Токарская О.А.², Белохвостикова Т.С.³, Байрова Т.А.¹

Частота инфицирования вирусом папилломы человека населения города Иркутска *

¹ ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)² ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1, Россия)³ Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

Обоснование. Вирус папилломы человека (ВПЧ) является ведущим этиологическим фактором рака шейки матки, одного из самых распространенных онкологических заболеваний. В регионах Российской Федерации (РФ) папилломавирусная инфекция имеет различную частоту встречаемости от 13 до 68.4%.

Цель исследования: установить частоту выявления вируса папилломы человека среди женщин и мужчин в г. Иркутске по данным обращаемости.

Материал и методы. Ретроспективно проведен анализ результатов лабораторных исследований пациентов, которые за период с 2014 по 2016 гг. обратились в медицинское учреждение для диагностики вируса папилломы человека. За указанный период было обследовано 13 090 человек в возрасте от 18 до 67 лет, из них 11 174 женщины и 1 916 мужчин. Диагностику ВПЧ проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), с гибридационно-флуоресцентной детекцией по конечной точке и в режиме реального времени. Материалом для исследования служил клинический материал: у женщин – соскоб эпителия цервикального канала или эпителия с поверхности шейки матки; у мужчин – соскоб эпителия уретры. Статистическая обработка данных проводилась с использованием статистической программы «BioStat». При сравнении выборок использовали непараметрические критерии – критерий χ^2 и z-критерий.

Результаты. Установлено, что по данным обращаемости частота выявления ВПЧ в г. Иркутске составляет 21,1 %, среди женщин – 21,9 %, среди мужчин – 16,4 %. Показано, что в выборке женщин частота выявления возбудителя папилломавирусной инфекции значимо больше, чем в выборке мужчин ($p < 0,001$).

Заключение. Проведенное исследование позволило установить, что частота выявления ВПЧ в Иркутске составляет 21.1 % и характеризуется гендерными отличиями.

Ключевые слова: папилломавирусная инфекция, вирус папилломы человека, рак шейки матки, скрининг

Для цитирования: Беляева Е.В., Токарская О.А., Белохвостикова Т.С., Байрова Т.А. Частота инфицирования вирусом папилломы человека населения города Иркутска. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 141-147, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.21.

Frequency of Human Papilloma Virus in Irkutsk Population

Belyaeva E.V.¹, Tokarskaya O.A.², Belokhvastikova T.S.³, Bairova T.A.¹¹ Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (ul. Timiryazeva 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)² Irkutsk State University

(ul. Karla Marksa 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

³ Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

Background. In the regions of the Russian Federation (RF), papillomavirus infection in women of reproductive age is characterized by different frequency of occurrence from 13 to 68.4 %.

Aims: to establish the frequency of detection of human papilloma virus in Irkutsk, according to the data of circulation.

Materials and methods. The article presents the results of the medical examination of residents of Irkutsk on the presence DNA of human papilloma virus. We analyzed the results of laboratory studies of patients who from 2014 to 2016 turned to the medical institution for the diagnosis of human papilloma virus. For the period surveyed was 13 090 man, age from 18 to 67 years, including 11 174 women and 1 916 male. The diagnosis of HPV was carried out by polymerase chain reaction (PCR).

* Статья опубликована на основании доклада на III Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, октябрь, 2018).

Results. It was found the frequency of HPV in Irkutsk in the general population is 21.1 %, among women – 21.9 %, among male – 16.4 %. It was shown that the frequency of detection of papillomavirus infection in the sample of women was significantly higher than in the sample of men ($p < 0.001$).

Conclusions: It was shown that the frequency of HPV is 21.1 % the frequency of detection of the pathogen of papillomavirus infection in the sample of women was significantly higher ($p < 0.001$) than in the sample of male.

Key words: papillomavirus infection, human papillomavirus, cervical cancer, screening

For citation: Belyaeva E.V., Tokarskaya O.A., Belokhvosikova T.S., Bairova T.A. Frequency of human papilloma virus in Irkutsk population. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 141-147, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.21.

Вирус папилломы человека (ВПЧ) является потенциально онкогенной инфекцией, передаваемой половым путём [33]. Приблизительно 291 млн женщин во всем мире являются носителями ВПЧ [32]. Папилломавирусы – это семейство небольших, не имеющих оболочку вирусов с двухцепочечной молекулой ДНК [29]. Несмотря на долгую коэволюционную историю вместе со своими хозяевами, некоторые папилломавирусы являются патогенами [34], которые поражают главным образом эпителиальные клетки.

Результаты эпидемиологических и молекулярно-биологических исследований позволили установить ведущую роль папилломавирусной инфекции в этиологии рака шейки матки [24, 29]. Установлено, что частота обнаружения ВПЧ и вирусная нагрузка увеличиваются в соответствии с повышением степени патологического поражения шейки матки [28]. У пациентов с раком шейки матки практически в 100 % случаев выявляется ВПЧ [21, 35]. Установлено, что различные типы ВПЧ обладают различным риском в отношении развития онкогинекологической патологии [23, 31]. Согласно таксономии международного справочного центра по вирусу папилломы человека «International Human Papillomavirus Reference Center», 13 типов ВПЧ признаны высокорисковыми (HR-ВПЧ) [26]. Именно персистирующая инфекция высокорисковых типов папилломавирусов человека (HR-HPV) связана с развитием цервикального предрака и рака. Наиболее агрессивные типы ВПЧ – 16 и 18 – вызывают около 70 % случаев рака шейки матки [20].

Согласно данным эпидемиологических исследований, частота встречаемости ВПЧ значительно варьирует в различных этнико-географических регионах и зависит как от социально-экономических условий, так и от медико-профилактических мероприятий [22]. В Российской Федерации папилломавирусная инфекция у женщин репродуктивного возраста характеризуется различной частотой встречаемости – от 13 до 68,4 %, с наибольшей частотой в большинстве регионов регистрируется ВПЧ 16-го типа [3].

В связи с вышесказанным актуальность исследований, связанных с ВПЧ-инфекцией, не вызывает сомнений, однако данные о распространённости вируса папилломы человека в различных регионах РФ неоднозначны.

Целью исследования стало установление частоты выявления вируса папилломы человека у жителей г. Иркутска по данным обращаемости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ретроспективно проведён анализ результатов лабораторных исследований, выполненных методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), направленных

на выявление ДНК возбудителя папилломавирусной инфекции в клиническом материале. Проанализированы результаты медицинского обследования пациентов по самообращению и врачебным направлениям, которые в период с 2014 по 2016 гг. обратились в Независимую клиничко-диагностическую лабораторию ООО «ЮНИЛАБ-Иркутск» для соответствующего исследования. За данный период были обследованы 13 090 человек в возрасте от 18 до 67 лет, из них 11 174 женщины и 1 916 мужчин. В исследование были включены все пациенты, обратившиеся за указанный период времени для диагностики папилломавирусной инфекции, цель обследования пациента и диагноз были скрыты от исследователей. Из исследования были исключены пациенты с повторным обращением.

Материалом для лабораторных исследований служил клинический материал: у женщин – соскоб эпителия цервикального канала или эпителия с поверхности шейки матки; у мужчин – соскоб эпителия уретры. Забор клинического материала осуществлялся с использованием одноразовых цитологических щётки или универсальных зондов в пробирки с транспортной средой, рекомендованной производителями наборов реагентов для выделения ДНК.

Экстракцию ДНК осуществляли с использованием комплекта реагентов «АмплиПрайм ДНК-сорб-АМ» (ООО «Некст-Био», Россия) и комплекта реагентов «Эдем» (ФГНУ ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Экстракцию ДНК проводили согласно инструкции и методическим рекомендациям производителей соответствующих наборов реагентов.

Для диагностики возбудителя папилломавирусной инфекции проводили амплификацию специфических участков ДНК вируса папилломы человека с использованием метода ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией по конечной точке и в режиме реального времени. Для проведения ПЦР с детекцией по конечной точке использовали многоканальный амплификатор ДНК «Терцик» и детектор флуоресценции «Джин» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Для детекции в режиме реального времени использовали автоматический программируемый амплификатор «Rotor-Gene 6000» (Corbett Research, Австралия) и «ДТ 96 Прайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Для амплификации специфических участков ДНК возбудителя папилломавирусной инфекции использовали следующие комплекты реагентов: «Амплисенс ВПЧ ВКР скрин-титр-FL» и «Амплисенс ВПЧ ВКР генотип FRT» (ФГНУ ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия), «HPV Квант-21» и «ВПЧ-ГЕН-16/18» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием прикладной статистической программы «BioStat». При сравнении выборок использовали непараметрический критерий χ^2 , для анализа различий относительной частоты признака, выраженной в %, – z-критерий. Нулевую гипотезу об отсутствии статистически значимых отличий между группами отклоняли при уровне значимости 5 % ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Был проведён ретроспективный анализ результатов лабораторных исследований пациентов, обратившихся в медицинское учреждение для диагностики папилломавирусной инфекции. За период с 2014 по 2016 гг. общее число пациентов, обследованных на присутствие ДНК вируса папилломы человека, составило 13 090 человек, положительные результаты («обнаружена ДНК ВПЧ») были зарегистрированы у 2 761 человека. Частота выявления возбудителя папилломавирусной инфекции в общей выборке пациентов составила 21,1 % (табл. 1).

Таблица 1

Частота выявления вируса папилломы человека (ВПЧ) у жителей г. Иркутска по данным обращаемости (2014–2016 гг.)

Table 1

Frequency of human papilloma virus (HPV) in Irkutsk residents according to the data of medical aid appealability (2014–2016)

| Выборка | Количество обследованных пациентов, абс. | Частота результатов «обнаружено ВПЧ», абс. / % |
|---------------|--|--|
| Общая выборка | 13 090 | 2 761 / 21,1 % |
| Женщины | 11 174 | 2 446 / 21,9 % |
| Мужчины | 1 916 | 315 / 16,4 % |

Большинство пациентов, обратившихся для обследования на ВПЧ – женщины (85 %). Показано, что каждая пятая пациентка имела положительные результаты на ВПЧ. Нами обнаружены гендерные различия в частоте выявления ВПЧ среди пациентов, обратившихся для обследования. В выборке женщин частота выявления возбудителя папилломавирусной инфекции оказалась значимо больше ($\chi^2 = 28,858$; d.f. = 1; $p < 0,001$), чем в выборке мужчин.

За трёхлетний период наблюдения частота выявления ВПЧ в общей выборке пациентов имела тенденцию к незначительному снижению – 24,7 % (2014 г.), 20,6 % (2015 г.), 20,7 % (2016 г.) (рис. 1). При этом частота выявления ВПЧ в 2015 и 2016 гг. не имела значимых отличий ($z = 0,11$; $p = 0,912$), однако частота выявления ВПЧ в 2014 г. статистически значимо отличалась от частоты выявления ВПЧ в 2015 г. ($z = 3,300$; $p < 0,001$) и 2016 г. ($z = 3,270$; $p = 0,001$). Вероятнее всего, это объясняется положительным изменением динамики обращаемости населения для обследования на выявления возбудителя папилломавирусной инфекции. Так, обращаемость пациентов для соответствующего обследования в 2015 г. увеличилась в 3,8 раза по сравнению с 2014 г., а в 2016 г. увеличилась ещё на 17 %, по сравнению с 2015 г.

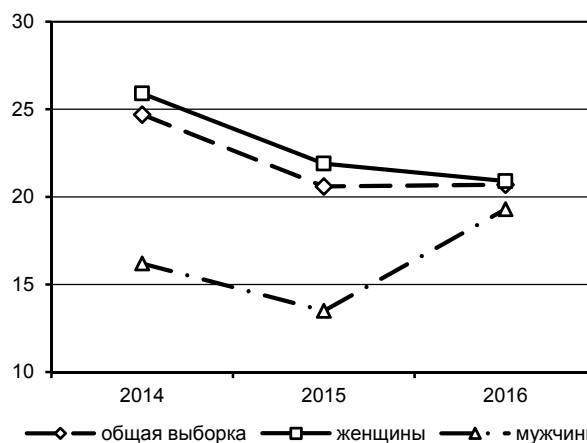


Рис. 1. Динамика частоты выявления ВПЧ в общей выборке пациентов, в выборках женщин и мужчин (2014–2016 гг.).

Fig. 1. Dynamics of HPV frequency in the ITT population, in women and men.

Аналогичная ситуация наблюдалась в выборке женщин, где частота выявления ВПЧ также имела тенденцию к снижению – 25,9 % (2014 г.), 21,9 % (2015 г.), 20,9 % (2016 г.). Частота выявления ВПЧ в выборке женщин в 2015 и 2016 гг. не имела значимых отличий ($z = 1,187$; $p = 0,235$), при этом частота выявления ВПЧ в 2014 г. значимо отличалась от таковой в 2015 г. ($z = 2,928$; $p = 0,003$) и 2016 г. ($z = 3,791$; $p < 0,001$). В 2015 г., по сравнению с 2014 г., обращаемость женщин для обследования на ВПЧ увеличилась в 3,7 раза, что, вероятно, привело к снижению частоты выявления ВПЧ на 4 %. В дальнейшем, в 2016 г. частота обращаемости женщин изменилась незначительно с увеличением на 19 %, поэтому частота выявления ВПЧ в группе женщин осталась практически на том же уровне.

В выборке мужчин наблюдалось колебание частоты выявления ВПЧ – 16,2 (2014 г.), 13,5 % (2015 г.), 19,3 % (2016 г.). В 2015 г. произошло незначимое снижение частоты выявления ВПЧ на 2,7 %, по сравнению с 2014 г. ($z = 0,829$; $p = 0,407$), которое сопровождалось дальнейшим повышением частоты выявления ВПЧ в 2016 г. на 5,8 % ($z = 3,194$; $p = 0,001$). При этом обращаемость мужчин для обследования имела положительную динамику и сопровождалась увеличением выборки в 2015 г. по сравнению с 2016 г. в 4,8 раза. В дальнейшем, в 2016 г. обращаемость пациентов осталась практически на том же уровне с увеличением числа обследованных только на 4 %.

Таким образом, динамика выявления частоты ВПЧ в общей выборке пациентов и в выборке женщин имеет сходную тенденцию, отличную от частоты выявления ВПЧ в выборке мужчин. Вероятно, это связано с тем, что обращаемость женщин для обследования на выявление возбудителя папилломавирусной инфекции за три года наблюдений была в 5,8 раза больше, чем обращаемость мужчин.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведённое нами исследование позволило установить частоту выявления ВПЧ среди жителей г. Иркутска по данным обращаемости на уровне 21,1 %, среди женщин – 21,9 %, среди мужчин – 16,4 %.

Исследования по частоте выявления папилломавирусной инфекции проводятся во многих регионах РФ [14, 15]. Однако в них используются различные подходы к формированию групп исследования. В большинстве случаев объектом исследования становятся пациенты лечебных учреждений гинекологического и онкологического профиля [5, 16]. В подобных работах, как правило, анализируется частота инфицирования ВПЧ в зависимости от степени патологического поражения шейки матки. По мере увеличения степени морфологических изменений – от фоновой патологии шейки матки (ФПШМ) до рака шейки матки (РШМ) – возрастает частота инфицирования ВПЧ. По данным ряда авторов, при ФПШМ частота выявления ВПЧ составляет от 26,5 % [16] до 58,5 % [5], а в случае РШМ частота инфицирования ВПЧ достигает 96,8 % [17].

Другим подходом к формированию групп исследования становится анализ результатов обследования пациенток, самостоятельно обратившихся в медицинское учреждение для обследования на наличие инфекций, передающихся половым путём (ИППП) [1, 2, 18] или для планового осмотра [7, 19]. Частота выявления ВПЧ в этих группах пациентов ниже, чем у женщин с патологическими изменениями шейки матки. Так, по данным ряда авторов, частота выявления ВПЧ среди пациентов, обратившихся по поводу обследования на ИППП, составляет от 37,7 % [18] до 52,2 % [1]. Среди пациентов, обратившихся для планового осмотра, частота выявления ВПЧ составляет 13 % [7, 19].

Ещё одним подходом к формированию групп исследования является скрининг. Такие крупномасштабные исследования охватывают значительные выборки населения и отражают частоту распространения папилломавирусной инфекции в данном регионе. Однако подобные исследования требуют значительного финансирования и проводятся лишь в некоторых Федеральных округах [9]. По данным скрининговых исследований, частота выявления ВПЧ составляет 14 %, что значительно ниже, чем среди пациентов, обратившихся в медицинские учреждения для обследования на ИППП или находящихся на лечении в учреждениях гинекологического или онкологического профиля.

Несмотря на то, что инфицирование вирусом папилломы представляет опасность в отношении возможного патологического изменения шейки матки вплоть до рака шейки матки, ВПЧ является условным патогеном. Показано, что в мире у 12 % женщин с нормальной цитологической картиной шейки матки выявляется ВПЧ-инфекция [15]. В России у женщин, не имеющих морфологических изменений эпителия шейки матки, частота выявления ВПЧ составляет, по некоторым оценкам, от 20 % [16] до 45 % [8].

В Иркутске был проведён ряд исследований по изучению частоты ВПЧ в различных выборках в зависимости от пола и возраста обследованных лиц [2, 3, 18, 27]. По нашим данным, частота выявления ВПЧ среди женщин составила 21,9 %, что значительно меньше, чем в исследовании О.Ю. Шипулиной с соавт., где частота ВПЧ среди женщин, обратившихся для обследова-

ования на ИППП, составила 37,75 % [18]. Вероятнее всего, это объясняется тем, что наше исследование не имело возрастного ограничения, а в исследовании Шипулиной рассматривалась группа женщин репродуктивного возраста от 25 до 35 лет. По данным ряда авторов, при анализе частоты встречаемости ВПЧ в различных возрастных группах показано, что с наибольшей частотой ВПЧ выявляется среди контингента молодых сексуально активных женщин [2, 11, 12, 13].

Наши результаты о гендерных отличиях в частоте выявления возбудителя папилломавирусной инфекции подтверждают данные исследования, проведённого среди жителей г. Ростова-на-Дону, где было показано, что частота ВПЧ в выборке женщин в два раза больше, чем в выборке мужчин [13].

Таким образом, исследования, проведённые в различных регионах РФ, показывают, что частота выявления ВПЧ в скрининговых исследованиях в разы ниже, чем среди контингента женщин, являющихся пациентками медицинских учреждений гинекологического и онкологического профилей. Это является закономерным, учитывая, что ВПЧ является этиологическим фактором диспластических изменений эпителия шейки матки, а также может приводить к формированию рака шейки матки.

В настоящее время в Российской Федерации наблюдается ухудшение соматического и репродуктивного здоровья населения [10]. В России РШМ занимает 6-е место в общей структуре онкологических заболеваний [6]. Это заболевание имеет вирусную природу, хорошо распознаваемую начальную или пре-клиническую стадию и длительный инкубационный период, а значит удовлетворяет требованиям, предъявляемым к программам для проведения популяционного скрининга [4]. С целью профилактики РШМ ряд международных организаций, таких, как ВОЗ, Международное агентство по изучению рака (IARC), Европейская научно-исследовательская организация по генитальным инфекциям и новообразованиям (EUROGIN), Европейское общество по инфекционным заболеваниям в акушерстве и гинекологии (ESIDOG), Американское общество по кольпоскопии и патологии шейки матки (ASCCP), рекомендуют включение теста на исследование наличия ДНК папилломавируса в программы популяционного скрининга наряду с цитологическим скринингом [5, 6].

Ещё одним подходом для профилактики РШМ является вакцинация. Имеются убедительные данные о том, что вакцины против ВПЧ защищают от цервикального предрака и рака [20]. В исследовании, проведённом в США, были проанализированы данные Национального обследования в области здравоохранения и питания (NHANES – National Health and Nutrition Examination Survey) за 2007–2012 гг. для оценки эффективности вакцинации женщин против ВПЧ. Обнаружено, что у вакцинированных женщин частота распространения ВПЧ была существенно ниже, чем у невакцинированных (7,4 % против 17,1 %) [25]. В Англии через восемь лет после введения национальной программы вакцинации против ВПЧ произошло значительное сокращение числа выявления папилломавирусной инфекции [30].

В настоящее время в РФ национальная программа по профилактике РШМ находится в стадии разработки [15]. Скрининг на РШМ носит неорганизованный характер и основан на обращаемости женщин в медицинские учреждения, вакцинация против ВПЧ пока не включена в национальный график прививок. В этой связи оценка региональных особенностей частоты распространения папилломавирусной инфекции и оценка факторов риска, характерных для каждого региона, являются необходимыми условиями для разработки профилактических программ онкогинекологической патологии, направленных на раннее выявление РШМ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рак шейки матки является важной проблемой общественного здоровья, занимая первое место в структуре женской онкологической патологии. Вирус папилломы человека выступает этиологическим фактором патологических изменений эпителия шейки матки, при этом частота его распространения достаточно высокая в России и мире. В Иркутске частота выявления ВПЧ, по данным трёхлетнего наблюдения, в общей выборке жителей, обратившихся для обследования, составила 21,3 %. Обнаружены гендерные отличия в частоте выявления ВПЧ. Частота выявления возбудителя папилломавирусной инфекции в выборке женщин составила 22 %, в выборке мужчин она оказалась на 5,5 % меньше и составила 16,4 % ($p < 0,001$). Данные по частоте выявления ВПЧ, полученные в нашем исследовании, основаны на обращаемости жителей для обследования, поэтому не отражают распространённости папилломавирусной инфекции в нашем регионе, однако могут служить основой для дальнейших исследований, направленных на изучение эпидемиологических особенностей распространения папилломавирусной инфекции в Иркутске.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Абрамовских О.С., Летяева О.И. Возрастные аспекты папилломавирусной инфекции у женщин репродуктивного возраста в Челябинской области // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Образование, здравоохранение, физическая культура. – 2011. – № 20 (237). – С. 131–134.
2. Abramovskikh OS, Letyaeva OI. (2011). Age aspects of papillomavirus infection in women of reproductive age in the Chelyabinsk region [Vozrastnye aspekty papillomavirusnoy infektsii u zhenshchin reproduktivnogo vozrasta v Chelyabinskoy oblasti]. *Vestnik Yuzhno-Ural'skogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Obrazovanie, zdravookhraneniye, fizicheskaya kul'tura*, (20), 131-134.
3. Беляева Е.В., Первушина О.А. Частота встречаемости вируса папилломы человека у девушек и женщин в разных возрастных группах, проживающих в г. Иркутске // Инфекционные болезни. – 2013. – Т. 11, № S1. – С. 52–53.
4. Belyaeva EV, Pervushina OA. (2013). Frequency of human papilloma virus in girls and women in different age groups living in Irkutsk [Chastota vstrechaemosti virusa papillomy cheloveka u devushek i zhenshchin v raznykh vozrastnykh gruppakh, prozhivayushchikh v g. Irkutsk]. *Infektsionnye bolezni*, 11 (S1), 52-53.
5. 3. Беляева Е.В., Токарская О.А., Байрова Т.А. Особенности распространения папилломавирусной инфекции в различных регионах Российской Федерации (обзор литературы) // Acta Biomedica Scientifica. – 2018. – Т. 3, № 3. – С. 127–135.
6. Belyaeva EV, Tokarskaya OA, Bairova TA. (2018). Features of human papillomavirus infection frequency in different regions of the Russian Federation (literature review) [Osobennosti rasprostraneniya papillomavirusnoy infektsii v razlichnykh regionakh Rossiyskoy Federatsii (obzor literatury)]. *Acta Biomedica Scientifica*, 3 (3), 127-135.
7. 4. Видяева И.Г., Уразова Л.Н., Никитина Е.Г., Агаркова Л.А., Габитова Н.А., Резникова О.В., Шипулина О.Ю. Частота выявления вируса папилломы человека высокого онкогенного риска у женщин репродуктивного возраста Томской области // Сибирский медицинский журнал (г. Томск). – 2008. – Т. 23, № 4-1. – С. 56–57.
8. Vidyaeva IG, Urazova LN, Nikitina EG, Agarkova LA, Gabitova NA, Reznikova OV, Shipulina OYu. (2008). Prevalence of human papillomavirus with increased cancer risk in reproductive-aged women of the Tomsk region [Chastota vyyavleniya virusa papillomy cheloveka vysokogo onkogennoogo riska u zhenshchin reproduktivnogo vozrasta Tomskoy oblasti]. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (g. Tomsk)*, 23 (4-1), 56-57.
9. 5. Видяева И.Г., Уразова Л.Н., Писарева Л.Ф., Никитина Е.Г., Мансурова Г.Н., Шивит-Оол А.А., Макарова Н.Н. Выявление и количественное определение широкого спектра ВПЧ у женщин репродуктивного возраста региона Сибири // Проблемы здоровья и экологии. – 2010. – № S. – С. 17–19.
10. Vidyaeva IG, Urazova LN, Pisareva LF, Nikitina EG, Mansurova GN, Shivit-Ool AA, Makarova NN. (2010). Detection and quantitative determination of wide HPV variety in reproductive women of Siberia [Vyyavlenie i kolichestvennoe opredelenie shirokogo spektra VPCh u zhenshchin reproduktivnogo vozrasta regiona Sibiri]. *Problemy zdorov'ya i ekologii*, (S), 17-19.
11. 6. Гончаревская З.Л., Лапочкина Н.П., Некрасов П.И., Бадалова Л.А., Теребнёва Л.А., Роговская С.И. Современные методы скрининга рака шейки матки и ВПЧ-тест: клинико-экономическая эффективность // Доктор.Ру. – 2014. – № S1 (5). – С. 11–16.
12. Goncharevskaya ZL, Lapochkina NP, Nekrasov PI, Badalova LA, Terebnyova LA, Rogovskaya SI. (2014). Clinical and economic effectiveness of HPV test and current screening methods for cervical cancer [Sovremennyye metody skrininga raka sheyki matki i VPCh-test: kliniko-ekonomicheskaya effektivnost']. *Doktor.Ru*, S1 (5), 11-16.
13. 7. Гончаревская З.Л., Шипулина О.Ю., Михеева И.В., Роговская С.И., Романюк Т.Н., Шипулин Г.А., Радзинский В.Е. Опыт использования ВПЧ-теста в цервикальном скрининге // Мать и дитя: Матер. XII Всерос. науч. форума. – М., 2011. – С. 286.
14. Goncharevskaya ZL, Shipulina OYu, Mikheeva IV, Rogovskaya SI, Romanyuk TN, Shipulin GA, Radzinskiy VE. (2011). Using HPV test in cervical screening [Opyt is-

pol'zovaniya VPCH-testa v tservikal'nom skrininge]. *Mat' i ditya: Materialy XII Vserossiyskogo nauchnogo foruma*. Moskva, 286.

8. Зотова М.А., Абрамовских О.С. Папилломавирусная инфекция у женщин при цитологической норме и цервикальной эктопии // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина. – 2011. – Т. 9, № 2. – С. 48–52.

Zotova MA, Abramovskikh OS. (2011). Human papillomavirus infection in women in normal cytology and cervical ectopia [Papillomavirusnaya infektsiya u zhenshchin pri tsitologicheskoy norme i tservikal'noy ektopii]. *Vestnik Novosibirskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Biologiya, klinicheskaya meditsina*, 9 (2), 48-52.

9. Кубанов А.А. Результаты генотипирования вируса папилломы человека при скрининговом исследовании в Московском регионе // Вестник дерматологии и венерологии. – 2005. – № 1. – С. 51–55.

Kubanov AA. (2005). Results of human papilloma virus gene typing from a screening study in Moscow region [Rezultaty genotipirovaniya virusa papillomy cheloveka pri skriningovom issledovanii v Moskovskom regione]. *Vestnik dermatologii i venerologii*, (2), 51-55.

10. Лещенко О.Я. Распространенность заболеваний, существенно влияющих на репродуктивный потенциал населения Иркутской области // Акта Biomedica Scientifica. – 2010. – № 6-2. – С. 121–125.

Leshchenko OYa. (2010). Prevalence of diseases having essential influence on reproductive potential of Irkutsk region population [Rasprostranennost' zabolevaniy, sushchestvenno vliyayushchikh na reproduktivnyy potentsial naseleniya Irkutskoy oblasti]. *Acta Biomedica Scientifica*, (6-2), 121-125.

11. Машкина Е.В., Коваленко К.А., Сараев К.Н., Лысенко О.В., Шкурат Т.П. Генодиагностика папилломавирусной инфекции у жителей Ростовской области // Валеология. – 2009. – № 3. – С. 21–28.

Mashkina EV, Kovalenko KA, Saraev KN, Lysenko OV, Shkurat TP. (2009). Gene diagnostics of papilloma virus infection in Rostov region [Genodiagnostika papillomavirusnoy infektsii u zhiteley Rostovskoy oblasti]. *Valeologiya*, (3), 21-28.

12. Мишина С.В., Яцук И.Г., Меджидова Х.М. Анализ частоты выявления вируса папилломы человека у женщин репродуктивного возраста, проживающих в Камчатском крае // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2009. – Т. 37, № 2. – С. 27–31.

Mishina SV, Yatsuk IG, Medzhidova KhM. (2009). Analysis of the frequency of human papillomavirus in women of reproductive age living in the Kamchatka region [Analiz chastoty vyyavleniya virusa papillomy cheloveka u zhenshchin reproduktivnogo vozrasta, prozhivayushchikh v Kamchatskom krae]. *Zdorov'e. Meditsinskaya ekologiya. Nauka*, 37 (2), 27-31.

13. Миктадова А.В., Сараев К.Н., Лебедев В.В., Полтавский М.А., Попова З.Г., Коваленко К.А. Анализ уровня инфицированности вирусом папилломы человека населения Ростова-на-Дону // Живые и биокосные системы. – 2014. – № S9. – С. 26.

Miktadova AV, Saraev KN, Lebedev VV, Poltavskiy MA, Popova ZG, Kovalenko KA. (2014). Analysis of the level of infection with the human papillomavirus in Rostov-on-

Don [Analiz urovnya infitsirovannosti virusom papillomy cheloveka naseleniya Rostova-na-Donu]. *Zhivye i biokosnye sistemy*, (S9), 26.

14. Роговская С.И., Михеева И.В., Шипулина О.Ю., Минкина Г.Н., Подзолкова Н.М., Радзинский В.Е., Шипулин Г.А. Распространенность папилломавирусной инфекции в России // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2012. – № 1 (62). – С. 25–33.

Rogovskaya SI, Mikheeva IV, Shipulina OYu, Minkina GN, Podzolkova NM, Radzinsky VE, Shipulin GA. (2012). Prevalence of human papillomavirus infection in Russia [Rasprostranennost' papillomavirusnoy infektsii v Rossii]. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*, (1), 25-33.

15. Роик Е.Е., Баранов А.Н., Трещева Н.Д. Эпидемиологические особенности папилломавирусной инфекции // Экология человека. – 2015. – № 5. – С. 21–26.

Roik EE, Baranov AV, Treshcheva ND. (2015). Epidemiological features of human papilloma virus infection [Epidemiologicheskie osobennosti papillomovirusnoy infektsii]. *Ekologiya cheloveka*, (5), 21-26.

16. Уразова Л.Н., Мерзлякова М.К., Никитина Е.Г., Писарева Л.Ф., Коломиец Л.А., Чуруксаева О.Н., Шивит-Оол А.А. Сравнительное изучение уровня инфицированности вирусом папилломы человека высокого онкогенного риска женского населения Томской области и республики Тыва // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2012. – № 6 (67). – С. 15–20.

Urazova LN, Merzlyakova MK, Nikitina EG, Pisareva LF, Kolomiets LA, Churuksaeva ON, Shivit-Ool AA. (2012). Comparative study of incidence of high-risk human papillomavirus infection in females of the Tyva Republic [Sravnitel'noe izuchenie urovnya infitsirovannosti virusom papillomy cheloveka vysokogo onkogenno riska zhenskogo naseleniya Tomskoy oblasti i respubliky Tyva]. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*, (6), 15-20.

17. Хараева З.Ф., Шевченко А.А., Сижажева О.А., Текуева М.М., Самойлик Н.И. Эпидемиологические особенности распространения папилломавирусной инфекции у женщин // Известия Кабардино-Балкарского научного центра РАН. – 2012. – № 3. – С. 243–246.

Kharaeva ZF, Shevchenko AA, Sihazheva OA, Tekueva MM, Samoylik NI. (2012). Epidemiological features of the incidence of papillomavirus infection in women [Epidemiologicheskie osobennosti rasprostraneniya papillomavirusnoy infektsii u zhenshchin]. *Izvestiya Kabardino-Balkarskogo nauchnogo tsentra RAN*, (3), 243-246.

18. Шипулина О.Ю., Максимова Е.Г. Распространенность ВПЧ-инфекции высокого онкогенного риска среди мужчин и женщин городов Москвы и Иркутска // Молекулярная диагностика – 2014: Сб. тр. VIII Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – М., 2014. – С. 198–200.

Shipulina OYu, Maksimova EG. (2014). Incidence of HPV infection of high oncogenic risk among men and women living in Moscow and Irkutsk [Rasprostranennost' VPCH-infektsii vysokogo onkogenno riska sredi muzhchin i zhenshchin gorodov Moskvy i Irkutsk]. *Molekulyarnaya diagnostika – 2014: Sbornik trudov VIII Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem*. Moskva, 198-200.

19. Шипулина О.Ю., Сильвейстрова О.Ю., Творогова М.Г. Первая российская панель для контроля каче-

ства выявления вируса папилломы человека высоко-го канцерогенного риска методами амплификации нуклеиновых кислот // Справочник заведующего КДЛ. – 2011. – № 5. – С. 35–44.

Shipulina OYu, Silveistrova OYu, Tvorogova MG. (2011). The first Russian panel for quality control of detection of human papilloma virus of high carcinogenic risk by nucleic acid amplification methods [Pervaya rossiyskaya panel' dlya kontrolya kachestva vyyavleniya virusa papillomy cheloveka vysokogo kantserogennoogo riska metodami amplifikatsii nukleinovykh kislot]. *Spravochnik zaveduyushchego KDL*, (5), 35-44.

20. Arbyn M, Xu L, Simoons C, Martin-Hirsch PP. (2018). Prophylactic vaccination against human papillomaviruses to prevent cervical cancer and its precursors. *Cochrane Database Syst Rev*, 9, 5, CD009069. DOI: 10.1002/14651858.CD009069.pub3

21. Bosch FX, de Sanjose S. (2007). The epidemiology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Dis Markers*, 23 (4), 213-227.

22. Forman D, de Martel C, Lacey CJ, Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Bruni L, Vignat J, Ferlay J, Bray F, Plummer M, Franceschi S. (2012). Global burden of human papillomavirus and related diseases. *Vaccine*, 30 (Suppl 5), 12-23. DOI: 10.1016/j.vaccine.2012.07.055

23. Franco EL, Duarte-Franco E, Ferenczy A. (2001). Cervical cancer: epidemiology, prevention and the role of human papillomavirus infection. *CMAJ*, 164 (7), 1017-1025.

24. Gamaoun R. (2018). Awareness and knowledge about cervical cancer prevention methods among Tunisian women. *J Prev Med Hyg*, 59 (1), 30-35. DOI: 10.15167/2421-4248/jpmh2018.59.1.709

25. Guo F, Hirth JM, Berenson AB. (2015). Comparison of HPV prevalence between HPV-vaccinated and non-vaccinated young adult women (20-26 years). *Hum Vaccin Immunother*, 11 (10), 2337-2344. DOI: 10.1080/21645515.2015.1066948

26. International Human Papillomavirus (HPV). Available at : <http://www.nordicehealth.se/hpvcenter>.

27. Leshchenko O, Belyaeva E, Yershova O, Atalyan A, Timofeeva E. (2017). The frequency of human papilloma virus in women of reproductive age with infection. *J Low Genit Tract Dis*, 21 (2 S1), S39-S40.

28. Li TY, Wu ZN, Jiang MY, Cui JF, Liu B, Chen F, Chen W. (2018). Association between high risk human papillomavirus DNA load and cervical lesions in different infection status. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 40 (6), 475-480. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2018.06.015

29. Mattosio D, Medda A, Chiocca S. (2018). Human papilloma virus and autophagy. *Int J Mol Sc*, 19 (6). PII: E1775. DOI: 10.3390/ijms19061775

30. Meshor D, Panwar K, Thomas SL, Edmundson C, Choi YH, Beddows S, Soldan K. (2018). The impact of the national HPV vaccination program in England using the bivalent HPV vaccine: surveillance of type-specific HPV in young females, 2010-2016. *J Infect Dis*. DOI: 10.1093/infdis/jiy249

31. Middleton K, Peh W, Southern S, Griffin H, Sotlar K, Nakahara T, El-Sherif A, Morris L, Seth R, Hibma M, Jenkins D, Lambert P, Coleman N, Doorbar J. (2003). Organization of human papillomavirus productive cycle during neoplastic progression provides a basis for selection of diagnostic markers. *J Virol*, 77 (19), 10186-10201.


32. Myers KO, Ahmed NU. (2018). The role of HIV in the progression through the stages of the human papillomavirus to cervical cancer pathway. *AIDS Rev*, 20 (2), 94-1043.


33. Tam S, Fu S, Xu L, Krause KJ, Lairson DR, Miao H, Sturgis EM, Dahlstrom KR. (2018). The epidemiology of oral human papillomavirus infection in healthy populations: A systematic review and meta-analysis. *Oral Oncol*, 82, 91-99. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2018.04.005

34. Van Doorslaer K, Chen Z, Bernard HU, Chan PKS, DeSalle R, Dillner J, Forslund O, Haga T, McBride AA, Villa LL, Burk RD, Ictv Report Consortium. (2018). ICTV virus taxonomy profile: Papillomaviridae. *J Gen Virol*, 99 (8), 989-990. DOI: 10.1099/jgv.0.001105

35. Zur Hausen H. (2002). Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer*, 2 (5), 342-350. DOI: 10.1038/nrc798.

Сведения об авторах Information about the authors

Беляева Елена Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел. (3952) 20-73-67; e-mail: belyeva_irk@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0001-6050-5287>


Belyaeva Elena Vladimirovna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (664003, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 16; tel. (3952) 20-73-67; e-mail: belyeva_irk@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0001-6050-5287>


Токарская Ольга Анатольевна – магистрант, ФГБОУ ВПО «Иркутский государственный университет». (664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1; тел. (3952) 24-18-55; e-mail: alya-t1@yandex.ru)

Tokarskaya Olga Anatolievna – Master's Degree Student, Irkutsk State University (664003, Irkutsk, ul. Karla Marksa, 1; tel. (3952) 24-18-55; e-mail: alya-t1@yandex.ru)

Белохвостикова Татьяна Сергеевна – доктор медицинских наук, заведующая кафедрой клинической лабораторной диагностики, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; медицинский директор, «Юнилаб-Иркутск» (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100; тел. (3952) 46-52-70; e-mail: belohvostikova2011@yandex.ru)

Belokhvostikova Tatyana Sergeevna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (664049, Irkutsk, Yubileyniy, 100; tel. (3952) 46-52-70; e-mail: belohvostikova2011@yandex.ru)

Баирова Татьяна Ананьевна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: tbairova38@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0003-3704-830X>

Bairova Tatyana Ananyevna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: tbairova38@mail.ru)  <http://orcid.org/0000-0003-3704-830X>

Савилов Е.Д.^{1,2}, Чемезова Н.Н.^{1,2}, Астафьев В.А.², Малов И.В.³, Малов С.И.^{1,3}, Гаврилова Т.А.¹,
Бурданова Т.М.³, Владыкина А.В.³, Чубукин Е.А.³

Парентеральные вирусные гепатиты в Иркутской области

¹ Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

² ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

³ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

Из всей группы инфекционной патологии важнейшее значение для здоровья человечества имеют вирусные гепатиты, из которых наиболее приоритетными являются парентеральные гепатиты В и С, характеризующиеся повсеместным распространением, склонностью к хронизации и развитием осложнений. Цель работы: оценить эпидемиологическую ситуацию по острым и хроническим формам вирусных гепатитов В и С на территории Иркутской области за многолетний период.

Материалы и методы. Проведён ретроспективный анализ эпидемиологической ситуации по вирусным гепатитам В и С в России, Сибирском федеральном округе и в Иркутской области за 2008–2016 гг.

Результаты. Отмечено выраженное снижение заболеваемости острым вирусным гепатитом В, при хронической форме этого заболевания темпы снижения носили менее выраженный характер, что может быть связано с проведением массовой вакцинопрофилактики.

В последние годы в Иркутской области произошли качественные изменения в структуре острых форм парентеральных вирусных гепатитов и начиная с 2010 г. заболеваемость гепатитом С значительно превышает заболеваемость гепатитом В.

Проведённое ранжированное распределение территорий для всех форм вирусного гепатита В и вирусного гепатита С в Иркутской области позволило выявить территории риска.

Заключение. Парентеральные вирусные гепатиты (острые и хронические формы) широко распространены на территории Иркутской области. Из 43 административных территорий области 24 относятся к неблагополучным по заболеваемости, из которых пять являются территориями высокого эпидемиологического риска: города Иркутск, Ангарск и Усть-Илимск, а также Катангский и Шелеховский районы.

Ключевые слова: вирусный гепатит В, вирусный гепатит С, заболеваемость, Иркутская область, территории риска

Для цитирования: Савилов Е.Д., Чемезова Н.Н., Астафьев В.А., Малов И.В., Малов С.И., Гаврилова Т.А., Бурданова Т.М., Владыкина А.В., Чубукин Е.А. Парентеральные вирусные гепатиты в Иркутской области. Acta biomedica scientifica, 3 (4), 148-153, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.22.

Parenteral Viral Hepatitis in the Irkutsk Region

Savilov E.D.^{1,2}, Chemezova N.N.^{1,2}, Astafev V.A.², Malov I.V.³, Malov S.I.^{1,3},
Gavrilova T.A.¹, Burdanova T.M.³, Vladykina A.V.³, Chubukin E.A.³

¹ Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileynyi 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

² Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (ul. Timiriazeva 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)

³ Irkutsk State Medical University (ul. Krasnogo Vosstaniya 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

From all group of infectious pathology viral hepatitis, from which the most priority are the parenteral hepatitis B and C, are essential for health of mankind, also the Irkutsk region isn't an exception.

The aim of the study: to assess an epidemiological situation in sharp and chronic forms of the viral hepatitis B and C in the territory of the Irkutsk region for the long-term period.

Materials and methods. The retrospective analysis of an epidemiological situation on viral hepatitis B and C in Russia, Siberian Federal District and in the Irkutsk region for 2008–2016 is carried out.

Results. The expressed decrease in incidence of acute viral hepatitis B is noted, at a chronic form of this disease rates of decrease had less expressed character that can be connected with carrying out by mass vaccinal prevention.

The carried-out ranged distribution of territories for all forms of viral hepatitis B and viral hepatitis C in the Irkutsk region has allowed to reveal territories of risk.

Conclusion. Parenteral viral hepatitis (sharp and chronic forms) are widespread in the territory of the Irkutsk region. From 43 administrative territories of the area, 24 belong to unsuccessful on incidences from which five are to territories of high epidemiological risk: cities of Irkutsk, Angarsk and Ust-Ilimsk and also Katangsky and Shelekhovsky districts.

Key words: viral hepatitis B, viral hepatitis C, incidence, Irkutsk region, territories of risk

For citation: Savilov E.D., Chemezova N.N., Astafev V.A., Malov I.V., Malov S.I., Gavrilova T.A., Burdanova T.M., Vladykina A.V., Chubukin E.A. Parenteral viral hepatitis in the Irkutsk region. Acta biomedica scientifica, 3 (4), 148-153, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.22.

Из всей группы инфекционной патологии наибольшую угрозу для здоровья человечества представляют вирусные гепатиты [1, 5, 7], из которых наиболее приоритетными являются парентеральные гепатиты В и С, характеризующиеся повсеместным распространением, склонностью к хронизации и развитием осложнений (цирроз печени и гепатоцеллюлярная карцинома) [2, 4, 6]. Именно поэтому эти нозологические формы инфекционной патологии в нашей стране включены в перечень социально значимых заболеваний и заболеваний, представляющих опасность для окружающих (постановление Правительства РФ от 1.12.2004 г. № 715). О значимости указанной проблемы свидетельствует также принятое в апреле 2016 г. решение Ассамблеи ВОЗ о глобальной ликвидации вирусных гепатитов, как проблемы мирового общественного здравоохранения к 2030 г. Учитывая, что Российская Федерация подписала резолюцию Ассамблеи ВОЗ «О ликвидации вирусных гепатитов» необходимо усилить научные изыскания в этом направлении и разрабатывать соответствующие программы для нашей страны на региональных и глобальных уровнях.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценка эпидемиологической ситуации острых и хронических форм вирусных гепатитов В и С на территории Иркутской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ретроспективный анализ эпидемиологической ситуации по вирусным гепатитам В и С в России, Сибирском федеральном округе и в Иркутской области за 2008–2016 гг. включал в себя оценку заболеваемости, с использованием информационных сборников статистических и аналитических материалов федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Для оценки эпидемиологической ситуации использовались следующие статистические показатели: среднегодовая заболеваемость, ошибка средней (*m*), среднегеометрический темп прироста ($T_{пр}$) заболеваемости по выровненным данным.

Статистическая обработка данных проведена с применением общепринятых параметрических и непараметрических критериев статистики. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принят равным $p \leq 0,05$ [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

За изучаемый многолетний период (2008–2016 гг.) показатели заболеваемости острыми и хроническими формами ВГВ и ВГС (ОВГВ, ОВГС, ХВГВ, ХВГС) в России, СФО и Иркутской области значимо не различались. Существенные различия коснулись, прежде всего, среднегодовых показателей темпов прироста. Выраженное снижение отмечено для заболеваемости острым ВГВ, при хронической форме этого заболевания темпы снижения носили менее выраженный характер, что может быть связано с проведением массовой вакцинопрофилактики. При острой форме ВГС также имело место значимое снижение

заболеваемости, а при хронической форме – или её стабилизация (РФ и СФО), или даже рост заболеваемости (7,2 %), отмечаемый в Иркутской области.

Рассмотрим ситуацию по острым вирусным гепатитам в Иркутской области: в последние годы произошли качественные изменения в структуре острых форм парентеральных вирусных гепатитов и, начиная с 2010 г. заболеваемость гепатитом С значимо превышает заболеваемость гепатитом В (рис. 1).

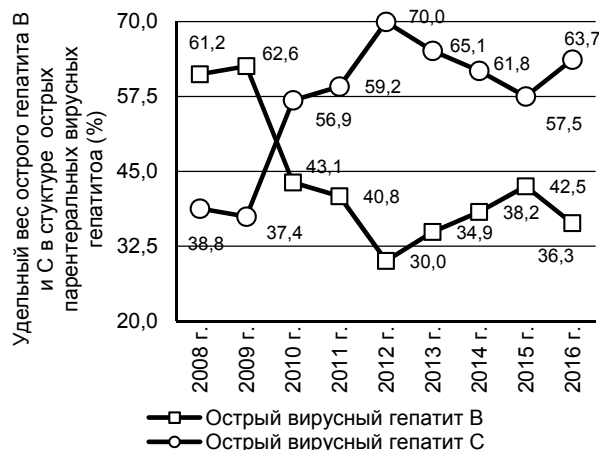


Рис. 1. Удельный вес острых вирусных гепатитов В и С в структуре парентеральных вирусных гепатитов в Иркутской области за 2008–2016 гг. (%)

Fig. 1. Specific weight of acute viral hepatitises B and C in structure of parenteral viral hepatitises in the Irkutsk region in 2008–2016 (%).

Что касается структуры хронических форм вирусных гепатитов, то за период наблюдения, регистрировался стабильный рост доли ХВГС с 69,7 % в 2008 г., до 86,1 % в 2016 г. Соответственно этому доля, ХВГВ в 2008 и 2016 гг. уменьшалась и составила 30,3 и 13,9 % соответственно.

Выявленные динамические изменения в структуре вирусных гепатитов сказались на среднегодовых показателях заболеваемости острых форм (табл. 1), которые по интенсивным значениям находились практически на одном уровне (3,0 и 3,3 на 100 тыс. населения при ОВГВ и ОВГС соответственно, $p > 0,05$).

При обеих формах заболеваний отмечено значимое снижение среднегодовых показателей, которые были значительно более выраженными при вирусном гепатите В. Существенная разница может быть объяснена внедрением повсеместной вакцинации при этой форме вирусного гепатита, проводящейся в Иркутской области.

Для хронических форм вирусных гепатитов имеет место другая картина (табл. 1). Эта клиническая форма ВГС имеет значимо более высокий показатель заболеваемости относительно ВГВ (32,6 и 9,1 ‰/0000 соответственно, $p < 0,01$), а среднегодовые темпы прироста имеют разнонаправленную тенденцию – положительную при ВГС (7,2 %) и отрицательную при ВГВ (–5,4 %).

Таким образом, в настоящее время более неблагоприятная тенденция в развитии многолетней заболеваемости из двух видов парентеральных вирусных гепатитов имеет место для ВГС.

Таблица 1
Среднегодовые показатели, характеризующие эпидемический процесс различных форм вирусных гепатитов на отдельных территориях Российской Федерации за период 2008–2016 гг.

Table 1
The mean annual indicators characterizing epidemic process of various forms of viral hepatitises in certain territories of the Russian Federation during 2008–2016

| Нозологическая форма | Территория | Клиническая форма | M, ‰ | ±m, ‰ | Тпр., % | Тенденция заболеваемости (p) |
|----------------------|-----------------------------|-------------------|------|-------|---------|------------------------------|
| Вирусный гепатит В | Российская Федерация | ОВГВ | 2,2 | 0,4 | -25,5 | < 0,01 |
| | | ХВГВ | 12,5 | 0,4 | -4,2 | < 0,01 |
| | Сибирский федеральный округ | ОВГВ | 2,9 | 0,7 | -36,9 | < 0,01 |
| | | ХВГВ | 13,9 | 0,7 | -5,1 | < 0,01 |
| | Иркутская область | ОВГВ | 3,0 | 0,9 | -11,1 | < 0,01 |
| | | ХВГВ | 9,1 | 0,6 | -5,4 | < 0,01 |
| Вирусный гепатит С | Российская Федерация | ОВГС | 2,0 | 0,2 | -12,3 | < 0,01 |
| | | ХВГС | 38,9 | 0,5 | -0,5 | > 0,05 |
| | Сибирский федеральный округ | ОВГС | 1,9 | 0,2 | -24,0 | < 0,01 |
| | | ХВГС | 43,1 | 0,7 | -0,7 | > 0,05 |
| | Иркутская область | ОВГС | 3,3 | 0,5 | -14,2 | < 0,01 |
| | | ХВГС | 32,6 | 1,7 | 7,2 | < 0,01 |

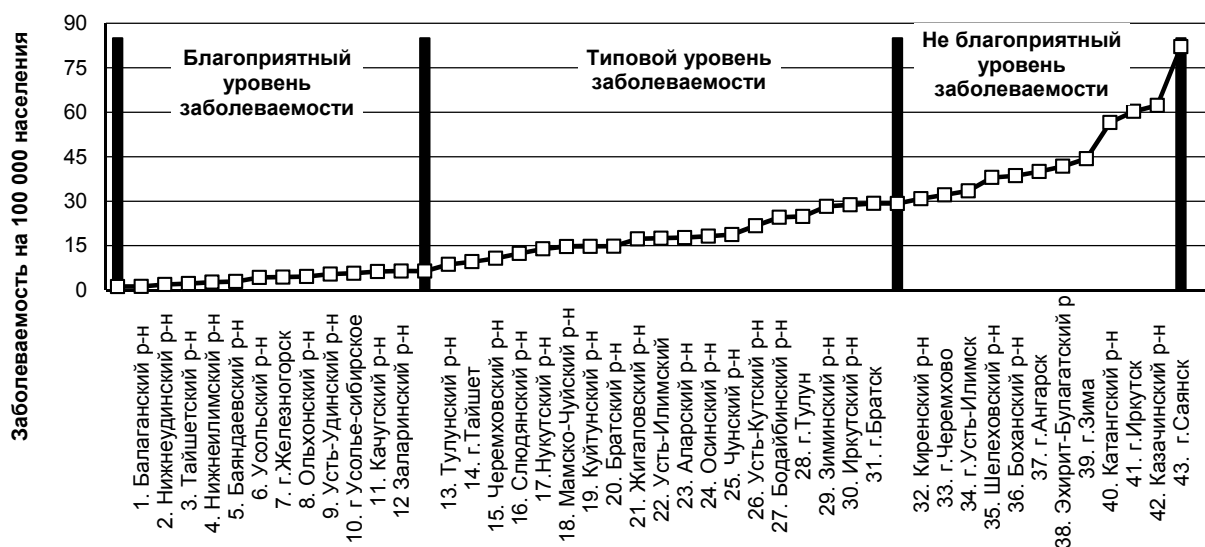


Рис. 2. Оценка эпидемической ситуации по хроническому вирусному гепатиту С на территории Иркутской области за 2008–2016 гг. (‰/10000).

Fig. 2. Assessment of an epidemic situation on chronic viral hepatitis C in the territory of the Irkutsk region for 2008–2016 (‰/10000).

Приведённый тезис подкрепляется показателями сравнительного территориального распределения заболеваемости парентеральными формами вирусных гепатитов по отдельным административным территориям Иркутской области. Для лучшего осмысления представленного материала и объективного выделения территорий риска кривые заболеваемости представлены острыми и хроническими формами анализируемых гепатитов, показатели инцидентности которых приведены в ранжированном виде от минимальных до максимальных значений.

Для распределения административных территорий Иркутской области на зоны с различной активностью эпидемического процесса в качестве среднего значения заболеваемости была использована медиана с доверительными интервалами с уровнем достоверности 99 %. В нашем случае

(43 территории), эти интервалы пришлись на 13-ю (нижняя граница) и 31-ю (верхняя граница) позиции в ранжированном ряду. Такой подход позволил достаточно условно выделить территории с благоприятным, типовым и неблагоприятным уровнями заболеваемости для каждой рассматриваемой формы парентеральных вирусных гепатитов. Иллюстрация этого подхода на примере хронического ВГС приведена на рис. 2. Такой же принцип использован и для других форм рассматриваемых парентеральных вирусных гепатитов.

Исходя из решения Ассамблеи ВОЗ о глобальной ликвидации вирусных гепатитов и направленности представленной работы, наиболее перспективное значение для эпиднадзора и эпидконтроля имеют территории с неблагоприятным развитием эпидемического процесса, которые в этом случае можно

Таблица 2
Ранжированный по возрастанию заболеваемости перечень административных территорий Иркутской области с неблагоприятными уровнями заболеваемости парентеральными вирусными гепатитами

Table 2
The list of administrative territories of the Irkutsk region ranged on increase of incidence with adverse incidences of parenteral viral hepatitises

| № ранга | Вирусный гепатит В | | Вирусный гепатит С | |
|---------|---------------------|--------------------------|----------------------|--------------------|
| | острая форма | хроническая форма | острая форма | хроническая форма |
| 1. | г. Братск | Иркутский район | Киренский район | Киренский район |
| 2. | Ольхонский район | Нукутский район | Шелеховский район | г. Черемхово |
| 3. | г. Усть-Илимск | г. Усть-Илимск | Черемховский район | г. Усть-Илимск |
| 4. | Иркутский район | Шелеховский район | г. Братск | Шелеховский район |
| 5. | г. Железногорск | г. Саянск | Жигаловский район | Боханский район |
| 6. | Шелеховский | Мамско-Чуйский район | г. Тайшет | г. Ангарск |
| 7. | Усть-Илимский район | г. Ангарск | г. Черемхово | Эхирит-Булагатский |
| 8. | г. Ангарск | Казачинский район | Мамско-Чуйский район | г. Зима |
| 9. | г. Иркутск | г. Иркутск | Катангский район | Катангский район |
| 10. | г. Тайшет | Боханский район | г. Усть-Илимск | г. Иркутск |
| 11. | г. Усолье | Эхирит-Булагатский район | г. Усолье-Сирское | Казачинский район |
| 12. | Катангский район | Катангский район | Слюдянский район | г. Саянск |

относить к зонам риска. В таблице 2 представлено ранжированное распределение территорий (от минимума к максимуму) в зонах с неблагоприятным развитием эпидемического процесса для всех форм (острого и хронического) ВГВ и ВГС.

Основанием для такого распределения явилась частота встречаемости административных территорий Иркутской области из зон риска для каждой из отдельных форм парентеральных вирусных гепатитов. Условной границей такого выделения явился верхний доверительный интервал медианы. Этот подход позволил достаточно строго ранжировать территории риска на три группы:

1. Территории риска с относительно низкой возможностью заболевания парентеральными вирусными гепатитами. В эту группу вошли административные территории области, в которых вирусные гепатиты встречались за весь многолетний период наблюдения один или два раза из четырёх максимально возможных (табл. 2).

2. Территории риска с высокой возможностью заболевания парентеральными вирусными гепатитами. Сюда отнесены территории, встречаемость которых достигала трёх раз из четырёх (г. Иркутск и Ангарск).

3. Территории риска с чрезвычайно высокой возможностью заболевания парентеральными вирусными гепатитами (г. Усть-Илимск, а также Катангский и Шелеховский районы).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Парентеральные вирусные гепатиты (острые и хронические формы) широко распространены на территории Иркутской области: из 43 административных территорий области 24 относятся к неблагоприятным по заболеваемости той или иной формой парентерального вирусного гепатита. Пять из них

являются территориям высокого эпидемиологического риска: города Иркутск, Ангарск и Усть-Илимск, а также Катангский и Шелеховский районы.

Изучение многолетней динамики заболеваемости вирусными гепатитами В и С в Иркутской области с определением территорий риска имеет важнейшее значение при планировании профилактических мероприятий, направленных в перспективе на искоренение парентеральных вирусных гепатитов.

Снижение указанной заболеваемости приведёт к улучшению состояния здоровья населения в виде уменьшения длительности временной нетрудоспособности и инвалидизации населения, а также смертности от данной инфекционной патологии.

Статья написана в рамках контракта (Государственный контракт № 561-НИОКТР/0060/0061-ЭА/18) на выполнение научно-исследовательской, опытно-конструкторской и технологической работы: «Научно-обоснованный план действий здравоохранения Иркутской области по ликвидации парентеральных вирусных гепатитов» Министерства здравоохранения Иркутской области.

Конфликт интересов

Авторы статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Нечаев В.В., Мукомолов С.Л., Назаров В.Ю., Пожидаева Л.Н., Чахарьян В.В. Хронические вирусные гепатиты: прошлое, настоящее, будущее // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2013. – № 3. – С. 4–9.

Nechayev VV, Mukomolov SL, Nazarov VYu, Pozhidayeva LN, Chakharian VV. (2013). Chronic viral hepatitis: past, present, future [Khronicheskie virusnye

gепatity: proshloe, nastoyashchee, budushchee]. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*, (3), 4-9.

2. Пименов Н.Н., Чуланов В.П., Комарова С.В., Карандашова И.В., Неверов А.Д., Михайловская Г.В., Долгин В.А., Лебедева Е.Б., Пашкина К.В., Коршунова Г.С. Гепатит С в России: Эпидемиологическая характеристика и пути совершенствования диагностики и надзора // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. – 2012. – № 3. – С. 4–10.

Pimenov NN, Chulanov VP, Komarova SV, Karandashova IV, Neverov AD, Mikhaylovskaya GV, Dolgin VA, Lebedeva EB, Pashkina KV, Korshunova GS. (2012). Hepatitis C in Russia: Epidemiological characteristic and ways of improvement of diagnostics and supervision [Epidemiologicheskaya kharakteristika i puti sovershenstvovaniya diagnostiki i nadzora]. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*, (3), 4-10.

3. Савилов Е.Д., Астафьев В.А., Жданова С.Н., Заруднев Е.А. Эпидемиологический анализ: Методы статистической обработки материала. – Новосибирск: Наука-Центр, 2011. – 155 с.

Savilov ED, Astafyev VA, Zhdanova SN, Zarudnev EA. (2011). Epidemiological analysis: Methods of statistical

processing of material [*Epidemiologicheskii analiz: Metody statisticheskoy obrabotki materiala*]. Novosibirsk, 155 p.

4. Юшук Н.Д., Знойко О.О., Дудина К.Р., Белый П.А. Проблема вирусного гепатита С в Российской Федерации // *Терапевтический архив*. – 2014. – № 10. – С. 77–81.

Yushchuk ND, Znoyko OO, Dudina KR, Belyy PA. (2014). Problems of a viral hepatitis C in the Russian Federation [Problema virusnogo gepatita S v Rossiyskoy Federatsii]. *Terapevticheskii arkhiv*, 86 (10), 77-81.

5. Hope VD, Eramova I, Capurro D, Donoghoe MC. (2014). Prevalence and estimation of hepatitis B and C infections in the WHO European Region: a review of data focusing on the countries outside the European Union and the European Free Trade Association. *Epidemiol Infect*, 142 (2), 270-286.

6. Gower E, Estes C, Hindman S, Razavi-Shearer K, Razavi H. (2014). Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus. *J Hepatol*, 61 (1), 45-57, DOI 10.1016/j.jhep.2014.07/027

7. Medhi S, Goswami B, Das AK. (2012). New insights into hepatitis C virus infection in the tribal-dominant part of Northeast India. *Arch Virol*, 157 (11), 2083-2093.

Сведения об авторах

Information about the authors

Савилов Евгений Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эпидемиологии и микробиологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; главный научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 3; тел. (3952) 33-34-23; e-mail: savilov47@gmail.com) ● <http://orcid.org/0000-0002-9217-6876>

Savilov Evgeny Dmitrievich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Epidemiology and Microbiology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Chief Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Important Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (664003, Irkutsk, ul. Karla Marksa, 3; tel. (3952) 33-34-23; e-mail: savilov47@gmail.com) ● <http://orcid.org/0000-0002-9217-6876>

Чемезова Наталья Николаевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры эпидемиологии и микробиологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: chemezova_nataly@mail.ru) ● <http://orcid.org/0000-0001-5375-7785>

Chemezova Natalia Nikolaevna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of Epidemiology and Microbiology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Important Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail chemezova_nataly@mail.ru) ● <http://orcid.org/0000-0001-5375-7785>

Астафьев Виктор Александрович – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: astaw48@mail.ru) ● <http://orcid.org/0000-0002-3871-6616>

Astafyev Victor Aleksandrovich – Doctor of Medical Sciences, Senior Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Important Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: astaw48@mail.ru) ● <http://orcid.org/0000-0002-3871-6616>

Малов Игорь Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой инфекционных болезней, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1; тел. (3952) 24-38-25; e-mail: rectorat@ismu.baikal.ru) ● <http://orcid.org/0000-0003-2874-9585>

Malov Igor Vladimirovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Infectious Diseases, Irkutsk State Medical University (664003, Irkutsk, ul. Krasnogo Vosstaniya, 1; tel. (3952) 24-38-25; e-mail: rectorat@ismu.baikal.ru) ● <http://orcid.org/0000-0003-2874-9585>

Малов Сергей Игоревич – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры инфекционных болезней, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России; научный сотрудник, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (e-mail: lynx2000@mail.ru) ● <http://orcid.org/0000-0002-3135-4616>

Malov Sergey Igorevich – Candidate of Medical Sciences, Teaching Assistant at the Department of Infectious Diseases, Irkutsk State Medical University; Research Officer, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (e-mail: lynx2000@mail.ru) ● <http://orcid.org/0000-0002-3135-4616>

Гаврилова Татьяна Анатольевна – ассистент кафедры эпидемиологии и микробиологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (e-mail: gtairkutsk@yandex.ru)

Gavrilova Tatyana Anatolyevna – Teaching Assistant at the Department of Epidemiology and Microbiology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (e-mail: gtairkutsk@yandex.ru)

Бурданова Татьяна Михайловна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры инфекционных болезней, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России

Burdanova Tatyana Mikhailovna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor at the Department of Infectious Diseases, Irkutsk State Medical University

Владыкина Анастасия Владимировна – студентка 6-го курса лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: vladykina_anasta@mail.ru)

Vladykina Anastasia Vladimirovna – Student, Irkutsk State Medical University (e-mail: vladykina_anasta@mail.ru)

Чубукин Евгений Андреевич – студент 6-го курса лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: yasu42@yandex.ru)

Chubukin Evgeny Andreyevich – Student, Irkutsk State Medical University (e-mail: yasu42@yandex.ru)

Хромова П.А.¹, Корнилов М.С.², Жданова С.Н.¹, Яковлев А.А.², Огарков О.Б.^{1,3}**Выявление эпидемических субтипов генотипа Beijing Mycobacterium tuberculosis, циркулирующих в Приморском крае ***¹ ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)² ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России (690002, г. Владивосток, просп. Острякова, 2, Россия)³ Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

По данным ВОЗ, треть населения в мире инфицированы микобактериями туберкулёза, в результате чего ежегодно умирает почти 2 миллиона человек. Дальний Восток относится к территориям с высоким уровнем заболеваемости и распространённости туберкулёза. Одним из основных факторов, влияющих на распространённость туберкулёзной инфекции, является развитие МЛУ и ШЛУ. Случаи туберкулёза, связанные с развитием лекарственной устойчивости, как правило, вызваны эпидемическими штаммами МБТ. Важным является исследование распространённости ТБ на территориях с высоким бременем инфекции, к которым и относится Дальний Восток.

Целью исследования было провести генотипирование штаммов и оценить частоту распространённости субтипов CC1 и CC2 на территории Приморского края.

Материалы и методы. ДНК из 99 клинических изолятов МБТ из Приморского края были отгенотипированы с использованием делеционного анализа по RD 105/207, MIRU-VNTR 24 типирования.

Результаты. Доминирующее количество штаммов относилось к генотипу Пекин (59,6 %). Экспресс-метод показал 22 изолята подтипа CC2/W148, который имел 6 различных профилей MIRU-VNTR-24. Согласно классификации MLVA MtbC 15-9 наиболее распространённым среди изолятов профиля CC2/W148 является 100-32 (59,1 %). Среди этих профилей была зарегистрирована самая высокая частота МЛУ/ШЛУ – 69,2 %. По результатам экспресс-анализа 46 изолятов с 30 различными профилями MIRU-VNTR-24 принадлежали подтипу CC1, из которых доминирующее число принадлежало 99-32 и 94-32 на долю которых приходилось одинаковое количество профилей – 15,2 %.

Выводы. Методы экспресс-генотипирования эпидемических субтипов генотипа Пекин могут иметь большое значение для эпидемиологического надзора и клинической практики. Разработанные методы позволяют определить более широкий диапазон штаммов, чем ранее используемые методы.

Ключевые слова: M. tuberculosis, Beijing генотип, субтипы

Для цитирования: Хромова П.А., Корнилов М.С., Жданова С.Н., Яковлев А.А., Огарков О.Б. Выявление эпидемических субтипов генотипа Beijing mycobacterium tuberculosis, циркулирующих в Приморском крае. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 154-158, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.23.

The Detection of Epidemic Subtypes of Beijing Genotype of Mycobacterium Tuberculosis Circulated in the Primorsky KraiKhromova P.A.¹, Kornilov M.S.², Zhdanova S.N.¹, Yakovlev A.A.², Ogarkov O.B.^{1,3}¹ Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (ul. Timiryazeva 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)² Pacific State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (prosp. Ostryakova 2, Vladivostok 690002, Russian Federation)³ Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

Background. The Far East is the territory with high rate of incidence and prevalence of tuberculosis. Cases of tuberculosis caused by epidemic strains have high frequency of MDR and XDR. It is important to study the prevalence of TB in areas with a high burden of infection, to which the Far East belongs.

The aim of the research is to carry out genotyping of strains and assess the prevalence of CC1 and CC2 subtypes in the territory of Primorsky Krai.

Materials and methods. The DNAs of 99 clinical isolates of MBT from Primorsky Krai have been genotyped by the 24-locus MIRU-VNTR and RD105/RD207.

Results. The dominant number of strains pertained to Beijing genotype (59.6 %). The express method revealed 22 isolates of the CC2/W148 subtype, which had 6 different MIRU-VNTR-24 profile. According to MLVA classification MtbC 15-9, the most common among the isolates of CC2/W148 profile is 100-32 (59.1 %). Among these profiles the highest frequency of MDR/XDR was recorded – 69.2 %. According to the results of the express analysis, 39 isolates with 26 different MIRU-VNTR-24 profiles belonged to the CC1 subtype, of which the dominant number belonged to 99-32 and 94-32.

* Статья опубликована на основании доклада на III Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, октябрь, 2018).

Conclusions. The methods of express genotyping of epidemic subtypes of the Beijing genotype are very important for epidemiological surveillance and clinical practice. The developed methods allow to define a wider range of strains than previously used methods.

Key words: *M. tuberculosis, Beijing genotype, subtypes*

For citation: Khromova P.A., Kornilov M.S., Zhdanova S.N., Yakovlev A.A., Ogarkov O.B. The Detection of Epidemic Subtypes of Beijing Genotype of Mycobacterium Tuberculosis Circulated in the Primorsk Krai. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 154-158, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.23.

ВВЕДЕНИЕ

Ведущими направлениями в борьбе по снижению бремени от туберкулёза (ТБ) являются совершенствование системы диагностики на ранних этапах заболевания и снижение уровней множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) и широкой лекарственной устойчивости (ШЛУ) возбудителя туберкулёза [9, 15]. В условиях высоких показателей заболеваемости и распространённости туберкулёза на территории Сибири и Дальнего Востока [8] эффективная реализация современных программ противодействия туберкулёзу требует расширения арсенала диагностических средств. Молекулярно-биологические тесты, способные определить *Mycobacterium tuberculosis* и его генотипы и субтипы, ассоциированные частым развитием МЛУ и ШЛУ, являются наиболее перспективными в случаях ранней диагностики заболевания и прогнозирования неблагоприятного исхода лечения. Учитывая, что случаи туберкулёза, вызванные эпидемическими клональными комплексами CC1 (Central Asia) и CC2/W148 (Europe/Russia) генотипа Beijing [5, 12, 16], имеют высокие частоты первичной и вторичной МЛУ и ШЛУ, актуальным является изучение их распространённости на территориях с высоким бременем инфекции, к которым относится и Приморский край. Более того филогенетическая реконструкция эпидемической истории распространения штаммов генотипа Beijing в Севернй Азии свидетельствует о неравномерности этого процесса [2]. С этой точки зрения, оценка распространённости исследуемых клональных комплексов генотипа Beijing в Приморье сможет показать вовлечённость региона в эпидемические процессы происходившие в XX в. на территории СССР [6] и в приграничных странах [1].

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ

Оценить частоту распространённости штаммов CC1 и CC2/W148 субтипов в популяции *M. tuberculosis*, циркулирующих в Приморском крае.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Генотипирование ДНК 99 изолятов микобактерий туберкулёза (МБТ), выделенных от больных ТБ (табл. 1), проживавших и проходивших лечение в 2015–2016 гг. на территории Приморского края, осуществлено с использованием делеционного анализа по RD 105/207, MIRU-VNTR 24 типирования и выявлением специфических для CC1 и CC2 маркеров.

Таблица 1
Демографические данные и выявление туберкулёза
Table 1
Demographic data and the elicitation of tuberculosis

| Параметр | Значение |
|--------------------------------|-------------|
| Количество пациентов, <i>n</i> | 99 |
| Пол, <i>n</i> (%): | |
| мужской | 63 (63,6 %) |
| женский | 36 (36,3 %) |
| Средний возраст, лет | 54 ± 20,6 |
| Выявление, <i>n</i> : | |
| впервые выявленный ТБ | 58 |
| хронический ТБ | 41 |

Экстракцию ДНК проводили из инактивированных культур набором ДНК-сорб В (Интерлабсервис), в соответствии с протоколом производителя. Штаммы генотипа Beijing дополнительно типировали на регионы различий RD105 и RD207 [14]. Выявление субтипа CC2/W148 генотипа Beijing проводили с помощью идентификации динуклеотидной делеции в гене *kdpD* [12], субтипа CC1 по SNP в гене *pkS17*, позиция 1887060 [16] методом ПЦР-РВ с праймерами и зондами собственного дизайна [7]. MLVA [10] MtbC 15-9 тип определяли с помощью пакета программ сайта MIRUVNTRplus. Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета статистических программ Statistica 6.0 и редактора электронных таблиц MS Excel 7.0. Значимость различий между параметрами оценивали с помощью непараметрического критерия χ^2 . Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам исследования, наибольшее количество изолятов принадлежало генотипу Beijing – 59,6 % (59/99). Генотипы Haarlem и LAM были обнаружены у 8,1 % штаммов (8/99), генотипы T и Ural имели четвёртое и пятое место по распространённости – 6,1 % (6/99) и 4,0 % (4/99) соответственно. Микст генотип был выявлен в 2,0 % случаев (2/99) (рис. 1).

По результатам 12-локусного MIRU-VNTR генотипирования было получено несколько вариантов профилей, которые распределились следующим образом. Доминирующими среди Beijing были штаммы с профилем MIT 16 (33,8 % – 24/71), ранее описываемые как M2 [13], обнаруживаемые во всех регионах России и других точках Евразии, где проводились молекулярно-эпидемиологические исследования популяции МБТ. Второе место по значимости

заняли изоляты с профилями MIT 17 [10] – (22/71 – 31,0 %) – M11 [13], также распространённые в России (табл. 2).

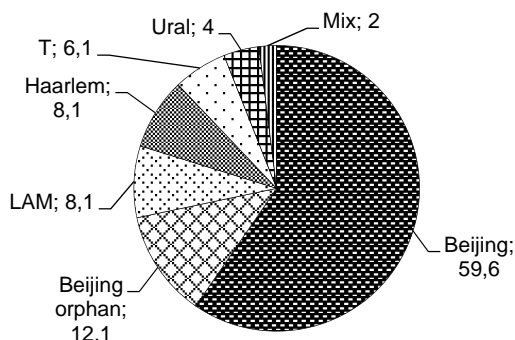


Рис. 1. Генотипы МБТ, выделенные от больных ТБ в Приморском крае (%).

Fig. 1. Genotypes of MBT isolated from TB patients in Primorsky Krai (%).

Таблица 2
Субтипы Beijing, определяемые по SITVIT, на изучаемой территории (%)

Table 2
Subtypes Beijing, determined by SITVIT, in the study territory (%)

| Субтип | Абс. | Доля среди Beijing |
|-----------------|------|--------------------|
| Beijing MIT 16 | 24 | 33,8 |
| Beijing MIT 17 | 20 | 28,2 |
| Beijing MIT 82 | 4 | 5,6 |
| Beijing MIT 83 | 2 | 2,8 |
| Beijing MIT 84 | 1 | 1,4 |
| Beijing MIT 101 | 1 | 1,4 |
| Beijing MIT 136 | 1 | 1,4 |
| Beijing MIT 137 | 1 | 1,4 |
| Beijing MIT 138 | 1 | 1,4 |
| Beijing MIT 571 | 2 | 2,8 |
| Beijing MIT 592 | 1 | 1,4 |
| Beijing MIT 642 | 1 | 1,4 |
| Beijing orphan | 12 | 17 |
| Beijing, абс. | 71 | |

Выявление штаммов, принадлежащих к субтипам CC1 и CC2/W148, проводилось с использованием экспресс-тестов собственного дизайна. Апробация методов идентификации показала, что исследуемые субтипы были определены только среди изолятов, принадлежащих генотипу Beijing. Экспресс-методом определено 22 изолята субтипа CC2/W148, имевших 6 разнообразных MIRU-VNTR-24 профилей и принадлежащих по классификации MLVA MtbC 15-9 к известным 6 профилям. Наиболее часто встречающийся среди изолятов CC2/W148 профиль 100-32 в изучаемой выборке присутствовал в доминирующем количестве – 59,1 % (13/22), среди которых отмечена наивысшая частота МЛУ/ШЛУ – 69,2 % (9/13) (табл. 3). В общей изучаемой выборке этот показатель был значительно ниже – 33,3 % (33/99) ($\chi^2 = 6,32, p = 0,012$).

Таблица 3
Вариабельность профилей MLVA MtbC 15-9 среди изолятов CC2/W148

Table 3
The variability of MLVA MtbC 15-9 profiles among the CC2/W148 isolates

| Профили MLVA MtbC 15-9 | Доля встречаемости, % |
|------------------------|-----------------------|
| 100-32 | 59,1 |
| 3828-32 | 18,2 |
| 1075-32 | 9,1 |
| 10516-32 | 4,5 |
| 3754-32 | 4,5 |
| 98-32 | 4,5 |

Штаммы Beijing субтипа CC2, представленные в популяции МБТ низко вариабельными профилями, самый крупный из которых соответствует профилю 100-32, наиболее вероятно, имеют недавнюю историю. Подтверждение этой гипотезы нашло в исследовании спектра генотипов/субтипов, полученных от пациентов их «контрастных» возрастных групп, проживающих на территориях с различной интенсивностью миграционных потоков [3, 4].

Анализ ПЦР-РВ показал, что 46 изолятов относились к субтипу CC1 и имели 30 различных MIRU-VNTR-24 профилей, принадлежащих по классификации MLVA MtbC 15-9 к 10 известным профилям, среди которых доминирующее количество принадлежало к 94-32 и 99-32, на долю которых приходилось одинаковое количество профилей – 15,2 % (7/46). К неидентифицированным образцам были отнесены 21–46 % (21/46) вариабельных профилей, которые наиболее часто отличались от профиля 99-32 по локусам Mtb30, Qub26 и MIRU 40 на 1–3 повтора (табл. 4). Среди изолятов, отнесённых к субтипу CC1, МЛУ несли 26,1 % (12/46). Доминирующую часть штаммов представляли образцы с чувствительностью к противотуберкулёзным препаратам – 58,7 % (27/46).

Таблица 4
Вариабельность профилей MLVA MtbC 15-9 среди изолятов CC1

Table 4
The variability of MLVA MtbC 15-9 profiles among the CC1 isolates

| Профили MLVA MtbC 15-9 | Доля встречаемости, % |
|------------------------|-----------------------|
| 99-32 | 15,2 |
| 94-32 | 15,2 |
| 1068-32 | 4,3 |
| 10616-32 | 2,2 |
| 14937-33 | 2,2 |
| 783-32 | 2,2 |
| 9135-33 | 2,2 |
| 9341-33 | 2,2 |
| 94-33 | 2,2 |
| 94-419 | 2,2 |
| 96-33 | 2,2 |
| 99-33 | 2,2 |

Широкая вариация профилей Beijing CC1 позволяет предполагать, что эта группа составлена из источников различного происхождения, имеющего разную давность заноса на исследуемой территории.

ВЫВОДЫ

Методы экспресс выявления эпидемических субтипов генотипа Beijing CC1 (Central Asia) и CC2/W148 (Europe/Russia) могут иметь большое теоретическое и практическое значение как в клинической практике, так и при осуществлении динамического наблюдения в рамках эпидемиологического надзора за туберкулёзом. Разработанные методы быстрого выявления этих субтипов очертили более широкий круг штаммов, чем ранее используемые методы. Следует отметить, что в эту выборку помимо всех профилей, принадлежащих субтипам CC1 и CC2/W148, вошёл ряд штаммов из минорных субтипов генотипа Beijing, определяемых по MIRU-VNTR 24. Это явление требует дальнейшего исследования, поскольку среди выявленных «пограничных» профилей могут быть обнаружены штаммы, являющиеся предковыми по отношению к исследуемым субтипам. Распространение штаммов, соответствующих профилям 94-32, 99-32 и 100-32 по классификации MLVA MtbC 15-9, говорит об общих закономерностях экспансии этих вариантов возбудителя туберкулёза.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Бадлеева М.В., Жданова С.Н., Баасансурэн Э., Огарков О.Б., Эрдэнэгэрэл Н., Орлова Е.А., Оюунтуяа Т., Савилов Е.Д., Буянхшиг Б., Пунцаг Б., Нямхуу Д. Молекулярно-генетические особенности туберкулёза в Монголии и граничащих с ней регионах России // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2017. – Т. 17, № 5. – С. 53–57. DOI: 10.31631/2073-3046-2017-16-5-53-57
2. Badleeva MV, Zhdanova SN, Baasansuren E, Ogarkov OB, Erdenegerel N, Orlova EA, Oyuuntuyaa T, Savilov ED, Buyanhshig B, Puncag B, Nyamhuu D. (2017). Molecular-genetic features of tuberculosis in Mongolia and in Russian bordering regions [Molekulyarno-geneticheskie osobennosti tuberkuleza v Mongolii i granichashchikh s ney regionakh Rossii]. *Epidemiologiya i vakcinoprofilaktika*, 17 (5), 53-57. DOI: 10.31631/2073-3046-2017-16-5-53-57
3. Жданова С.Н., Огарков О.Б., Алексеева Г.И., Винокурова М.К., Синьков В.В., Астафьев В.А., Савилов Е.Д., Кравченко А.Ф. Генетическое разнообразие изолятов микобактерий туберкулёза из республики Саха (Якутия), Россия // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2016 – Т. 34, № 2. – С. 43–48. DOI: 10.18821/0208-0613-2016-34-2-43-48
4. Zhdanova SN, Ogarkov OB, Alekseeva GI, Vinokurova MK, Sin'kov VV, Astaf'ev VA, Savilov ED, Kravchenko AF. (2016). Genetic diversity of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in the Republic of Sakha (Yakutia), Russia [Geneticheskoe raznoobrazie izolyatov mikobakteriy tuberkuleza iz respubliki Sakha (Yakutiya), Rossiya]. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya*, 34(2), 43-48. DOI: 10.18821/0208-0613-2016-34-2-43-48
5. Жданова С.Н., Огарков О.Б., Винокурова М.К., Алексеева Г.И., Кравченко А.Ф., Савилов Е.Д. Моделирование эпидемического распространения генотипа Beijing *Mycobacterium tuberculosis* в республике Саха (Якутия) // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2017 – Т. 95, № 7. – С. 40–47. DOI: 10.21292/2075-1230-2017-95-7-40-47
6. Zhdanova SN, Ogarkov OB, Vinokurova MK, Alekseeva GI, Kravchenko AF, Savilov ED. (2017). Simulation of the epidemic transmission of the Beijing genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in the Republic of Sakha (Yakutia) [Modelirovanie epidemicheskogo rasprostraneniya genotipa Beijing *Mycobacterium tuberculosis* v respublike Sakha (Yakutiya)]. *Tuberkulez i bolezni legkih*, 95 (7), 40-47. DOI: 10.21292/2075-1230-2017-95-7-40-47
7. Жданова С.Н., Огарков О.Б., Синьков В.В., Хромова П.А., Орлова Е.А., Кошечев М.Е., Савилов Е.Д. Эпидемиологическое обоснование распространения основных клонов генотипа Beijing *Mycobacterium tuberculosis* в Иркутской области // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2017. – № 6. – С. 88–94.
8. Zhdanova SN, Ogarkov OB, Sin'kov VV, Hromova PA, Orlova EA, Koshcheev ME, Savilov ED. (2017). Epidemiological substantiation of transmission of the main clones of the Beijing genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in the Irkutsk region [Epidemiologicheskoe obosnovanie rasprostraneniya osnovnykh klonov genotipa Beijing *Mycobacterium tuberculosis* v Irkutskoy oblasti]. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*, 6, 88-94.
9. Синьков В.В., Савилов Е.Д., Огарков О.Б. Эпидемиология туберкулёза в России: эпидемиологические и исторические доказательства в пользу сценария распространения «Пекинского» генотипа *M. tuberculosis* в XX веке // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2010. – № 6. – С. 23–28.
10. Sin'kov VV, Savilov ED, Ogarkov OB. (2016). Epidemiology of tuberculosis in Russia: epidemiological and historical evidences in favor of the scenario distribution of Beijing genotype of *M. tuberculosis* in the XX century [Epidemiologiya tuberkuleza v Rossii: epidemiologicheskie i istoricheskie dokazatel'stva v pol'zu stsensariya rasprostraneniya «Pekinskogo» genotipa *M. tuberculosis* v XX veke]. *Epidemiologiya i vakcinoprofilaktika*, 6, 23-28.
11. Синьков В.В., Савилов Е.Д., Огарков О.Б. Реконструкция эпидемической истории «Пекинского» генотипа *Mycobacterium tuberculosis* в России и странах бывшего СССР по результатам сполиготипирования // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2011. – № 3. – С. 25–29.
12. Sin'kov VV, Savilov ED, Ogarkov OB. (2011). Reconstruction of the epidemic history of the Beijing genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in Russia and former Soviet countries using spoligotyping [Rekonstruktsiya epidemicheskoy istorii «Pekinskogo» genotipa *Mycobacterium tuberculosis* v Rossii i stranakh byvshego SSSR po rezul'tatam spoligotipirovaniya]. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya*, 3, 25-29.
13. Хромова П.А., Огарков О.Б., Жданова С.Н., Синьков В.В., Моисеева Е.Я., Цыренова Т.А., Кошечев М.Е., Зоркальцева Е.Ю., Савилов Е.Д. Выявление высоко-трансмиссивных генотипов возбудителя в клиническом материале для прогноза неблагоприятного

течения туберкулёза // Клиническая лабораторная диагностика. – 2017. – Т. 62, № 10. – С. 622-627. DOI: 10.18821/0869-2084-2017-62-10-622-627

Khromova PA, Ogarkov OB, Zhdanova SN, Sin'kov VV, Moiseeva EYa, Tsyrenova TA, Koshcheev ME, Zorkal'tseva EYu, Savilov ED. (2017). The detection of highly-transmissible genotypes of agent in clinical samples for prognosis of unfavorable course of tuberculosis [Vyavlenie vysokotransmissivnykh genotipov vzbuditelya v klinicheskom materiale dlya prognoza neblagopriyatnogo techeniya tuberkuleza]. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*, 62 (10), 622-627. DOI: 10.18821/0869-2084-2017-62-10-622-627

8. Glaziou P, Falzon D, Floyd K, Raviglione M. (2013). Global epidemiology of tuberculosis. *Semin Respir Crit Care Med*, 34 (1), 3-16. DOI: 10.1055/s-0032-1333467

9. Günther G. (2014). Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis: a review of current concepts and future challenges. *Clin Med (Lond)*, 14 (3), 279-285. DOI: 10.7861/clinmedicine.14-3-279

10. Hill V, Zozio T, Sadjkalav S, Viegas S, Streit E, Kallenius G, Rastogi N. (2012). MLVA based classification of *Mycobacterium tuberculosis* complex lineages for a robust phylogeographic snapshot of its worldwide molecular diversity. *PLoS One*, 7 (9), e41991. DOI: 10.1371/journal.pone.0041991

11. Liu Q, Luo T, Dong X, Sun G, Liu Z, Gan M, Wu J, Shen X, Gao Q. (2016). Genetic features of *Mycobacterium tuberculosis* modern Beijing sublineage. *Emerg Microbes Infect*, 5, e14. DOI: 10.1038/emi.2016.14

12. Merker M, Blin C, Mona S, Duforet-Frebourg N, Lecher S, Willery E, Blum M, Rüscher-Gerde S, Mokrousov I,

Aleksic E, Allix-Béguec C, Antierens A, Augustynowicz-Kopeć E, Ballif M, Barletta F, Beck PH, Barry CE 3rd, Bonnet M, Borroni E, Campos-Herrero I, Cirillo D, Cox H, Crowe S, Crudu V, Diel R, Drobniewski F, Fauville-Dufaux M, Gagneux S, Ghebremichael S, Hanekom M, Hoffner S, Jiao W, Kalon S, Kohl TA, Kontsevaya I, Lillebæk T, Maeda S, Nikolayevskyy V, Rasmussen M, Rastogi N, Samper S, Sanchez-Padilla E, Savic B, Shamputa IC, Shen A, Sng L, Stakenas P, Toit K, Varaine F, Vukovic D, Wahl C, Warren R, Supply P, Niemann S, Wirth T. (2015). Evolutionary history and global spread of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing lineage. *Nat Genet*, 47 (3), 242-249. DOI: 10.1038/ng.3195

13. Mokrousov I. (2008). Genetic geography of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype: a multifacet mirror of human history? *Infect Genet Evol*, 8 (6), 777-785. DOI: 10.1016/j.meegid.2008.07.003

14. Reed MB, Pichler VK, McIntosh F, Mattia A, Falow A, Masala S, Domenech P, Zwerling A, Thibert L, Menzies D, Schwartzman K, Behr MA. (2009). Major *Mycobacterium tuberculosis* lineages associate with patient country of origin. *J Clin Microbiol*, 47 (4), 1119-1128. DOI: 10.1128/JCM.02142-08

15. Seung KJ, Keshavjee S, Rich ML. (2015). Multi-drug-resistant tuberculosis and extensively drug-resistant tuberculosis. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 5 (9), a017863. DOI: 10.1101/cshperspect.a017863

16. Shitikov E, Kolchenko S, Mokrousov I, Bespyatykh J, Ischenko D, Ilina E, Govorun V. (2017). Evolutionary pathway analysis and unified classification of East Asian lineage of *Mycobacterium tuberculosis*. *Sci Rep*, 7 (1), 9227. DOI: 10.1038/s41598-017-10018-5

Сведения об авторах

Information about the authors

Хромова Полина Андреевна – младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664079, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 3; e-mail: polina.and38@gmail.com) ● <https://orcid.org/0000-0002-6449-5060>

Khromova Polina Andreevna – Junior Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Important Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (664079, Irkutsk, ul. Karla Marksa; e-mail: polina.and38@gmail.com) ● <https://orcid.org/0000-0002-6449-5060>

Корнилов Мичил Сергеевич – аспирант кафедры эпидемиологии и военной эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России (690050, г. Владивосток, просп. Острякова, 2; тел. 8 (4232) 44-63-53; e-mail: Tgmukornilov@mail.ru) ● <https://orcid.org/0000-0003-0460-7697>

Kornilov Michil Sergeevich – Postgraduate at the Department of Epidemiology and Military Epidemiology, Pacific State Medical University (690050, Vladivostok, prosp. Ostryakova, 2; tel. 8 (4232) 44-63-53; e-mail: Tgmukornilov@mail.ru) ● <https://orcid.org/0000-0003-0460-7697>

Жданова Светлана Николаевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (тел. (3952) 24-03-52; e-mail: svetnii@mail.ru) ● <https://orcid.org/0000-0001-7160-9700>

Zhdanova Svetlana Nikolaevna – Candidate of Medical Sciences, Senior Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Important Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (tel. (3952) 24-03-52; e-mail: svetnii@mail.ru) ● <https://orcid.org/0000-0001-7160-9700>

Яковлев Анатолий Александрович – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры эпидемиологии и военной эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России (e-mail: yakovlev-epid@yandex.ru)

Yakovlev Anatoly Alexandrovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Epidemiology and Military Epidemiology, Pacific State Medical University (e-mail: yakovlev-epid@yandex.ru)

Огарков Олег Борисович – доктор медицинских наук, научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; руководитель лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: obogarkov@yandex.ru) ● <https://orcid.org/0000-0002-3168-1983>

Ogarkov Oleg Borisovich – Doctor of Medical Sciences, Senior Research Officer at the Central Research Laboratory, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Head of the Laboratory of Epidemiologically and Socially Significant Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: obogarkov@yandex.ru) ● <https://orcid.org/0000-0002-3168-1983>

СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ CASE REPORTS

DOI: 10.29413/ABS.2018-3.5.24
УДК 616.717.55-001.5-089.227.84

Михайлов И.Н.¹, Пусева М.Э.^{1, 2}, Бальжинимаев Д.Б.¹

Опыт лечения ложного сустава диафиза лучевой кости, сочетающегося с крупным дефектом диафиза локтевой кости (случай из практики)

¹ ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»
(664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

² Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО
«Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России
(664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

В данной статье представлен опыт хирургического лечения редко встречающейся патологии верхней конечности – псевдоартроза средней трети диафиза лучевой кости, дефект-псевдоартроза верхней и средней трети диафиза локтевой кости. Определение и составление точной модели и тактики лечения имеют решающее значение для восстановления анатомии и функции поврежденной верхней конечности. Редкость данного случая заключалась в размере дефекта локтевой кости, который составлял до 4,0 см, а также в дефиците и рубцовых изменениях мягких тканей и мышц правого предплечья, обусловленных тяжестью травмы и множеством оперативных вмешательств на правом предплечье. Выбранная тактика лечения состояла из нескольких последовательных этапов: резекция зоны ложного сустава правой лучевой кости, комбинированный чрескостный остеосинтез правой лучевой кости, резекция ложного сустава диафиза правой локтевой кости с замещением дефекта аутотрансплантатом из нижней трети малоберцовой кости, комбинированный напряженный остеосинтез и чрескостный остеосинтез аппаратом внешней фиксации стержневой компоновки правой локтевой кости.

Результаты хирургического лечения ложных суставов зависят от определения правильных показаний к определённому виду оперативного вмешательства и грамотного выполнения предусмотренного плана лечения. Выбранная нами тактика лечения позволила успешно восстановить анатомию и функцию поврежденного сегмента, социально реабилитировав пациента.

Ключевые слова: чрескостный остеосинтез, костная аутопластика, ложный сустав, дефект-диастаз, лучевая кость, локтевая кость, лечение

Для цитирования: Михайлов И.Н., Пусева М.Э., Бальжинимаев Д.Б. Опыт лечения ложного сустава диафиза лучевой кости, сочетающегося с крупным дефектом диафиза локтевой кости (случай из практики). Acta biomedica scientifica, 3 (5), 159-163, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.24.

Experience in the Treatment of the False Joint of the Diaphysis of the Radial Bone Combined with a Major Defect in the Ulnar Diaphysis (Case from Practice)

Mikhailov I.N.¹, Puseva M.E.^{1, 2}, Balzhinimaev D.B.¹

¹ Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology
(ul. Bortsov Revolyutsii 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

² Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education –
Branch Campus «Russian Medical Academy of Continuing Professional Education»
(Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

This article presents the experience of surgical treatment of rare pathology of the upper limb – pseudoarthrosis of the middle third of the diaphysis of the radius, defect pseudoarthrosis of the upper and middle third of the ulnar diaphysis. The definition and compilation of an accurate model and treatment tactics are critical to restoring the anatomy and function of the injured upper limb. The rarity of this case was the size of the ulna defect, which was up to 4.0 cm, the scarring and cicatricial changes in the soft tissues and muscles of the right forearm, due to the severity of the injury and the multitude of surgical interventions on the right forearm. The chosen treatment tactics consisted of several successive stages: resection of the zone of false joint of the right radial bone, combined transosseous osteosynthesis of the right radius bone, resection of the false elbow joint of the right ulna with replacement of the defect with autograft from the lower third of the fibula, combined strained osteosynthesis and transosseous osteosynthesis by external fixation apparatus with rod configuration of the right ulna.

The results of surgical treatment of false joints depend on the determination of the correct indications for a certain type of surgical intervention and the competent implementation of the planned treatment plan.

The chosen treatment tactics allowed us to successfully restore the anatomy and function of the damaged segment, thus rehabilitating the patient.

Key words: *transosseous osteosynthesis, bone autoplasty, false joint, defect-diastase, radius, ulna, treatment*

For citation: Mikhaylov I.N., Puseva M.E., Balzhinimaev D.B. Experience in the treatment of the false joint of the diaphysis of the radial bone combined with a major defect in the ulnar diaphysis (case from practice). Acta biomechanica scientifica, 3 (5), 159-163, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.24.

ВВЕДЕНИЕ

Ложные суставы (псевдоартрозы) костей предплечья являются наиболее тяжёлым и частым осложнением переломов данного сегмента [2, 4, 11]. В практике восстановительной хирургии, по данным разных авторов, псевдоартрозы костей предплечья составляют 20–25 % в структуре псевдоартрозов длинных трубчатых костей и 53,5 % – среди переломов костей верхней конечности [5, 6, 12]. Дефекты верхней конечности в структуре псевдоартрозов и дефектов длинных костей составляют 7,2 %, а частота выявления дефектов костей предплечья не превышает 3,8 % клинических наблюдений [3, 10].

В настоящее время существует множество различных способов и методов хирургического лечения ложных суставов костей предплечья. Костная пластика в сочетании с металлоosteосинтезом, компрессионным остеосинтезом значительно улучшили исходы хирургического лечения последствий переломов костей предплечья [1, 8, 9]. Но всё же проблема лечения ложных суставов костей предплечья в настоящее время остаётся до конца не решённой.

Представленный клинический случай демонстрирует ошибки лечения диафизарного перелома костей предплечья и медицинскую технологию лечения последствий данного повреждения.

Клинический пример

Больная Б., 29 лет, поступила в травматолого-ортопедическое отделение ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» с диагнозом: Приобретённая рекурвационная деформация костей правого предплечья. Псевдоартроз средней трети диафиза лучевой кости, дефект-псевдоартроз верхней и средней трети диафиза локтевой кости. Комбинированная контрактура правого локтевого, лучезапястного суставов, лучелоктевых сочленений. Регионарный остеопороз. Посттравматическая нейропатия лучевого нерва справа.

При поступлении пациентка жаловалась на боли и деформацию в области правого предплечья, ограничение движений в правом локтевом и лучезапястном суставах, невозможность вращения предплечья и кисти.

В анамнезе травма: 26.04.2014 г. в результате ДТП упала с мотоцикла, бригадой скорой медицинской помощи была доставлена в приёмное отделение дежурной больницы с диагнозом: Открытый 3 «Б» степени оскольчатый перелом средней трети диафиза костей правого предплечья со смещением отломков. Посттравматическая нейропатия лучевого нерва справа с выраженными двигательными нарушениями. Обширная скальпированная рана правого предплечья.

26.04.2014 г. выполнено оперативное вмешательство – первичная хирургическая обработка раны, интрамедуллярный остеосинтез костей предплечья двумя спицами Киршнера. Затем пациентка переведена в ожоговое отделение с диагнозом: Обширная инфицированная рана правого предплечья.

20.05.2014 г. выполнена операция – аутодермопластика правого предплечья. 06.06.2014 г. спицы удалены в связи с воспалительным процессом мягких тканей предплечья, правая верхняя конечность иммобилизована гипсовой шиной, в дальнейшем пациентка наблюдалась в поликлинике по месту жительства. Пациентку продолжали беспокоить ограничение движений в суставах правого предплечья и невозможность полноценно пользоваться правой верхней конечностью. Пациентка направлена на консультацию в ИНЦХТ, где установлен диагноз: Ложные суставы костей правого предплечья и рекомендовано оперативное лечение. В плановом порядке 22.01.2015 г. (через 9 месяцев после получения травмы) после прохождения обязательного клинического обследования и демонтажа аппарата внешней фиксации (АВФ) пациентка поступила в травматолого-ортопедическое отделение ИНЦХТ. При объективном исследовании на кожных покровах правого предплечья в проекции лучевой и локтевой кости визуализируются послеоперационные рубцы, кисть «висит», отмечается её вялое разгибание, отведение I пальца отсутствует, присутствует гипостезия по тыльной поверхности кисти, предплечья и плеча. При пальпации патологическая подвижность в проекции средней трети правого предплечья, амплитуда движений в локтевом суставе – 100°/30°/0°, в лучезапястном – 30°/10°/0°, ротация предплечья – 5°/0°/5°.

На рентгенограммах правого предплечья (рис. 1) видно, что нарушена целостность средней трети диафиза правой лучевой кости, средней и верхней трети диафиза правой локтевой кости с дефектом 1,0 см. Контуры концов отломков неровные, склерозированные. Линия просветления прослеживается на всём протяжении. Рекурвация 170°. Рентгенпрозрачность костной ткани повышена.

После клинико-рентгенологического обследования был установлен диагноз: Приобретённая рекурвационная деформация костей правого предплечья. Псевдоартроз средней трети диафиза лучевой кости, дефект-псевдоартроз верхней и средней трети диафиза локтевой кости. Комбинированная контрактура правого локтевого, лучезапястного суставов, лучелоктевых сочленений. Регионарный остеопороз. Посттравматическая нейропатия лучевого нерва справа.



Рис. 1. Рентгенограмма правого предплечья пациентки Б. до операции.

Fig. 1. X-ray of the right forearm of patient B. before surgery

Принято решение выполнить двухэтапное оперативное лечение – комбинированный чрескостный остеосинтез правой лучевой кости и комбинированный напряжённый остеосинтез правой локтевой кости.

Первым этапом выполнен доступ к ложному суставу средней трети правой лучевой кости, выполнена резекция (0,5 см) концов отломков, вскрыт костномозговой канал. Выполнен комбинированный чрескостный остеосинтез правой лучевой кости по схеме:

$$\text{III.9.90} \rightarrow \text{IV.10.90} \rightarrow \text{VI.9.90 VII.10.90} \\ \frac{1}{2} 120 \rightarrow \frac{1}{2} 120 \rightarrow \frac{1}{2} 120$$

Следующим этапом выполнен доступ к дефекту средней и верхней трети диафиза правой локтевой кости, выполнена резекция (1,5 см) концов отломков, вскрыт костномозговой канал. Дефект диафиза локтевой кости после резекции концов отломков составлял 4,0 см. Для восстановления первоначальной длины локтевой кости и замещения дефекта выполнен забор ауто трансплантата размером 4,0 см из нижней трети малоберцовой кости справа. Ауто трансплантат обработан, в нём сверлом d = 3,2 мм сделан канал для осевой компрессирующей спицы (ОКС). По разработанной и запатентованной нами технологии «Способ лечения перелома или последствий травм диафиза костей предплечья» [7] выполнена операция: замещение дефекта диафиза правой локтевой кости костным ауто трансплантатом из нижней трети малоберцовой кости справа; комбинированный напряжённый остеосинтез и чрескостный остеосинтез аппаратом внешней фиксации стержневой компоновки правой локтевой кости (рис. 2).

Схема:

$$\text{IV.11.90 V10.90} - \text{VI.10.90 VII.11.90} \\ \frac{1}{2} 120 \rightarrow \frac{1}{2} 120$$

Спица фиксирована в дистракционном зажиме к проксимальной базе АВФ.



Рис. 2. Рентгенограмма правого предплечья пациентки Б. после операции.

Fig. 2. X-ray of the right forearm of patient B. after surgery.

Послеоперационный период протекал без осложнений. Движения в смежных суставах правого предплечья разрешены с первого дня после операции. На 14-е сутки после операции сняты швы, и пациентка в удовлетворительном состоянии выписана на амбулаторное лечение.

На контрольных рентгенограммах правого предплечья через 6 недель после операции в проекции дефекта-диастаза локтевой кости виден трансплантат размером 9,0 см, ось костей предплечья удовлетворительная. Регионарный остеопороз.



Рис. 3. Рентгенограмма правого предплечья пациентки Б. через 6 недель после операции.

Fig. 3. X-ray of the right forearm of patient B. 6 weeks after surgery.

Через 14 месяцев после операции при отсутствии клинических признаков подвижности во время проведения клинической пробы в зоне повреждения, наличии рентгенологических признаков сращения отломков правой лучевой кости и перестройки костного ауто-транспланта локтевой кости выполнили демонтаж АВФ.

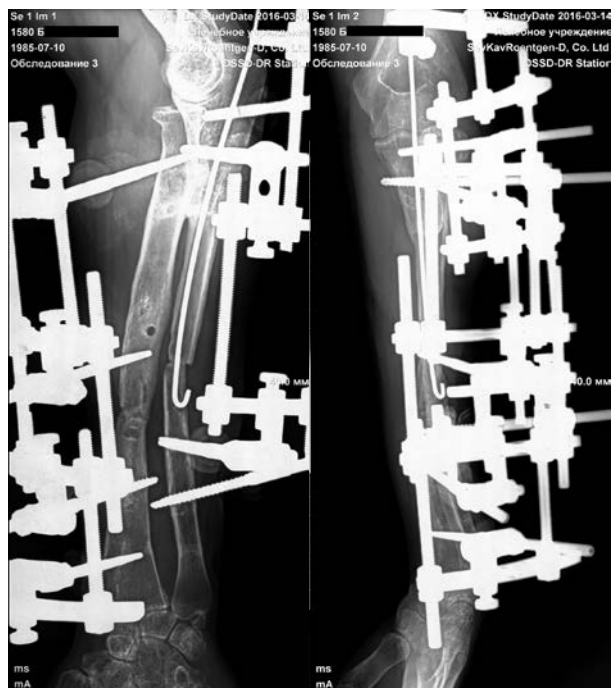


Рис. 4. Рентгенограмма правого предплечья пациентки Б. через 14 месяцев фиксации в АВФ.

Fig. 4. X-ray of the right forearm of patient B. after 14 months of fixation in the external fixator.



Рис. 5. Рентгенограмма правого предплечья пациентки Б. после демонтажа АВФ.

Fig. 5. X-ray of the right forearm of patient B. after removal of external fixator.

Больная свободно пользуется правой верхней конечностью в повседневной жизни. Объём движений в лучезапястном суставе составил: сгибание/разгибание – 25°/0°/30°, отведение лучевое/локтевое – 10°/0°/15°, супинация/пронация – 10°/0°/15°; объём движений в локтевом суставе: сгибание/разгибание – 150°/0°/0°.

Анатомический и функциональный результат лечения по системе Маттиса – Любошица – Шварцберга расценен как удовлетворительный.

Таким образом, приведённый нами клинический пример иллюстрирует возможности успешного лечения пациентов с редко встречаемыми повреждениями костей предплечья (псевдоартроз средней трети диафиза лучевой кости, дефект-псевдоартроз верхней и средней трети диафиза локтевой кости) методом чрескостного остеосинтеза, способствующим оптимальной ранней социальной реабилитации пациента.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Беляков А.А. Инвалидность при переломах диафизов длинных трубчатых костей, ее причины, предупреждение и снижение: учебное пособие. – Саранск: Мордовский госуниверситет, 1981. – 85 с.
Belyakov AA. (1981). Disability at fractures of diaphyses of long tubular bones, its causes, prevention and reduction: a textbook [*Invalidnost' pri perelomakh diafizov dlinnykh trubchatykh kostey, ee prichiny, preduprezhdenie i snizhenie: uchebnoe posobie*]. Saransk, 85 p.
2. Гольдман Б.Л., Литвинова Н.А. Исходы лечения закрытых диафизарных переломов костей предплечья // Ортопедия и травматология. – 1979. – № 1. – С. 44–47.
Goldman BL, Litvinova NA. (1979). Outcomes of treatment of closed diaphyseal fractures of forearm [*Iskhody lecheniya zakrytykh diafizarnykh perelomov kostey predplech'ya*]. *Ortopediya i travmatologiya*, (1), 44-47.
3. Горячев А.Н., Фоминых А.А., Игнатъев А.Г. Ротационная контрактура у больных с переломами костей предплечья // Гений ортопедии. – 2001. – № 2. – С. 97–98.
Goryachev AN, Fominykh AA, Ignatyev AG. (2001). Rotational contracture in patients with forearm fractures [*Rotatsionnaya kontraktura u bol'nykh s perelomami kostey predplech'ya*]. *Geniy ortopedii*, (2), 97-98.
4. Соколова М.Н., Борзунов Д.Ю. Методические принципы замещения дефектов костей предплечья с использованием технологий чрескостного остеосинтеза // Травматология и ортопедия России. – 2010. – № 3. – С. 103–110.
Sokolova MN, Borzunov DYU. (2010). Methodic principles of forearm bone defect replacement using transosseous osteosynthesis [*Metodicheskie printsipy zameshcheniya defektov kostey predplech'ya s ispol'zovaniem tekhnologii chreskostnogo osteosinteza*]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii*, (3), 103-110.
5. Соломин Л.Н. Основы чрескостного остеосинтеза аппаратом Г.А. Илизарова. – СПб.: МОР-САР АВ, 2005. – 544 с.
Solomin LN. (2005). Fundamentals of transosseous osteosynthesis using Ilizarov device [*Osnovy chreskost-*

nogo osteosinteza apparatom G.A. Ilizarova]. Sankt-Peterburg, 544 p.

6. Соломин Л.Н., Андрианов М.В., Назаров В.А., Кулеш П.Н., Инюшин Р.Е. Исследование смещения мягких тканей как основа для профилактики контрактур коленного сустава при чрескостном остеосинтезе бедренной кости // Травматология и ортопедия России. – 2004. – № 2. – С. 8–13.

Solomin LN, Andrianov MV, Nazarov VA, Kulesh PN, Inyushin RE. (2004). Study of soft tissues displacement as a basis for the prevention of knee joint contractures at transosseous osteosynthesis of femoral bone [Issledovanie smeshcheniya myagkikh tkaney kak osnova dlya profilaktiki kontraktur kolennogo sustava pri chreskostnom osteosinteze bedrennoy kosti]. *Travmatologia i orthopedia Rossii*, (2), 18-13.

7. Способ лечения перелома или последствий травм диафиза костей предплечья: Пат. № 2493791 Рос. Федерация; МПК А 61В17/56 / Пусева М.Э., Михайлов И.Н., Рудаков А.Н., Бутаев Ч.З.; заявитель и патентообладатель НЦРВХ СО РАМН. – № 201225420/14; заявл. 19.06.2012; опубл. 27.09.2013, Бюл. № 27. – 15 с.

Puseva ME, Mikhaylov IN, Rudakov AN, Butaev ChZ. (2013). Method of treatment of fracture or consequences of injuries of the forearm bones diaphysis: Patent

N 2493791 of the Russian Federation [*Sposob lecheniya pereloma ili posledstviy travm diafiza kostey predplech'ya: Pat. № 2493791 Ros. Federatsiya*].

8. Чулгур Б.М. Пути снижения инвалидности от травм костей предплечья // Научные труды Иркутского медицинского института. – Иркутск, 1979. – Вып. 147. – С. 106–107.

Chulgur BM. (1979). Ways to reduce disability from injuries to the forearm bones [Puti snizheniya invalidnosti ot travm kostey predplech'ya]. *Nauchnye trudy Irkutskogo medicinskogo instituta*, 147, 106-107.

9. Beickert R, Smieja S. (2001). Kompressionsmarknagelung bei Pseudarthrosen, *Trauma Berufskrankh*, (3), 195-202.

10. Catagni MA. (2002). Atlas for the insertion of transosseous wires and half-pins Ilizarov method. Milan, 46 p.

11. Gonschorek O, Hofmann GO, Hofmeister M., Buhren V. (1999). Treatment of femoral pseudarthrosis by using a reamed IM nail with active compression (Interlocking Compression Nail. *Osteosynthes Int*, 7 (Suppl 1), 27-30.

12. Raschke M, Hoffmann R, Khodadadyan C, von Fournier C, Südkamp NP, Haas NP. (1995). Combination of the Ilizarov ring fixator with the unilateral AO tube fixator clinical experience with the hybrid system. *Unfallchirurg*, 98 (12), 627-632.

Сведения об авторах Information about the authors

Михайлов Иван Николаевич – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, врач травматолого-ортопедического отделения, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1; тел. (3952) 29-03-57; e-mail: auto_mih@mail.ru) ● <https://orcid.org/0000-0003-3215-4736>

Mikhaylov Ivan Nikolaevich – Candidate of Medical Sciences, Senior Research Officer at the Scientific Clinical Department of Traumatology, Physician at the Unit of Traumatology and Orthopedics, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (664003, Irkutsk, ul. Bortsov Revolyutsii, 1; tel. (3952) 29-03-57; e-mail: auto_mih@mail.ru) ● <https://orcid.org/0000-0003-3215-4736>

Пусева Марина Эдуардовна – кандидат медицинских наук, доцент, заведующая травматолого-ортопедическим отделением, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; доцент кафедры травматологии, ортопедии и нейрохирургии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (тел. (3952) 29-03-65; e-mail: puseva@rambler.ru) ● <https://orcid.org/0000-0002-9136-3354>

Puseva Marina Eduardovna – Candidate of Medical Sciences, Docent, Head of the Unit of Traumatology and Orthopedics, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Associate Professor at the Department of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (tel. (3952) 29-03-65; e-mail: puseva@rambler.ru) ● <https://orcid.org/0000-0002-9136-3354>

Бальжинмаев Доржи Баирович – аспирант, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (e-mail: dorji45@mail.ru) ● <https://orcid.org/0000-0002-3486-0688>

Balzhinimaev Dorzhi Bairovich – Postgraduate, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (e-mail: dorji45@mail.ru) ● <https://orcid.org/0000-0002-3486-0688>

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ BRIEF REPORTS

DOI: 10.29413/ABS.2018-3.5.25

УДК 579.62, 579.61

Rodríguez I. ¹, Noda A.A. ¹, Fuentes O. ¹, Lienhard R. ², Gern L. ³

Evidences about Human Tick-Borne Infections in Cuba

¹ Tropical Medicine Institute "Pedro Kourí"
(Ave Novia del Mediodía, Km 6½, La Lisa, La Habana, 11400, Cuba)

² Swiss National Reference Centre for Tick-Transmitted Diseases
(Boucle de Cydalise 16, 2300, La Chaux-de-Fonds, Switzerland)

³ Laboratory of Eco-Epidemiology of Parasites, Institute of Biology, University of Neuchâtel
(Emile-Argand 11, 2000 Neuchâtel, Switzerland)

Serosurveys for IgG antibodies to *Borrelia burgdorferi sensu stricto* in a population exposed to tick bites ($n = 247$) and blood donors ($n = 114$) were done to assess the prevalence of tick-borne infections in Cuba. Seroprevalence of anti-borrelial IgG antibodies was estimated in 0.6–7.2 % and 0 % of risk population and blood donors, respectively. While previous expositions to *A. phagocytophilum* (7.2 %), *E. chaffensis* (3.6 %) and *B. microti* (11.5 %) were serologically detected. These reports suggest the presence of tick-borne pathogens in Cuba, nonetheless lacking of further accurate information strongly calls to the need of more deeply studies.

Key words: *Borrelia*, *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Babesia*, seroprevalence, IgG, Cuba

For citation: Rodríguez I., Noda A.A., Fuentes O., Lienhard R., Gern L. Evidences about Human Tick-Borne Infections in Cuba. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 164-165, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.25.

Распространённость клещевых инфекций среди населения о. Куба

Родригес И. ¹, Нода А.А. ¹, Фуэнтес О. ¹, Линхард Р. ², Герн Л. ³

¹ Tropical Medicine Institute "Pedro Kourí"
(Ave Novia del Mediodía, Km 6½, La Lisa, La Habana, 11400, Cuba)

² Swiss National Reference Centre for Tick-Transmitted Diseases
(Boucle de Cydalise 16, 2300, La Chaux-de-Fonds, Switzerland)

³ Laboratory of Eco-Epidemiology of Parasites, Institute of Biology, University of Neuchâtel
(Emile-Argand 11, 2000 Neuchâtel, Switzerland)

Для оценки распространённости клещевых инфекций среди населения о. Куба были проведены серологические исследования на наличие специфических антител к *Borrelia burgdorferi sensu stricto*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffensis* and *Babesia microti* среди людей, пострадавших от укусов клещей ($n = 247$) и среди здоровых доноров ($n = 114$). Иммунная прослойка в отношении *Borrelia burgdorferi sensu stricto* составила 0,6–7,2 % среди группы риска и 0 % – среди здоровых доноров крови. Кроме того, были выявлены случаи контакта населения с *A. phagocytophilum* (7,2 %), *E. chaffensis* (3,6 %) и *B. microti* (11,5 %). Полученная информация указывает на возможность существования активных природных очагов трансмиссивных клещевых инфекций на Кубе. Для получения точной информации о распространённости клещевых патогенов в Республике Куба необходимы углублённые исследования.

Ключевые слова: *Borrelia*, *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Babesia*, иммунная прослойка, IgG, Куба

Для цитирования: Родригес И., Нода А.А., Фуэнтес О., Линхард Р., Герн Л. Распространённость клещевых инфекций среди населения о. Куба. Acta biomedica scientifica, 3 (5), 164-165, DOI 10.29413/ABS.2018-3.5.25.

INTRODUCTION

Hard ticks (Acari: Ixodidae) are ectoparasitic arthropods and vectors of pathogenic microorganisms, affecting both humans and animals. The main species of hard ticks in Cuba are: *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*, *R. microplus*, *Dermacentor nitens* and *Amblyomma cajennense sensu lato*; the last one is a three-host tick that feeds on a large spectrum of hosts, including humans. In our country, tick-borne infections in humans

have not been officially recognized due to the absence of direct manifestation of the causal agents in samples from clinical cases.

MATERIAL AND METHODS

Serosurveys for IgG antibodies to *Borrelia burgdorferi sensu stricto* in a population exposed to tick bites ($n = 247$) and blood donors ($n = 114$), and for *Anaplasma phagocytophilum* ($n = 83$), *Ehrlichia chaffensis* ($n = 55$)

and *Babesia microti* ($n = 61$) in people from the same population at risk were done. Sera from patients with clinical suspicion of Lyme disease during 1998–2016 were tested by ELISA-IgM/IgG and Western blot-IgM/IgG for specific antibodies to *B. burgdorferi* sensu lato. Exploratory studies searching pathogens (*Borrelia* spp., *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp., *Babesia* spp., *Coxiella burnetii* and *Rickettsia* spp.) on Cuban ticks mainly from horses, bovines and dogs have been conducted using Polymerase chain reaction, Reverse line blot hybridization and DNA sequencing.

RESULTS AND DISCUSSION

Seroprevalence of antiborrelial IgG antibodies was estimated in 0.6–7.2 % and 0 % of risk population and blood donors, respectively. Borrelial infection was also confirmed by specific IgM and IgG detection on clinically suspected patient sera. While previous expositions to *A. phagocytophilum* (7.2 %), *E. chaffensis* (3.6 %) and *B. microti* (11.5 %) were serologically detected. DNA from *Anaplasma/Ehrlichia* spp., *Babesia* spp., *R. amblyommii* and *Coxiella burnetii* were detected in ixodid, mainly *A. cajennense*. These are the first reports suggesting the presence of tick-borne pathogens in Cuba, nonetheless lacking of further accurate information strongly calls to the need of more deeply studies.

Information about the authors

Rodríguez Islay – PhD, Researcher and Professor, Cuba Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí” (Ave Novia del Mediodía, Km 6½, La Lisa, La Habana, 11400, Cuba; e-mail: islay@ipk.sld.cu)

Noda Angel A. – BSc, MSc, Cuba Instituto de Medicina Tropical “Pedro KourKourí” (e-mail: angelalberto@ipk.sld.cu)

Fuentes Omar – Tropical Medicine Institute “Pedro KourKourí”

Lienhard Reto – MSc, Head of Departement; Swiss National Reference Centre for Tick-Transmitted Diseases, ADMED Microbiologie (Boucle de Cydalise 16, 2300, La Chaux-de-Fonds, Switzerland; e-mail: reto.lienhard@ne.ch)

Gern Lise – PhD, Director of Research, Laboratory of Eco-Epidemiology of Parasites, Institute of Biology, University of Neuchâtel (Emile-Argand 11, 2000 Neuchâtel, Switzerland; tel. +41 32-718-30-52, fax +41 32-718-30-01; e-mail: lise.gern@unine.ch)

ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ И ЮБИЛЕИ HISTORY OF MEDICINE AND ANNIVERSARIES



К юбилею ЛЕОНИДА ИННОКЕНТЬЕВИЧА КОРЫТОВА

28 августа 2018 года отметил свой юбилей один из уважаемых членов Диссертационного совета при ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ, доктор медицинских наук, профессор Корытов Леонид Иннокентьевич, трудовая деятельность которого связана с Иркутским государственным медицинским университетом. Он прошёл путь от студента до заведующего кафедрой и декана.

Леонид Иннокентьевич Корытов родился 28 августа 1943 г. в Бурятской АССР (село Дырестуй Джиндинского района) в многодетной семье. Окончив среднюю школу, поступил в Иркутский мединститут на стоматологический факультет. После завершения обучения (1965 г.) был зачислен в аспирантуру на кафедру нормальной физиологии человека и интенсивно включился в научный и учебный процесс. Под руководством профессора А.И. Никитина много времени уделял экспериментальной работе с животными, был активным членом научного кружка кафедры, участвовал в различных студенческих научных конференциях. В 1969 г. защитил кандидатскую диссертацию («Влияние дикорастущих ягод сизой жимолости и голубики на желудочную секрецию и газообмен»), а в 1992 г. – докторскую («Центральные и периферические механизмы адаптации организма при воздействии органических растворителей»). В 1968 г. ему было присвоено звание доцента, а в 1993 г. – профессора.

В 1974 году доцент Корытов Л.И. прошёл в Москве 6-месячную переподготовку по курсу «Медицинская кибернетика» и на протяжении двух последующих лет читал лекции по данному курсу. Позднее, в 1977 году, был принят по конкурсу на международные курсы преподавателей-экспертов по линии «Юнеско» с изучением французского и английского языков, а также специальных предметов: «международное высшее образование», «дипломатический этикет», «тропическая медицина» и другие. Через год направлен в служебную командировку в столицу Гвинеи г. Конакри, где читал на французском языке лекции по физиологии на медицинском и фармацевтическом факультетах студентам университета. Одновременно исполнял обязанности куратора МЗ СССР советских преподавателей-медиков Конакрийского университета, заведующего кафедрой теоретических дисциплин этих факультетов, курировал ряд университетов Африки, где основным языком служил французский. За три года работы на африканском континенте (1978–1981 гг.) он приобрёл хороший опыт международной педагогической деятельности, апробировал и внедрил в учебные заведения новые для того времени технологии педагогического процесса, опубликовал учебник по физиологии на

французском языке. В 1981 году Леонид Иннокентьевич вернулся в родной Иркутский государственный медицинский институт и продолжил работать в качестве доцента кафедры нормальной физиологии. В течение 2 лет (1985–1987) был заместителем декана стоматологического факультета. В 1994 году был избран на должность заведующего кафедрой и оставался её бессменным руководителем в течение почти 20 лет.

Корытов Л.И. является председателем проблемной комиссии по адаптации, членом Учёного Совета ИГМУ и стоматологического факультета.

Подготовил 3 докторов и 10 кандидатов наук. Является автором более двухсот печатных работ, десяти учебных пособий, учебника «Медицинская физиология» на французском языке, 3 монографий, более десятка изобретений и рационализаторских предложений. Награждён почётными знаками «Изобретатель СССР» и «Отличник здравоохранения Монголии», медалью И.П. Павлова, Физиологического общества при РАН за большой вклад в изучение физиологии адаптации и висцеральных систем. Участвовал в работе шести съездов физиологического общества им. И.П. Павлова и ряда международных симпозиумов. Является председателем Иркутского отделения республиканского физиологического общества имени И.П. Павлова, членом общественного совета по проблемам противодействия распространению наркомании среди населения Иркутской области при губернаторе Иркутской области. В течение длительного времени Леонид Иннокентьевич является членом Диссертационного совета Д 001.038.02 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», принимает активное участие в его работе в качестве рецензента по специальности 14.03.03 – патологическая физиология, имеет решающее слово при вынесении заключений о соответствии диссертации заявленной специальности.

Леонида Иннокентьевича отличают широкая эрудиция, исключительное трудолюбие, высокое чувство ответственности, серьёзный подход к решению стоящих перед ним задач. Это человек яркого таланта, элегантного жизненного и научного вкуса, интеллигентности. Его трудолюбие, широкий диапазон интересов, высокая ответственность, компетентность и профессионализм, коммуникабельность и огромные организационные способности, эрудиция и творческое отношение к делу, мудрость, личное обаяние и неиссякаемая энергия вызывают глубокое уважение коллег.

Коллектив Диссертационного совета Д 001.038.02 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», а также сотрудники лабораторий ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ сердечно поздравляют глубокоуважаемого Леонида Иннокентьевича с юбилеем и желают ему крепкого здоровья, благополучия, долгих лет жизни и дальнейших творческих успехов на благо отечественной науки и здравоохранения!

*С искренним уважением,
коллектив ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи
и репродукции человека»*

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ В ЖУРНАЛЕ «АСТА BIOMEDICA SCIENTIFICA» Данная редакция правил – февраль 2018 г.

Журнал «Acta biomedica scientifica» принимает следующие рукописи:

1. Оригинальные статьи – основаны на результатах клинических исследований. Проведение и описание всех клинических исследований должно быть в полном соответствии со стандартами CONSORT – <http://www.consort-statement.org>.

2. Лекции – клинически направленные обзоры, выполненные специалистом широкого профиля, включающие в себя разделы по эпидемиологии, патофизиологии, диагностическим методам, лечению и профилактике, имеющие неструктурированное резюме.

3. Обзоры литературы – имеют более узкую специализированную направленность, чем лекции, и неструктурированное резюме.

4. Плановые работы научно-исследовательских учреждений в виде оригинальных сообщений, содержащих новые существенные научные результаты.

5. Случай из практики – информационное сообщение, представляющее сложную диагностическую проблему и описание её решения или редкий клинический случай.

6. Письмо редактору. Содержит не более 500 слов и должно быть направлено на обсуждение определённой статьи, опубликованной в журнале «Acta biomedica scientifica»

Рукописи предоставляются в редакцию в электронном виде в формате текстового редактора Microsoft Word вместе с отсканированными сопроводительным письмом направляющей организации и Лицензионным договором. В сопроводительном письме даётся следующая информация:

1) автор(ы) гарантируют, что рукопись оригинальная; ни статья, ни рисунки к ней не были ранее опубликованы в других изданиях;

2) автор(ы) гарантируют, что рукопись не находится на рассмотрении в другом издании;

3) автор(ы) несут ответственность за достоверность представленных в рукописи материалов;

4) информация о конфликте интересов/финансировании;

5) информация о соблюдении этических норм при проведении исследования.

6) информация об авторе, ответственном за переписку, который, в соответствии с Частью 4 Гражданского кодекса РФ, от имени авторов заключает Лицензионный договор с редакцией.

Без этой информации статьи не рассматриваются.

Если рукопись является частью диссертационной работы, то необходимо указать предположительные сроки защиты.

Рукописи проверяются в системе «Антиплагиат».

Текст рукописи печатается шрифтом Times New Roman, кегль 12, межстрочный интервал 1,5. Таблицы и рисунки с подписями к ним располагаются в тексте статьи. Рисунки и таблицы следует выполнять компактно в целях экономии места. Наиболее удобны для типографского воспроизведения рисунки шириной в одну колонку (до 8 см), две колонки (до 16,5 см) или во весь лист (16,5 × 22 см).

Рисунки высылаются дополнительно отдельными файлами. **Растровые** изображения, выполненные в графических редакторах, предоставляются в виде файлов формата *.tif, *.jpg с разрешением не менее **300 dpi**. При разрешении **300 dpi** ширина рисунка в пикселях должна быть не менее **950 пикселей** для рисунка шириной **8 см**, не менее **1950 пикселей** – для **16,5 см**, не менее **2600 пикселей** – для **22 см**. Растровые изображения предоставляются пофрагментно (т.е. без цифр, надписей и стрелок).

Векторные изображения предоставляются в формате программы, в которой они выполнены (Corel Draw, Adobe Illustrator) либо в формате *.eps.

Графики и диаграммы предоставляются в виде файлов в форматах тех программ, в которых они построены.

Если нужна печать иллюстраций в цвете, то это необходимо указать в ходатайстве.

Подписи к рисункам и названия таблиц дополнительно переводятся на английский язык.

Использование аббревиатур допускается только после первоначального указания полного названия.

Список литературы (ЛИТЕРАТУРА, REFERENCES) составляется в алфавитном порядке. Сначала приводятся работы отечественных авторов, затем – иностранных (при описании литературного источника указываются все его авторы). Русскоязычные ссылки в списке должны быть транслитерированы в системе BGN (с помощью сайта <http://translit.net/ru/bgn>).

Предусматривается следующая структура статьи:

1) фамилия (фамилии) автора (авторов) и инициалы; 2) название статьи; 3) полное (в соответствии с Уставом) название учреждения (учреждений) и его (их) адрес. Надстрочными арабскими цифрами отмечают соответствие учреждений, в которых работают авторы; 4) аннотация на русском языке (от 150 до 250 слов); 5) ключевые слова (не более 10); 6) фамилия (фамилии) автора (авторов) и инициалы на английском

языке; 7) название статьи на английском языке; 8) название учреждения (учреждений) и его (их) адрес на английском языке; 9) аннотация на английском языке (200–250 слов); 10) ключевые слова на английском языке; 11) текст статьи; 12) список литературы (не более 20 источников для оригинальных статей и не более 40 – для теоретических и обзорных работ; номера ссылок в тексте выделяются квадратными скобками); 13) контактная информация на каждого автора на русском и английском языках, включающая фамилию, имя, отчество; учёную степень, учёное звание; должность; полный почтовый и электронный адреса автора, рабочий телефон. Мобильный телефон необходим только для связи с одним из авторов в случае необходимости внесения правок в статью – в журнале он не указывается.

Все статьи начинаются введением, содержащим чёткую формулировку цели работы. Экспериментальные и клинические оригинальные статьи включают также разделы «Материалы и методы», «Результаты» и «Обсуждение». Теоретические и обзорные статьи могут быть разбиты на подразделы в соответствии с замыслом авторов.

Статья должна быть подписана всеми авторами, что даёт право на её публикацию в журнале и размещение сведений о статье в различных электронных источниках (elibrary.ru; сайты агентств-распространителей печатной продукции). Кроме того, подписи авторов гарантируют, что экспериментальные и клинические исследования выполнены в соответствии с международными этическими нормами научных исследований. Статьи подвергаются научному рецензированию, по результатам которого принимается решение о целесообразности опубликования работы; отклонённые статьи не возвращаются и повторно не рассматриваются. Не допускается параллельное представление статей в иные журналы или направление в журнал уже опубликованных работ. Редакция имеет право на научное и литературное редактирование статьи и/или возвращение статьи автору для исправления выявленных дефектов. Датой поступления статьи в журнал считается день получения редакцией окончательного варианта текста.

Статьи подвергаются научному рецензированию, по результатам которого принимается решение о целесообразности опубликования работы.

Публикация статьи платная и составляет в 2017 году 2300 рублей (до 8 страниц включительно, кегль 12, межстрочный интервал 1,5), свыше – производится доплата 150 рублей за каждую страницу. Также производится доплата за печать иллюстраций в цвете.

Бесплатная публикация статьи предоставляется аспирантам, если аспирант является единственным автором научной статьи. Авторские экземпляры не предусмотрены. Журнал можно получить только по подписке.

Примеры оформления ссылок на разные источники:

1. Дмитриев Н.С., Косяков С.Я., Федосеев В.И. Компьютерная томография височной кости в предоперационном обследовании больных с различной патологией уха // *Новости оториноларингологии и логопатологии*. – 2001. – № 2. – С. 77–78.

Dmitriev NS, Kosyakov SY, Fedoseev VI. (2001). Computed tomography of the temporal bone in preoperative examination of patients with pathologies of the ear [Komp'yuternaya tomografiya visochnoy kosti v predoperatsionnom obsledovanii bol'nykh s razlichnoy patologiei ukha]. *Novosti otorinolaringologii i logopatologii*, (2), 77-78.

2. Санадзе А.Г., Касаткина Л.Ф. Клиническая электромиография. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 63 с.

Sanadze AG, Kasatkina LF. (2007). Clinical electromyography [*Klinicheskaya elektromiografiya*]. Moskva, 63 p.

3. Шпотин В.П., Галимзянов К.М., Еремина Н.В., Простушкин А.И. Оценка цитокинового статуса у больных хроническим гнойным средним отитом // *Цитокины и воспаление*. – 2012. – Т. 11, № 4. – С. 82–84.

Shpotin VP, Galimzyanov KM, Eremina NV, Prostushkin AI. (2012) Evaluation of cytokine status in patients with chronic purulent otitis media [Otsenka tsitokinovogo statusa u bol'nykh khronicheskim gnoynym srednim otitom]. *Tsitokiny i vospalenie*, 11 (4), 82-84.

4. Blikbern WN. (2003). Self-efficacy: Toward a unifying theory of behavioral change. *Psychological Review*, 84, 191-215.

Пример оформления контактной информации:

Сидоров Иван Иванович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел. (3952) 20-73-67; e-mail: iphr@yandex.ru)

Sidorov Ivan Ivanovich – Candidate of Medical Sciences, Senior Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (664003, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 16; tel. (3952) 20-73-67; e-mail: iphr@yandex.ru)

Подробные правила оформления рукописи в журнал размещены на сайте <http://actabiomedica.ru>.

Формат 60×84/8. Бумага офсетная. Сдано в набор 09.09.2018. Подписано в печать 16.10.2018.
Печ. л. 21,25. Усл. печ. л. 19,8. Уч. изд. л. 17,1. Зак. 042-18. Тир. 500.

РИО ИНЦХТ
(664003, Иркутск, ул. Борцов Революции, 1. Тел. 29-03-37, 29-03-70. E-mail: arleon58@gmail.com)