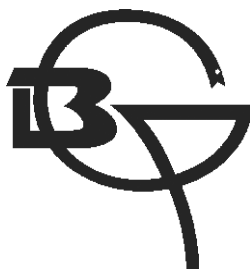


РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

БЮЛЛЕТЕНЬ
ВОСТОЧНО-СИБИРСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА



№6 (100)

2014

ИРКУТСК

Главный редактор

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

Зам. главного редактора

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

Григорьев Е.Г., чл.-корр. РАН (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)

Колесникова Л.И., чл.-корр. 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, Эль-Карак)

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

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

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

Юрьева Т.Н., д.м.н. (Россия, Иркутск)

Редакционный совет

Атшабар Б.Б., д.м.н., профессор (Казахстан, Алматы); Белов А.М., д.м.н., профессор (Россия, Москва); Белокриницкая Т.Е., д.м.н. (Россия, Чита), Бохан Н.А., д.м.н., профессор (Россия, Томск); Бычков И.В., академик РАН (Россия, Иркутск); Данчинова Г.А., д.б.н. (Россия, Иркутск); Дубровина В.И., д.б.н. (Россия, Иркутск); Константинов Ю.М., д.б.н., профессор (Россия, Иркутск); Кожевников В.В., д.м.н., профессор (Россия, Улан-Удэ); Луценко М.Т., академик РАН (Россия, Благовещенск); Мазуцава Т., доктор наук, профессор (Япония, Чита); Макаров Л.М., д.м.н., профессор (Россия, Москва); Малышев В.В., д.м.н., профессор (Россия, Калининград); Манчук В.Т., чл.-корр. РАН (Россия, Красноярск); Никитенко Л.Л., д.б.н. (Великобритания, Оксфорд); Нямдаваа П., академик Монгольской академии наук (Монголия, Улан-Батор); Огарков О.Б., д.м.н. (Россия, Иркутск); Протопопова Н.В., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск); Рычкова Л.В., д.м.н. (Россия, Иркутск); Савченков М.Ф., академик РАН (Россия, Иркутск); Салеев Р.К., чл.-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); Янагихара Р., доктор наук, профессор (США, Гавайи).

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://byulleten.com>. E-mail: sikol@sbamsr.irk.ru

Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской Академии медицинских наук зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Свидетельство о регистрации СМИ – ПИ № 7-58651 от 21 июня 2014 г.

Основан в 1993 году.

Учредители – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16), Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, д. 1), Федеральное государственное бюджетное 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).

Бюллетень 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».

Бюллетень ВСНЦ СО РАМН 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».

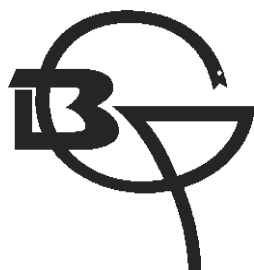
Подписной индекс 24347.

Ключевое название: *Bulleten' Vostocno-Sibirskogo naucnogo centra*

Сокращенное название: *Bull. Vost.-Sib. nauch. cent.*

RUSSIAN ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES
SIBERIAN BRANCH

BULLETIN
OF EASTERN-SIBERIAN SCIENTIFIC CENTER



N6 (100)

2014

IRKUTSK

Chief Editor

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

Deputy Chief Editor

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

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

Kolesnikova L.I., Corresponding Member 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, Al Karak)

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

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

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

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

Editorial Council

Atshabar B.B., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Kazakhstan, Almaty*); Belov A.M., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Russia, Moscow*); Belokrinskaya T.E., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Russia, Chita*); Bokhan N.A., Doctor of Medical Sciences (*Russia, Tomsk*); Bychkov I.V., Academician of RAS (*Russia, Irkutsk*); Danchinova G.A., Doctor of Biological Sciences (*Russia, Irkutsk*); Dubrovina V.I., Doctor of Biological Sciences (*Russia, Irkutsk*); Konstantinov Yu.M., Doctor of Biological Sciences, Professor (*Russia, Irkutsk*); Kozhevnikov V.V., Doctor of Medical Science, professor (*Russia, Ulan-Ude*); Lutsenko M.T., Academician of RAS (*Russia, Blagoveshchensk*); 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, Kaliningrad*); Manchouk V.T., Corresponding Member of RAS (*Russia, Krasnoyarsk*); Nikitenko L.L., Doctor of Biological Sciences (*UK, Oxford*); Nyamdavaa P., Academician of Mongolian Academy of Sciences (*Mongolia, Ulaanbaatar*); Protopopova N.V., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Russia, Irkutsk*); Rychkova L.V., Doctor of Medical Sciences (*Russia, Irkutsk*); Savchenkov M.F., Academician of RAS (*Russia, Irkutsk*); Salyajev R.K., Corresponding Member of RAS (*Russia, Irkutsk*); Suturina 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*); Yanagihara R., MD, Professor (*USA, Hawaii*)

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: 16, Timiryazev str., Irkutsk, Russia, 664003

SC FHHRP.

Tel. (3952) 20-90-48.

<http://byulleten.com>. E-mail: sikol@sbamsr.irk.ru

Bulletin of Eastern-Siberian Scientific Center of Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences is registered in Federal Service of Supervision in communication sphere, information technologies and mass media. Certificate of Mass Media Registration – ПИ № 7-58651 of 21 June 2014.

The Bulletin 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).

Bulletin is included in Abstract Journal and Data base of All-Russian Institute of Scientific and Technical Information. Information about the Bulletin is published in international question-answering system of periodicals and continued publications "Ulrich's Periodicals Directory".

Bulletin ESSC SB RAMS 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»

Subscription index 24347.

Key title: Bulletin' Vostочно-Sibirskogo nauchnogo centra

Abbreviated key title: Bull. Vost.-Sib. nauchn. cent.

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Клиническая медицина

- Алексеева Н.С. Влияние компонентов метаболического синдрома на качество жизни пациентов 9
- Ипполитова Е.Г., Верхозина Т.К., Кошкарёва З.В., Сорокинов В.А., Арсентьева Н.И. Особенности формирования вызванных потенциалов у пациентов со стенозом позвоночного канала на поясничном уровне 14
- Кирилова И.А. Оценка уровня физического развития детей дошкольного возраста г. Иркутска с использованием индексов 20
- Николаев К.Ю., Овсянникова А.К., Лифшиц Г.И., Москаленко И.В. Использование противовоспалительного эффекта сорбционного комплекса в реабилитации пациентов с хронической сердечной недостаточностью после перенесенного инфаркта миокарда 23
- Петрунько О.В. Ремиссия как современная цель антидепрессивной терапии 29
- Пусева М.Э., Кинаш И.Н., Верхозина Т.К. Преимущества стержневой фиксации при диафизарных переломах костей предплечья по данным реовазографии 34
- Щукина О.Б., Кондрашина Э.А., Харитидис А.М., Ботина А.В., Маркова Е.А. Оценка гистологических показателей у больных с клинической ремиссией язвенного колита 39

Профилактическая медицина

- Спасич Т.А., Лемешевская Е.П., Решетник Л.А., Виноградова А.В., Гармаева С.Б. Гигиеническое значение дефицита витамина D у населения Иркутской области и пути его профилактики 44

Клиническая фармакология и лекарственные средства

- Костромина Е.О., Чхенкели В.А. Получение препаратов на основе дереворазрушающих грибов 48
- Татарина Н.К., Свиридов И.В., Торопова А.А., Шантанова Л.Н., Гармаева Л.Л. Антиоксидантная активность сухих экстрактов *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC 52

Экспериментальные исследования в биологии и медицине

- Дударь М.В., Васильева Л.С., Молоков В.Д. Лечение экспериментального пародонтита терпенсодержащим препаратом 55

Clinical medicine

- Alekseyeva N.S. Influence of components of metabolic syndrome on the patients' life quality
- Ippolitova E.G., Verkhozina T.K., Koshkareva Z.V., Sorokovikov V.A., Arsentyeva N.I. Peculiarities of formation of evoked potentials in patients with lumbar spine stenosis
- Kirilova I.A. Physical development index method assessment of Irkutsk preschool age children
- Nikolaev K.Yu., Ovsyannikova A.K., Lifshits G.I., Moskalenko I.V. The use of anti-inflammatory effect of the sorption complex in rehabilitation of patients with chronic heart failure after myocardial infarction
- Petrunko O.V. Achievement of remission as a modern purpose of antidepressant therapy
- Puseva M.E., Kinash I.N., Verkhozina T.K. Advantages of rod external fixation at diaphyseal fractures of forearm bones according to the data of rheovasography
- Shchukina O.B., Kondrashina E.A., Kharitidis A.M., Botina A.V., Markova E.A. Evaluation of histological parameters in patients with clinical remission of ulcerative colitis

Preventive medicine

- Spasich T.A., Tarmayeva I.Y., Reshetnik L.A., Vinogradova A.V., Garmayeva S.B. Hygienic value of vitamin D deficiency in Irkutsk region and ways of its prevention

Clinical pharmacology and medicinal products

- Kostromina E.O., Chkhenkeli V.A. Preparations based on wood-decay fungi
- Tatarinova N.K., Sviridov I.V., Toropova A.A., Shantanova L.N., Garmayeva L.L. Antioxidant activity of the dry extract *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC

Experimental researches in biology and medicine

- Dudar M.V., Vasilyeva L.S., Molokov V.D. Treatment of experimental periodontitis by terpene-containing medication

- Колесникова Л.И., Попова А.С., Крупицкая Л.И., Синицкий А.И. Активность аминолевулинатсинтазы (АЛК-синтазы) костного мозга и печени крыс линий Август и Вистар в период новорожденности после острой постнатальной гипоксии 60
- Кунгурцева Е.А., Джигоев Ю.П., Попкова С.М., Лещенко О.Я., Загвозкина А.В. Патогенный потенциал и взаимовлияние микрофлоры слизистых оболочек открытых полостей различных биотопов у женщин как важные факторы их репродуктивного здоровья 63
- Моторина И.Г., Юшков Г.Г., Куликов Л.К., Расулов М.М., Шукина О.Г., Малышкина Н.А. Динамика биохимических показателей сыворотки крови кроликов под влиянием светолечения после локального термического ожога кожи 68
- Разуваева Я.Г., Торопова А.А., Кухаренко Н.С., Николаев С.М., Убеева И.П. Стресс-протективное и антиоксидантное влияние сухого экстракта из *Humulus Lupulus* при длительном эмоциональном стрессе 73
- Свиридов И.В., Разуваева Я.Г., Шантанова Л.Н. Антигипоксические свойства сухого экстракта из корней *Serratula centauroides* 77
- Чхенкели В.А., Анисимова А.В., Романова Е.Д., Калинин А.Е., Промтов М.В. Экспериментальная оценка эффективности препарата траметин при экспериментальном сальмонеллёзе у лабораторных и сельскохозяйственных животных 80
- Kolesnikova L.I., Popova A.S., Krupitskaya L.I., Sinitskiy A.I. Activity of aminolevulinat synthase of bone marrow and liver of newborn August and Wistar rats after acute postnatal hypoxia
- Kungurtseva Y.A., Dzhioev Yu.P., Popkova S.M., Leshchenko O.Ya., Zagvozkina A.V. Pathogenic potential and mutual interaction of microflora of mucous membranes of open cavities of different biotopes in women as important factors of their reproductive health
- Motorina I.G., Yushkov G.G., Kulikov L.K., Rasulov M.M., Shchukina O.G., Malyshkina N.A. Dynamics of biochemical indices of blood serum in rabbits under the influence of phototherapy after local skin thermal burn
- Razuvaeva Ya.G., Toropova A.A., Kukharensko N.S., Nikolaev S.M., Ubeyeva I.P. Stress-protective and antioxidant effect of *Humulus Lupulus* dry extract at chronic emotional stress
- Sviridov I.V., Razuvaeva Ya.G., Shantanova L.N. Antihypoxic properties of the dry extract from *Serratula centauroides*
- Chkhenkeli V.A., Anisimova A.V., Romanova E.D., Kalinovich A.Ye., Promtov M.V. Experimental assessment of the efficiency of the Trametin at experimental salmonellosis of laboratory and agricultural animals

Микробиология и вирусология

- Букин Ю.С., Джигоев Ю.П., Козлова И.В., Ружек Д., Злобин В.И. Сравнительный анализ физико-химических свойств аминокислотных остатков, входящих в различные варианты оболочечного белка Е вируса клещевого энцефалита 84
- Загоруйко Н.Г., Джигоев Ю.П., Козлова И.В., Ткачев С.Е., Букин Ю.С., Парамонов А.И., Борисенко А.Ю., Борисова И.А., Злобин В.И., Кутненко О.А. Применение математических методов предсказания для выявления закономерных связей мутаций в белках вируса клещевого энцефалита и проявлений его фенотипических признаков 89
- Ткачев С.Е., Козлова И.В., Джигоев Ю.П., Верховина М.М., Дорощенко Е.К., Лисак О.В., Сунцова О.В., Злобин В.И., Парамонов А.И., Тикунов А.Ю., Ляпунов А.В., Тикунова Н.В., Ружек Д. Краткая характеристика штаммов вируса клещевого энцефалита европейского генотипа, выявленных в Сибирском регионе 96
- Федулина О.О., Сунцова О.В., Рар В.А., Мельцов И.В., Козлова И.В., Лисак О.В., Чекушкина В.В. Выявление *Theileria Equi* в крови лошадей на территории Иркутской области 101
- Bukin Yu.S., Dzhioev Yu.P., Kozlova I.V., Ruzek D., Zlobin V.I. Comparative analysis of the physicochemical properties of amino acid residues within the various embodiments of the envelope protein E tick-borne encephalitis virus
- Zagoruyko N.G., Dzhioev Yu.P., Kozlova I.V., Tkachev S.E., Bukin Yu.S., Paramonov A.I., Borisenko A.Yu., Borisova I.A., Zlobin V.I., Kutnenko O.A. Application of mathematical method predictions for identification of patterns relations mutations in proteins encephalitis virus and a manifestation of its phenotypic traits
- Tkachev S.E., Kozlova I.V., Dzhioev Y.P., Verkhozina M.M., Doroschenko E.K., Lisak O.V., Suntsova O.V., Zlobin V.I., Paramonov A.I., Tikunov A.Y., Lyapunov A.V., Tikunova N.V., Ruzek D. Brief characteristic of European genotype tick-borne encephalitis virus strains identified in Siberian region
- Fedulina O.O., Suntsova O.V., Rar V.A., Meltsov I.V., Kozlova I.V., Lisak O.V., Chekushkina V.V. Identification of *Theileria equi* in horse blood in the Irkutsk region

Геномика и протеомика

Genomics and proteomics

- Баирова Т.А., Чурбанова С.А., Колесников С.И., Калюжная О.В. Распространенность полиморфного локуса 681G>A гена CYP2C19 в русской популяции 105
- Иевлева К.Д., Баирова Т.А., Колесников С.И., Калюжная О.В. Распространенность полиморфизма 2756A>G гена метионинсинтазы в популяциях Восточной Сибири 108
- Первушина О.А., Баирова Т.А., Колесникова Л.И. Полиморфизм Ala16Val гена супероксиддисмутазы 2 (SOD2) у подростков-европеоидов с эссенциальной артериальной гипертензией, проживающих в Восточной Сибири 111

- Bairova T.A., Churbanova S.A., Kolesnikov S.I., Kalyuzhnaya O.V. Prevalence of polymorphous locus 681G>A of CYP2C19 gene in Russian population
- Ievleva K.D., Bairova T.A., Kolesnikov S.I., Kalyuzhnaya O.V. Prevalence of 2756A>G polymorphism of methionine synthase gene in populations of Eastern Siberia
- Pervushina O.A., Bairova T.A., Kolesnikova L.I. Ala16Val polymorphism of superoxidedismutase 2 (SOD2) gene in Caucasoid teenagers with hypertension, living in the Eastern Siberia

Обзоры

Reviews

- Бердина О.Н. Роль сна и его нарушений в формировании когнитивных функций в детском возрасте (обзор литературы) 115

- Berdina O.N. The role of sleep and its disorders in forming of cognitive functions in childhood (literature review)

История медицины

History of medicine

- Кошкарёва З.В., Сорокиков В.А., Макарова М.А. Вклад Т.Д. Зыряновой в изучение проблемы повреждений костей таза и сопутствующих осложнений 120

- Koshkareva Z.V., Sorokovikov V.A., Makarova M.A. Contribution of T.D. Zyryanova to the study of the problem of pelvic bones injuries and associated complications

Разное

Miscellanea

- Баженов А.А., Аверина А.С., Прикоп М.В. Влияние гелиогеофизических факторов на здоровье человека 125
- Кондакова М.О. Демографические волны Иркутской области и их последствия 130
- Правила оформления статей в «Бюллетень ВСНЦ СО РАМН» 134

- Bazhenov A.A., Averina A.S., Prikop M.V. Influence of heliogeophysical factors on human health
- Kondakova M.O. Demographic waves of Irkutsk region and their consequences
- Rules of publication of articles in «Bulletin ESSC SB RAMS»

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

УДК 616-056.52+616.379-008.64+616.12-008.331.1:613.6

Н.С. Алексеева

ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА НА КАЧЕСТВО ЖИЗНИ ПАЦИЕНТОВ

Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей (Новокузнецк)

Изучалось влияние компонентов метаболического синдрома на показатели качества жизни пациентов. Исследовали пациентов с абдоминальным ожирением и различным сочетанием компонентов метаболического синдрома. Оценка показателей качества жизни проводилась с помощью опросника MOS SF-36. Выявлено, что каждый компонент метаболического синдрома может снижать показатели физического и психического здоровья. При длительном существовании отдельных компонентов метаболического синдрома наблюдалось сочетание большего их количества и ухудшение физической активности, эмоционального состояния, общего и психологического здоровья.

Ключевые слова: качество жизни, метаболический синдром, абдоминальное ожирение, сахарный диабет 2-го типа, артериальная гипертензия

INFLUENCE OF COMPONENTS OF METABOLIC SYNDROME ON THE PATIENTS' LIFE QUALITY

N.S. Alekseyeva

Novokuznetsk State Institute of Postgraduate Medicine, Novokuznetsk

We researched the influence of components of metabolic syndrome on the indices of patients' life quality. Patients with abdominal obesity and different combination of components of metabolic syndrome were studied. The assessment of indices of life quality was conducted using MOS SF-36 enquirer. It was found that each component of metabolic syndrome might decrease indices of physical and mental health. In case of long existence of single components of metabolic syndrome the combination of most of them and aggravation of physical activity, emotional state, general and mental health.

Key words: life quality, metabolic syndrome, abdominal obesity, type 2 diabetes, arterial hypertension

Метаболический синдром (МС) является комплексом патологических состояний, медико-экономическая значимость которых ставит его в разряд важных проблем XXI века. Распространенность МС в общей популяции довольно высока и колеблется от 14 до 35 %, среди лиц с нарушением толерантности к глюкозе (НТГ) она составляет 50 %, а при сахарном диабете (СД) 2-го типа – 80 %. Широкая распространенность МС, его роль в развитии коморбидных заболеваний – СД 2-го типа, артериальной гипертензии, дислипидемии, атеросклероза – определяют научные поиски в ключевых звеньях патогенеза, вопросах диагностики, профилактики и лечения этого симптомокомплекса [2, 7, 11]. Выделение МС, учитывая его широкую распространенность и прогностическую значимость, имеет большое клиническое и социальное значение. Абдоминальный тип ожирения является ведущим клиническим признаком МС. В целом МС характеризуется увеличением массы висцерального жира, снижением чувствительности периферических тканей к инсулину и гиперинсулинемии, которые вызывают развитие нарушений углеводного, липидного, пуринового обмена и артериальной гипертензии [2, 3, 4]. Имеется тесная патогенетическая взаимосвязь между инсулинорезистентностью, ожирением и

артериальной гипертензией и обратимостью патологических изменений при своевременном лечении больных с МС [3, 4]. Установлено, что при снижении массы тела замедляется прогрессирование атеросклероза, нормализуется или снижается артериальное давление (АД), улучшаются показатели СД, снижается смертность [2, 5, 7, 11]. Обширность клинических проявлений МС и необходимость одновременного приема пациентами значительного количества медикаментов негативно сказываются на приверженности к лечению, в результате чего не наблюдается адекватного контроля за избыточным весом, уровнем АД и гликемией [6, 10]. Поэтому диетические рекомендации и медикаментозная терапия должны иметь хорошую переносимость, адекватный терапевтический эффект и удобный режим дозирования, что, несомненно, влияет на качество жизни пациентов с различными компонентами МС.

Качество жизни является многомерным понятием, отражающим информацию об основных сферах жизнедеятельности человека, а также влияние заболевания и лечения на благополучие пациента. Качество жизни – интегральная характеристика физического, психического, эмоционального и социального функционирования, изменяющегося под влиянием

заболевания или лечения, основанная на субъективном восприятии [8, 12]. С помощью качества жизни оценивается то, как пациент переносит заболевание. Оценка качества жизни, сделанная самим пациентом, является ценным и надежным показателем его общего состояния. Улучшение качества жизни пациентов с МС требует понимания причин его снижения и оценки эффективности проводимой терапии, в связи с чем все более широко используются различные методы оценки качества жизни. В результате клинических и психологических исследований было выделено качество жизни, обусловленное здоровьем. При определении этого понятия была сделана попытка выделить аспекты жизни пациента, в наибольшей степени зависящие от состояния здоровья, наличия болезней и их симптомов, лечения. Качество жизни, обусловленное здоровьем, – это степень комфортности человека как внутри себя, так и в рамках своего общества. Изучение этого позволяет определить факторы, которые способствуют улучшению жизни при различных заболеваниях и, в частности, при МС [1, 8, 10]. Пациенты с различным сочетанием и количеством компонентов МС имеют комплекс нарушений, влияющих на качество жизни.

Цель исследования: изучить влияние компонентов метаболического синдрома на качество жизни пациентов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие 625 пациентов с абдоминальным ожирением (51,2 % женщин и 48,8 % мужчин, возрасте – от 25 до 70 лет), находившихся в 2011–2012 гг. на стационарном лечении в терапевтическом отделении МБЛПУ «ГКБ № 5» г. Новокузнецка. Диагностику компонентов МС осуществляли согласно рекомендациям экспертов Всероссийского научного общества кардиологов (ВНОК, 2009) [4]. Избыточную массу тела и ожирение выявили на основании индекса массы тела Кетле (1997).

Оценка показателей качества жизни проводилась с помощью опросника MOS SF-36 с использованием результатов по восьми шкалам опросника и подсчетом значений двух интегральных шкал – физического и психического компонентов. Качество жизни (КЖ) оценивали при помощи методики «Medical Outcomes Study 36-Item Short Form Health Survey» (MOS SF-36).

В анализ включены следующие шкалы:

1. Физическая активность (Physical Functioning, PF) – включает самообслуживание, ходьбу, подъем по лестнице, выполнение наклонов, а также значительных физических нагрузок.

2. Ролевое физическое функционирование (Role Physical, RP) – роль физических проблем в ограничении жизнедеятельности, отражает степень, в которой здоровье ограничивает выполнение обычной деятельности.

3. Телесная боль (Bodily Pain, BP) – оценивает интенсивность боли и ее влияние на способность заниматься нормальной деятельностью, включая работу по дому и вне его в течение последнего месяца.

4. Общее здоровье (General Health, GH) – оценка пациентом своего состояния здоровья в данный

момент времени и перспектив лечения, оценка сопротивления болезни.

5. Жизнеспособность (Vitality, V) – оценка ощущения себя полным сил, энергии или, наоборот, обессиленным.

6. Социальная активность (Social Functioning, SF) – удовлетворенность уровнем социальной активности, отражает степень, в которой физическое или эмоциональное состояние ее ограничивает.

7. Ролевое эмоциональное функционирование (Role Emotional, RE) – имеет целью оценку степени, в которой эмоциональное состояние мешает выполнению работы или другой обычной повседневной деятельности.

8. Психологическое здоровье (Mental Health, MH) – характеризует настроение, наличие депрессии, тревоги, общий показатель положительных эмоций.

Пять шкал (PF, RP, BP, SF, RE) определяют состояние здоровья как отсутствие ограничений в осуществлении деятельности. Для них максимальное значение равно 100, и оно достигается при полном отсутствии ограничений или нарушений здоровья. Чем выше показатель по шкале, тем лучше КЖ по данным параметрам. Три шкалы (GH, VT, MH) являются биполярными, и для них при отсутствии отклонений и нарушений достигается значение 50. SF-36 позволяет получить два суммарных измерения – уровень физического (Physical Component Summary – PCS) и психологического (Mental Component Summary – MCS) здоровья. Составляющие физического здоровья – физическая активность, ролевое физическое функционирование, телесная боль, общее здоровье; психологического – жизнеспособность, социальная активность, ролевое эмоциональное функционирование и психологическое здоровье. Время, необходимое для анкетирования пациента, не превышало 10–15 минут. Расчет значений шкал проводился с помощью компьютерной программы по алгоритму.

Биохимическое исследование сыворотки крови (определение концентрации ТГ, ХС ЛПВП, ХС ЛПНП и глюкозы) проводили ферментативными методами на аппарате Konelab-30i. Статистическая обработка результатов осуществлялась с использованием пакета прикладных статистических программ Statistica 6.0 и электронных таблиц Microsoft Excel 2003. Данные представлены в виде средних арифметических значений и стандартных отклонений. Критерием статистической значимости получаемых выводов считалась общепринятая в медицине величина $p < 0,05$, при этом окончательный вывод осуществлялся на основе всего комплекса применяемых критериев [9]. В соответствии с требованиями биомедицинской этики, утвержденными Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (2000), на участие в исследовании было получено информированное согласие всех обследованных лиц.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Центральный тип ожирения – объем талии (ОТ) более 94 см – выявили у 48,8 % мужчин, ОТ более 80 см – у 51,2 % женщин. Нормальную массу тела диа-

гностировали у 5,6 % пациентов, избыточную массу тела – у 25,3 % пациентов, ожирение 1-й степени – у 31,8 %, ожирение 2-й степени – у 26,6 % и ожирение 3-й степени – у 10,7 %. Артериальную гипертензию (АД $\geq 130/85$ мм рт. ст.) регистрировали у 77,9 % пациентов. Артериальную гипертензию I стадии диагностировали в 27 % случаев, II стадии – в 33,8 % случаев, III стадии – в 39,2 % случаев. Повышение уровня ХС ЛПНП $> 3,0$ ммоль/л выявили у 65,9 % пациентов. Снижение уровня ХС ЛПВП $< 1,0$ ммоль/л диагностировали у 57,4 % мужчин, $< 1,2$ ммоль/л – у 51,9 % женщин. Повышение уровня ТГ $\geq 1,7$ ммоль/л было у 63 % пациентов. Нарушение гликемии натощак регистрировали у 4 %, НТГ – у 7,2 % и СД 2-го типа – у 41 % пациентов.

При выяснении анамнеза компонентов МС было выявлено, что избыточный вес в течение 5 лет наблюдался у 24,2 % пациентов, от 5 до 10 лет – у 43,9 %, более 10 лет – у 31,9 % пациентов. Артериальная гипертензия в течение 5 лет была выявлена в 27,1 % случаев, от 5 до 10 лет – в 33,1 % случаев, более 10 лет – в 39,8 % случаев. СД 2-го типа в течение 1 года был у 5,1 % пациентов, стаж данного заболевания от 1 года до 5 лет наблюдался у 18,4 %, от 5 до 10 лет – у 32,8 %, более 10 лет – у 43,8 % пациентов.

При анализе влияния избыточного веса на качество жизни и клиническую симптоматику МС выявили, что с увеличением индекса массы тела наблюдалось сочетание большего количества компонентов МС. Так, сочетание абдоминального ожирения и двух компонентов МС чаще выявлялось у пациентов с избыточной массой тела. Наличие центрального типа у пациентов с ожирением 1-й степени и двух дополнительных компонентов МС было выявлено в 59 % случаев, а сочетание трех и более компонентов МС у данной категории пациентов наблюдалось в 41 % случаев. Сочетание центрального ожирения у пациентов со 2-й и 3-й степенями с двумя дополнительными критериями МС диагностировали в 32,4 % и 26,4 % случаев соответственно. В основном у данной категории пациентов наблюдалось сочетание абдоминального ожирения и трех и более дополнительных компонентов МС.

Более низкие показатели качества жизни наблюдались у пациентов с ожирением 2-й и 3-й степени и различным сочетанием компонентов МС. У данной категории пациентов наблюдались затруднения в выполнении тяжелых и умеренных нагрузок, при подъеме по лестнице, ходьбе на различные дистанции, наклонах и приседаниях. Показатели общего состояния здоровья у пациентов с ожирением были ниже (чаще пациенты со 2-й степенью – GH $33,4 \pm 4,32$ и с 3-й степенью – GH $27,3 \pm 2,34$), чем у пациентов с избыточной (GH $70,3 \pm 3,46$) и нормальной массой тела (GH $75,3 \pm 2,11$). Пациенты с МС, имеющие ожирение (в основном 2-й и 3-й степени) достоверно чаще оценивали свое здоровье как плохое и считали себя более склонными к болезням. Напротив, пациенты с нормальной и избыточной массой тела оценивали свое здоровье как хорошее. Пациенты с ожирением 2-й и 3-й степени чаще испытывали физическую боль, которая снижала

способность повседневной деятельности, включая работу по дому. Поэтому выраженность болевого синдрома негативно влияла на показатели качества жизни у пациентов 2-й и 3-й степени ожирения (BP $40,7 \pm 2,34$ и BP $32,4 \pm 4,35$ соответственно). Снижение суммарного физического компонента качества жизни было связано с затруднениями в выполнении умеренных повседневных физических нагрузок (уборка, подъем и перенос небольших грузов) и с нарушениями передвижения (затруднениями при ходьбе, подъеме по лестнице, наклонах и приседаниях). Пациенты с ожирением 2-й и 3-й степени значительно чаще отмечали (в связи с физическим состоянием у них) затруднения в повседневной деятельности, приводящие к сокращению времени и снижению эффективности работы. Суммарный физический компонент качества жизни у пациентов с нормальной (PHs $54,07 \pm 2,54$) и избыточной массой тела (PHs $53,16 \pm 4,32$), ожирением 1-й степени (PHs $50,01 \pm 6,45$) был выше, чем у пациентов с ожирением 2-й и 3-й степени (PHs $33,45 \pm 3,65$ и PHs $30,23 \pm 4,54$ соответственно). Последние более негативно оценивали состояние своего здоровья и считали себя более склонными к болезням. Показатели психологического (ментального) здоровья снижались при увеличении индекса массы тела и сочетании большего количества компонентов МС. В большей степени это наблюдалось среди пациентов со 2-й и 3-й степенями ожирения (MH $42,2 \pm 3,14$ и MH $40,3 \pm 3,32$ соответственно). Данные пациенты значительно реже чувствовали себя счастливыми, бодрыми и энергичными и более часто – подавленными, измученными и усталыми. У них отмечалось затруднение социальных контактов в связи с эмоциональным состоянием, чаще имело место негативное настроение – нервозность, подавленность, печаль. Большая часть пациентов с ожирением 2-й степени (77 %) и практически все пациенты с ожирением 3-й степени (96 %) отмечали затруднения в повседневной деятельности или работе в связи с эмоциональным состоянием: им пришлось сократить количество времени, затрачиваемого на работу; выполнили меньше, чем намеревались; выполняли работу не так аккуратно, как обычно. Снижение суммарного психического компонента чаще всего было связано с нарушением психологического здоровья, социального и ролевого эмоционального функционирования. Данные показатели были выше у пациентов с нормальной и избыточной массой тела (MHs $55,12 \pm 1,32$, SF $75,3 \pm 3,24$, RE $82,32 \pm 15,65$ и MHs $54,32 \pm 2,13$, SF $71,3 \pm 6,43$, RE $66,67 \pm 23,21$ соответственно) и ожирением 1-й степени (MHs $52,12 \pm 5,13$, SF $68,3 \pm 5,64$, RE $58,3 \pm 15,53$), чем у пациентов со 2-й и 3-й степенями ожирения (MHs $42,12 \pm 8,13$, SF $45,5 \pm 5,42$, RE $46,3 \pm 12,25$ и MHs $34,25 \pm 4,13$, SF $43,3 \pm 8,38$, RE $33,3 \pm 15,51$ соответственно). С увеличением длительности существования избыточного веса наблюдалось сочетание большего количества компонентов МС и снижение качества жизни данной категории пациентов. Так, при стаже избыточной массы тела и ожирения до 5 лет показатели общего здоровья соответствовали GH $70,3 \pm 16,76$, эмоционально-ролевого

функционирования – RE 66,67 ± 11,01 и психологического здоровья – MH 61,13 ± 12,32, при длительности от 5 до 10 лет – GH 53,4 ± 14,32, RE 46,3 ± 12,25 и MH 44,12 ± 9,43, более 10 лет – GH 37,3 ± 12,34, RE 33,3 ± 15,51 и MH 36,25 ± 9,13.

При анализе влияния артериальной гипертензии как одного из компонентов МС на качество жизни пациентов была выявлена достоверная связь показателей психического и физического здоровья пациентов с уровнем АД. Так, по мере повышения уровня АД отмечалось ухудшение показателей качества жизни. У пациентов с компонентами МС, но без артериальной гипертензии показатели качества жизни были выше (общее состояние здоровья GH 75,3 ± 2,11, физическая работоспособность RP 78,21 ± 2,54, эмоциональное состояние RE 82,32 ± 15,65, социальная роль SF 75,3 ± 3,24, психологическое здоровье MH 73,23 ± 1,13), чем с артериальной гипертензией (GH 45,48 ± 8,51, RP 47,32 ± 21,43, RE 55,95 ± 19,26, SF 47,46 ± 5,46 и MH 54,35 ± 9,35. Среди пациентов с МС и артериальной гипертензией самые высокие показатели качества жизни (GH 52,4 ± 1,75, RP 69 ± 2,35, RE 74,2 ± 2,34, SF 49,7 ± 3,22, MH 60,5 ± 3,2) определялись при I стадии. При II стадии артериальной гипертензии показатели качества жизни снижались (GH 48,7 ± 2,25, RP 35,3 ± 2,23, RE 46,3 ± 2,25, SF 46,3 ± 1,43 и MH 48,2 ± 2,23). При артериальной гипертензии III стадии были самые низкие показатели, особенно по категориям общего здоровья (GH 40,2 ± 3,23), физического функционирования (RP 28,3 ± 2,12), эмоционального состояния (RE 39,4 ± 2,71). С увеличением длительности существования артериальной гипертензии качество жизни у пациентов с МС снижалось. Так, при стаже артериальной гипертензии до 5 лет показатели общего здоровья соответствовали GH 65,7 ± 5,54, эмоционально-ролевого функционирования – RE 61,5 ± 6,45 и психологического здоровья – MH 63,7 ± 5,14, при длительности от 5 до 10 лет – GH 62,7 ± 3,18, RE 57,6 ± 5,43 и MH 61,2 ± 5,54, более 10 лет – GH 57,6 ± 5,76, RE 56,5 ± 7,45 и MH 58,5 ± 6,14. Ухудшение показателей качества жизни у пациентов с МС и наличием артериальной гипертензии также связывали с попытками модификации образа жизни и приемом антигипертензионной терапии по шкалам физического функционирования (RP 50,4 ± 9,12) и жизнестойкости (VT 49,3 ± 5,17). Суммарный психический компонент качества жизни у пациентов с МС в сочетании со II и III стадиями артериальной гипертензии (MHs 35,13 ± 4,23 и MHs 33,42 ± 2,13 соответственно) был ниже, чем у пациентов без нее или с артериальной гипертензией I стадии (MHs 55,26 ± 6,33 и MHs 50,13 ± 1,43 соответственно).

Наличие СД 2-го типа как одного из основных компонентов МС, степень его компенсации, осложненный отрицательно влияли на качество жизни. СД негативно сказывался на оценке состояния здоровья, значительно ограничивал повседневную физическую деятельность и вызывал снижение жизнестойкости. Выявлено влияние физического состояния на ролевое функционирование (RP 33,37 ± 7,22), интенсивность боли (BP 46,95 ± 9,68), общее

состояние здоровья (GH 46,16 ± 5,32) и жизненную активность (VT 47,5 ± 16,3). С увеличением длительности течения СД 2-го типа значительно снижалась физическая активность, болевой синдром становился более выраженным (PF, RP, BP) и ухудшалось эмоциональное (RE) и психологическое состояние (MH), что значительно ограничивало повседневную деятельность. Так, при стаже СД 2-го типа до 5 лет показатели качества жизни составили: общее здоровье – GH 51,1 ± 2,38, физическая работоспособность – RP 38,3 ± 2,29, болевой синдром – BP 53,4 ± 3,23, эмоциональное состояние – RE 53,4 ± 1,32, социальное функционирование – SF 57,3 ± 1,63 и психологическое здоровье – MH 58,1 ± 1,35, при длительности заболевания от 5 до 10 лет – GH 49,3 ± 1,35, RP 34,5 ± 3,54, BP 48,5 ± 1,35, RE 47 ± 2,45, SF 55,2 ± 1,26 и MH 53,4 ± 1,23, более 10 лет – GH 57 ± 5, RP 29,5 ± 3,35, BP 40,5 ± 3,23, RE 40,3 ± 3,55, SF 54,2 ± 1,33 и MH 51,2 ± 2,21. Снижение качества жизни у пациентов с МС и СД 2-го типа было связано не только с прогрессированием хронических диабетических осложнений, но и (по шкалам физического функционирования и жизнестойкости) с переходом от диетотерапии к таблетированной сахароснижающей терапии и далее – к инсулинотерапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Метаболический синдром имеет многообразие клинических проявлений. Каждый компонент МС может негативно влиять на качество жизни, снижая показатели физического и психического здоровья. При увеличении индекса массы тела у пациентов с абдоминальным ожирением наблюдается сочетание большего количества компонентов метаболического синдрома и снижение показателей качества жизни. При увеличении длительности существования отдельных компонентов метаболического синдрома и их прогрессировании наблюдалось сочетание большего их количества и ухудшение таких показателей, как физическая активность, эмоциональное состояние, общее и психологическое здоровье.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Афанасьева Е.В. Оценка качества жизни, связанного со здоровьем // Качественная клиническая практика. – 2010. – № 1. – С. 36–38.
Afanasjeva E.V. Assessment of life quality connected with health // Kachestvennaya praktika. – 2010. – N 1. – P. 36–38.
2. Демидова Т.Ю. Борьба с ожирением – необходимое звено профилактики сахарного диабета 2 типа // Диабет. Образ жизни. – 2005. – № 6. – С. 55–56.
Demidova T.Yu. Fight against obesity – necessary part of type two diabetes mellitus prevention // Diabet. Kachestvo zhizni. – 2005. – N 6. – P. 55–56.
3. Клебанова Е.М., Балаболкина М.И., Креминская В.М. Инсулинорезистентность: ее роль в патогенезе сахарного диабета 2 типа и возможности коррекции // Лечащий врач. – 2005. – № 5. – С. 16–21.
Klebanova E.M., Balabolkina M.I., Kreminskaya V.M. Insulin resistance: its role in pathogenesis of type two

diabetes mellitus and ways of correction // *Lechashchiy vrach*. – 2005. – N 5. – P. 16–21.

4. Консенсус российских экспертов по проблеме метаболического синдрома в РФ: определение, диагностические критерии, первичная профилактика и лечение // *Актуальные вопросы болезней сердца и сосудов (Consilium Medicum)*. – 2010. – № 2. – С. 4–11.

Consensus of Russian experts on the issue of metabolic syndrome in Russia: definition, diagnostic criteria, primary prevention and treatment // *Aktualniye voprosi bolezney serdtsa i sosudov (Consilium Medicum)*. – 2010. – N 2. – P. 4–11.

5. Кравец Е.Б., Самойлова Ю.Г., Матюшева Н.Б. и др. Метаболический синдром в общеврачебной практике // *Бюллетень сибирской медицины*. – 2008. – № 1. – С. 80–87.

Kravets E.B., Samoylova Yu.G., Matyusheva N.B. et al. Metabolic syndrome in general practice // *Bulleten sibirskoy meditsini*. – 2008. – N 1. – P. 80–87.

6. Куприянова И.Е., Семке Г.В., Галева К.В. Психическое здоровье и качество жизни пациентов на разных стадиях артериальной гипертензии // *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. – 2013. – № 3 (78). – С. 51–54.

Kupriyanova I.E., Semke G.V., Galeyeva K.V. Psychic health and life quality in patients at various stages of arterial hypertension // *Sibirskiy vestnik psikiatrii i narkologii*. – 2013. – N 3 (78). – P. 51–54.

7. Маколкин В.И. Метаболический синдром. – М.: Медицинское информационное агентство, 2010. – 144 с.

Makolkin V.I. Metabolic syndrome. – Moscow: Meditsinskoye informatsionnoye agentstvo, 2010. – 144 p.

8. Новик А.А., Ионова Т.И. Руководство по исследованию качества жизни в медицине; 2-е изд. / Под ред. акад. Ю.Л. Шевченко. – М.: ОЛМА Медиа Групп, 2007. – 320 с.

Novik A.A., Ionova T.I. Guidelines on life quality study in medicine. 2nd edition / Ed. Yu.L. Shevchenko. – Moscow: OLMA Media Group, 2007. – 320 p.

9. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение прикладных программ Statistica. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.

Rebrova O.Yu. Statistical analysis of medical data. Using of Statistica application program. – Moscow: MediaSfera, 2002. – 312 p.

10. Хохлов А.Л., Жилина А.Н., Буйдина Т.А. Взаимосвязь показателей качества жизни и особенностей психологического статуса с клиническими проявлениями метаболического синдрома // *Качественная клиническая практика*. – 2006. – № 2. – С. 19–23.

Khokhlova A.L., Zhilina A.N., Buydina T.A. Interrelation between life quality indices and psychological status and clinical manifestations of metabolic syndrome // *Kachestvennaya klinicheskaya praktika*. – 2006. – N 2. – P. 19–23.

11. Чазова И.Е., Мычка В.Б. Метаболический синдром, сахарный диабет 2 типа и артериальная гипертензия // *Сердце: журнал для практикующих врачей*. – 2003. – Т. 2, № 3. – С. 102–104.

Chazova I.E., Michka V.B. Metabolic syndrome, type two diabetes mellitus and arterial hypertension // *Serdtshe: zhurnal dlya praktikuyushchikh vrachey*. – 2003. – Vol. 2, N 3. – P. 102–104.

12. World Health Organization. Quality of life group. What is it Quality of life? // *Wid. Hth Forum*. – 1996. – N 1. – P. 29.

Сведения об авторах

Алексеева Наталья Сергеевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей гигиены и эпидемиологии Новокузнецкого государственного института усовершенствования врачей МЗ РФ (654005, г. Новокузнецк, пр. Строителей, 5; тел.: 8 (3843) 45-13-44; факс: 8 (3843) 45-42-19; e-mail: natali-sim82@mail.ru)

Information about the authors

Alekseyeva Natalya Sergeyevna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of General Hygiene and Epidemiology of Novokuznetsk State Institute of Advanced Medical Training (654005, Novokuznetsk, Prospekt Stroiteley, 5; tel.: +7 (3843) 45-13-44, fax: +7 (3843) 45-42-19; e-mail: natali-sim82@mail.ru)

Е.Г. Ипполитова¹, Т.К. Верхозина^{1, 2}, З.В. Кошкарёва¹, В.А. Сороковиков^{1, 2}, Н.И. Арсентьева¹

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ВЫЗВАННЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ У ПАЦИЕНТОВ СО СТЕНОЗОМ ПОЗВОНОЧНОГО КАНАЛА НА ПОЯСНИЧНОМ УРОВНЕ

¹ Иркутский научный центр хирургии и травматологии (Иркутск)

² Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования (Иркутск)

При анализе нейромиографических показателей пациентов с центральным стенозом позвоночного канала установлено, что клиническим проявлениям стеноза соответствует выраженное снижение электронейромиографических параметров, что дает представление о функциональном торможении мотонейронов вследствие рефлекторных нарушений. Полученные данные позволяют клиницистам разработать адекватную, патогенетически обоснованную схему лечения больных со стенозами позвоночного канала.

Ключевые слова: стеноз позвоночного канала, электронейромиография, М-ответ, Н-рефлекс

PECULIARITIES OF FORMATION OF EVOKED POTENTIALS IN PATIENTS WITH LUMBAR SPINE STENOSIS

E.G. Ippolitova¹, T.K. Verkhosina^{1, 2}, Z.V. Koshkareva¹, V.A. Sorokovikov^{1, 2}, N.I. Arsenteva¹

¹ Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk

² Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk

At the analysis of neuromyographic indices of patients with central spinal stenosis it was determined that evident decrease of electroneuromyographic parameters corresponds to the clinical manifestations of stenosis, that give an indication of functional suppression of motoneurons in consequence of metastasis ad nervos. Obtained data allows the clinicians to develop an adequate and pathogenetically proved scheme of treatment of patients with spinal stenosis.

Key words: spinal stenosis, electroneuromyography, M-response, H-reflex

В результате комплексного обследования пациентов с компрессионными синдромами, сопровождающимися стенозом позвоночного канала, определены основные факторы и виды компрессии корешков спинного мозга. Проанализированы ЭНМГ-показатели у 64 пациентов, в анамнезе у которых был остеохондроз 2–3-го периода развития, осложненный дискогенным пояснично-крестцовым радикулитом с клиническими и неврологическими проявлениями и болевым синдромом разной степени тяжести. Установлено, что демиелинизация сопровождается сегментарными расстройствами, выражающимися в дефиците супраспинальных и супрасегментарных влияний, которые проявлялись как следствие ишемизации проводящих путей спинного мозга при стенозах. Снижение амплитуды рефлекторного ответа (Н-рефлекс) и следового потенциала (F-волна) или их выпадение, вероятно, связаны с отеком корешка без его локальной демиелинизации. Умеренно выраженным изменениям при патологии проксимального участка нерва, по нашим данным, соответствует увеличение латентного периода Н-рефлекса и F-ответа, а также расширение диапазона скорости распространения возбуждения, что является признаком локальной демиелинизации корешка при отсутствии периферической аксонопатии. Выраженные нарушения соответствуют диссоциации скорости прохождения импульса (СПИ) по проксимальному отрезку и признакам аксональной невропатии дистального отрезка нейромоторного аппарата. Таким образом, изменения таких электронейромиографических

показателей, как СПИ и возбудимость, соответствующие проявлениям стеноза позвоночного канала поясничного отдела позвоночника, обусловлены наличием компрессии корешков и их сосудов как на больной, так и на интактной конечности с развитием их ишемии. Скорость распространения возбуждения значительно снижается при демиелинизирующих процессах, вызванных стенозом. Полученные данные позволяют клиницистам разработать адекватную, патогенетически обоснованную схему лечения больных со стенозами позвоночного канала.

В клинике ИНЦХТ проводилось комплексное обследование и лечение больных с компрессионными синдромами, сопровождавшимися стенозом позвоночного канала. Комплексное обследование включало клинический осмотр, методы лучевой диагностики (МРТ) и электронейромиографические (ЭНМГ) методы, что позволило определить основные факторы и виды компрессии корешков спинного мозга и разработать адекватную, патогенетически обоснованную схему лечения [6].

По данным электронейромиографических исследований, проведенных с помощью нейромониторизатора НМА-4-01 «Нейромонитор», проанализированы показатели 64 пациентов с центральным стенозом позвоночно-двигательного сегмента поясничного отдела. Из них 80 % обследованных (50 человек) составили лица женского пола и 20 % (14 человек) – лица мужского пола. У 44 пациентов было сочетание центрального стеноза и грыж дисков различной локализации. Возрастной диапазон обследованных варьи-

ровал от 32 до 70 лет. В анамнезе у всех больных был остеохондроз (2–3-й период развития), осложненный дискогенным пояснично-крестцовым радикулитом с клиническими и неврологическими проявлениями.

Болевой синдром разной степени тяжести выявлен у всех обследованных пациентов с компрессионными синдромами. По временным факторам болевого синдрома выделяли:

- острый период (до 1 мес.) – наблюдались спонтанные боли или боли в покое – 5 пациентов (7,8 %);
- подострый период (1–3 мес.) – боли в покое исчезали и оставались боли, спровоцированные движением – 8 пациентов (12,5 %);
- хронический болевой синдром (боли, продолжающиеся более 3 месяцев без ремиссии) – 51 пациент (79,6 %).

При анализе клинических проявлений выявлено, что при стенозе позвоночного канала у всех 64 пациентов имел место синдром люмбагии или люмбоишиалгии, в 75 % отмечена гипотрофия мышц нижних конечностей, в 70,8 % – нарушение чувствительности в нижней конечности. Другие симптомы стеноза позвоночной артерии встречались реже (табл. 1).

По данным анализа лучевых методов диагностики, у 48 больных выявлено уменьшение сагиттального и фронтального размеров позвоночного канала (табл. 2).

Анализ данных, полученных при ЭНМГ-исследовании седалищного нерва у больных со

стенозами позвоночного канала, позволил определить характер имеющихся функциональных нарушений [7].

Исследование особенностей прямой и рефлекторной возбудимости нервных стволов (параметры М-ответа и Н-рефлекса), моторной и сенсорной проводимости большеберцовой и малоберцовой ветвей седалищного нерва со стенозами позвоночного канала показали снижение возбудимости моторных волокон как на больной, так и на интактной конечности, что отразилось в повышении порога прямой возбудимости нервных стволов (до $27 \pm 5,2$ мА – больная конечность, до $22 \pm 4,3$ мА – интактная конечность), в сравнении с данными, полученными в контрольной группе ($16 \pm 2,4$ мА). Амплитуда прямого мышечного ответа также была снижена с обеих сторон (до 0,6–0,8 мкВ при норме от 1,4–1,8 мкВ).

Скорость проведения импульса (СПИ) по нервам отражает состояние быстропроводящих волокон. Для большинства нервов нижних конечностей СПИ в норме составляет 40–60 м/с. При аксонных дегенерациях скорость проведения импульса снижается незначительно, хотя амплитуда М-ответа прогрессивно уменьшается по мере того, как одно за другим полностью поражаются волокна [3, 4, 9, 10]. При демиелинизирующей невропатии СПИ снижается в гораздо большей степени – до 60 % от нормы. В исследованных группах больных со стенозами позвоночного канала регистрировалось снижение СПИ от 12 до 30 % от нормы (табл. 3).

Таблица 1

Неврологические нарушения, выявленные при стенозе позвоночного канала

Симптом	Поясничный стеноз (n = 64)
Люмбагия, люмбоишиалгия	64 (100 %)
Нарушения чувствительности в нижней конечности (гипестезии, парестезии)	45 (70,8 %)
Нарушение чувствительности в аногенитальной зоне	3 (4,2 %)
Парезы мышц нижней конечности	18 (45,8 %)
Гипотрофия мышц нижней конечности	48 (75 %)
Крампи-судороги в мышцах нижней конечности	5 (8,3 %)
Тазовые нарушения	3 (4,2 %)
Синдром КГХ	11 (16,7 %)
Симптом натяжения (Ласега, Нери)	32 (50 %)

Таблица 2

Размеры позвоночного канала у больных со стенозами

Позвоночно-двигательный сегмент	Сагиттальный размер (мм) (n = 48)	Фронтальный размер (мм) (n = 48)
LIII–LIV	12,6	20,4
LIV–LV	12,1	22,5
LV–SI	13,1	22,8

Таблица 3

Электронейромиографические показатели в группах больных со стенозами позвоночного канала

ЭНМГ-показатель	Больная конечность	Интактная конечность	Ср. норма
СПИ (м/с)	$35,9 \pm 4,6$	$35,5 \pm 4,2$	$43 \pm 1,4$
Порог возбудимости (мА)	$27,9 \pm 4,7$	$30,8 \pm 3,9$	$16 \pm 2,4$

Из данных таблицы видно, что скорость распространения возбуждения по участкам седалищного нерва снижена от 18 до 20 %. Возбудимость нервных волокон, как прямая, так и рефлекторная, достоверно ниже нормы, причем абсолютные показатели возбудимости повышены на обеих конечностях.

Применение метода моносинаптического тестирования (определение параметров Н-рефлекса) в клинике позволяет как выявить субклинические формы органических выпадений на уровне сегментарно-периферического аппарата, так и оценить изменения нисходящих влияний при различных формах патологии нервной системы [11].

Параметры моносинаптического Н-рефлекса и центрального F-ответа являются отражением сбалансированного взаимодействия нисходящих супраспинальных и восходящих афферентных влияний на сегментарные процессы [11, 12].

Учитывая тот факт, что в механизме формирования диско-радикулярного конфликта большое значение имеет состояние кровотока в венах эпидурального сплетения, ведущим фактором формирования компримирующей структуры является развитие стаза в венах на уровне поражения [1, 15]. При этом часто обнаруживаются отек корешка и застойные явления в сопровождающих венах, что вызывает туннельные невропатии корешкового нерва. При ЭНМГ-исследовании это проявляется признаками сегментарной демиелинизации (миелинопатии) в случае рефлекторных синдромов или миелино-аксонопатии, более характерной для компрессионных синдромов. Более глубокая ишемизация корешка с формированием поражения осевого цилиндра происходит при блокаде сосудистых коллатералей в условиях нарушенных диско-радикулярных соотношений [17].

Полученные ЭНМГ-данные объективно отражали степень неврологического дефицита при компрессионных синдромах корешков спинного мозга. Демиелинизация сопровождается сегментарными расстройствами, выражающимися в дефиците супраспинальных и супрасегментарных влияний, которые проявлялись как следствие ишемизации проводящих путей спинного мозга при стенозах [16]. Как результат этого процесса происходит замедление Н- и F-ответов. По нашим данным, у 56 % больных с икроножных мышц обеих конечностей регистрировался низкоамплитудный рефлекторный ответ (Н-рефлекс); у 12 % больных Н-рефлекс регистрировался только с одной стороны и у 12 % регистрировался низкоамплитудный следовой потенциал (F-волна).

Снижение амплитуды Н-рефлексов и F-ответов или их выпадение, вероятно, связано с отеком корешка без его локальной демиелинизации. Умеренно выраженным изменениям при патологии проксимального участка нерва, по нашим данным, соответствует увеличение латентного периода Н-рефлекса и F-ответа, а также расширение диапазона скорости распространения возбуждения, что является признаком локальной демиелинизации корешка при отсутствии периферической аксонопатии. Выраженные нарушения соответствуют выраженной диссоциации CPV по проксимальному отрезку и признакам аксо-

нальной невропатии дистального отрезка нейромоторного аппарата [16].

Таким образом, изменения таких электромиографических показателей, как СПИ и возбудимость, соответствующие проявлениям стеноза позвоночного канала поясничного отдела позвоночника, обусловлены наличием компрессии корешков и их сосудов как на больной, так и на интактной конечности с развитием их ишемии. Скорость распространения возбуждения значительно снижается при демиелинизирующих процессах, вызванных стенозом позвоночного канала.

ЭНМГ-исследования у 64 больных с компрессионными синдромами включали регистрацию и анализ как вызванной, так и произвольной мышечной активности. Биоэлектрическая активность *m. gastrocnemius* и *m. tibialis anterior* регистрировалась в покое и при произвольном напряжении при помощи накожных электродов, расположенных над двигательными точками мышц, отражая особенности функционирования мышц голени (зона иннервации седалищного нерва) у пациентов со стенозами.

Оценивались средняя и максимальная амплитуда биоэлектрической активности и частота импульсации мышц сгибателей и разгибателей голени при произвольных максимальных сокращениях одновременно для обеих конечностей.

Известно, что у здорового человека каждый импульс, возникающий в мотонейроне, активирует практически все мышечные волокна двигательной единицы (ДЕ) и вызывает в них потенциалы действия. Соответственно, импульсация достигает мышцы без какой-либо трансформации, и электрическая активность мышцы (ее амплитуда и частота) зависит от количества импульсирующих мотонейронов пула и частоты их импульсации [4]. Потенциалы, возникающие в мышце, можно рассматривать как точное отражение активности мотонейронного пула. Иная картина наблюдается у людей, страдающих заболеваниями позвоночника, в частности – стенозами позвоночного канала.

При регистрации и анализе потенциалов действия, возникающих в скелетных мышцах, у больных со стенозами наблюдается исходное снижение количества активных двигательных единиц и частоты их импульсации, нарушается распределение потенциалов во времени, т. е. изменяется структура ЭМГ. Происходит урежение частоты следования осцилляций, группировка разрядов в залпы. Данные изменения были более выражены на стороне болевого синдрома, хотя и наблюдались с обеих сторон [7, 8, 13, 14]. Анализ результатов исследований позволил выделить два типа функциональных изменений, соответственно которым среди пациентов были выделены две группы. В первой группе средняя амплитуда биоэлектрической активности мышц больной конечности была достоверно выше, чем интактной. После нагрузочного теста средняя амплитуда ЭМГ-активности снизилась для больной конечности и незначительно возросла для интактной (от 12 до 24 %). Во второй группе амплитуда биоэлектрической активности мышц больной конечности была

Таблица 4

Амплитуда биоэлектрической активности икроножной и передней большеберцовой мышц голени у 64 больных со стенозами в покое и после нагрузки

Группа	Мышца	В покое		После маршевой пробы	
		Больная конечность	Здоровая конечность	Больная конечность	Здоровая конечность
1	Икроножная	593 ± 23,3	394 ± 24,2	529 ± 28,2	404 ± 20,0
	Передняя большеберцовая	890 ± 21,6	117 ± 31,7	839 ± 26,6	815 ± 19,6
2	Икроножная	291 ± 27,8	676 ± 23,7	505 ± 19,7	695 ± 21,0
	Передняя большеберцовая	1001 ± 22,0	1305 ± 17,7	1080 ± 15,5	1238 ± 17,7

изначально достоверно снижена, после нагрузки она повысилась от 52 до 70 % (табл. 4).

С целью уточнения выраженности патологических изменений проводилось изучение изменений электрофизиологических характеристик у 15 пациентов со стенозом позвоночного канала в состоянии покоя и после физической нагрузки (маршевая проба). Больным предлагалась ходьба по лестнице (3 пролёта) в течение 10 минут. До и после пробы пациентам проводилось неврологическое исследование и электронейромиография. У всех 64 пациентов отмечено усиление болевого синдрома: у 9 человек (60 % обследуемых) – выявлено ослабление сухожильных рефлексов с одной или двух конечностей, у 13 человек (86,7 %) – усиление выраженности симптомов натяжения, а у 6 человек (40 %) – нарастание пареза.

Данные таблицы свидетельствуют о наличии неблагоприятных признаков в организации биоэлектрической активности мышц у больных со стенозами позвоночного канала как в состоянии покоя, так и после нагрузки, причем данное состояние усугублялось после физической нагрузки.

Снижение биоэлектрической активности мышц после маршевой пробы у больных 1-й группы связано, очевидно, с замедлением, а также с частичной или полной блокадой проведения возбуждения в разных структурных элементах двигательных единиц. В первую группу вошли пациенты с центральным стенозом позвоночного канала. Средний возраст пациентов в данной группе составил 60 лет, длительность заболевания – 3,5–4 года [13].

Повышение биоэлектрической активности произвольного напряжения мышц после нагрузки у больных 2-й группы происходит, по-видимому, за счет усиления эфферентной симпатической активности. Данные изменения, возникающие при поражении периферических нервов, приводят к повышению возбудимости и реактивности нейронов дорзальных рогов спинного мозга (феномен деафферентационной гиперчувствительности) и, соответственно, к растормаживанию нейронов и усилению передачи сигналов к нервно-мышечным синапсам и группе мышечных волокон [2, 5]. Во вторую группу вошли больные с сочетанием центрального стеноза и грыж межпозвонковых дисков. Средний возраст пациентов во второй группе – 46 лет, длительность заболевания – 1,5–2 года.

Клинические проявления у пациентов данных групп отличались. В первой группе ведущим кли-

ническим синдромом является синдром каудальной перемежающейся хромоты – 62 %, во второй группе этот синдром выявлен только у 16 %. Синдром люмбаго был отмечен в обеих группах, в первой он был двусторонним, во второй – односторонним.

У пациентов второй группы ведущими являются компрессионные корешковые нарушения. Болевой синдром проявился в равной мере в обеих группах.

При анализе показателей возбудимости и проводимости у больных с компрессионными синдромами после нагрузки (маршевая проба) было отмечено достоверное повышение пороговых значений М-ответа при стимуляции седалищного нерва больной конечности. Проводимость моторных волокон незначительно повышалась (для большеберцовой ветви седалищного нерва) или практически не изменялась (для малоберцовой ветви). Стимуляционные пробы вызывали снижение амплитуды Н-рефлекса, что объясняется более выраженным проявлением тормозящих нисходящих влияний вследствие дефицита возбуждающих.

Полученные изменения могут свидетельствовать о том, что при физической нагрузке происходит компрессия корешков и сосудов рубцовой тканью с развитием их ишемии [10], что подтверждается объективными данными, полученными при неврологическом и электронейромиографическом исследованиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Суммируя данные ЭНМГ-исследований, можно заключить, что у больных со стенозами позвоночного канала:

- прямая и рефлекторная возбудимость периферических нервов снижена как на больной, так и на интактной конечности, что отразилось в повышении порога прямой возбудимости и снижении амплитуды М-ответа;
- скорость распространения возбуждения по участкам седалищного нерва снижена на 18–20 %, что характерно для поражений корешков спинного мозга и спинальных мотонейронов;
- снижение амплитуды Н-рефлекса, уменьшение кривой рекрутирования выявляет поражение быстропроводящих чувствительных 1а волокон, реализующих рефлекторный ответ;
- уровень снижения соотношения Н/М указывает на степень выключения данных волокон из рефлекторной дуги, что коррелирует со степенью снижения ахиллова рефлекса;

- повышение порога Н-рефлекса относительно порога возникновения М-ответа дают представление о функциональном торможении мотонейронов вследствие рефлекторных нарушений (болевого синдрома);

- парадоксальное повышение амплитуды вызванного потенциала и снижение порога возбудимости, регистрируемое у части пациентов, связано с умеренными и обратимыми изменениями функционального состояния.

Клиническим проявлениям стеноза позвоночного канала соответствует выраженное снижение электронейромиографических параметров, что дает представление о функциональном торможении мотонейронов вследствие рефлекторных нарушений. Полученные данные позволяют клиницистам разработать адекватную, патогенетически обоснованную схему лечения больных со стенозами позвоночного канала.

Стеноз позвоночного канала поясничного отдела позвоночника играет значительную роль в генезе болевого синдрома при пояснично-крестцовых радикулитах. Клинические проявления его представлены болевым синдромом, нейродистрофическими и вегетососудистыми расстройствами, которые часто субкомпенсированы, но отрицательно влияют на качество жизни больного.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Афонин Д.Н., Афонин П.Н. Допплерографическое исследование кровотока в сегментарных артериях при стенозе позвоночного канала // Вестник новых медицинских технологий. – 2001. – № 4. – С. 75–77.

Afonin D.N., Afonin P.N. Dopplerographic blood flow test in segmental arteries at spinal stenosis // Vestnik novyh medicinskih tehnologij. – 2001. – N 4. – P. 75–77. (in Russian)

2. Бадалян Л.О., Скворцов И.А. Клиническая электронейромиография: Руководство для врачей. – М.: Медицина, 1986. – 365 с.

Badalyan L.O., Skvortsov I.A. Clinical electroneuromyography: Manual for physicians. – Moscow: Medicina, 1986. – 365 p. (in Russian)

3. Байкушев С., Манович З.Х., Новикова В.П. Стимуляционная электромиография и электронейрография в клинике нервных болезней. – М.: Медицина, 1974. – 144 с.

Baikushev S., Manovich Z.Kh., Novikova V.P. Stimulation electromyography and electroneurography in nervous diseases clinics. – Moscow: Medicina, 1976. – 144 p. (in Russian)

4. Боев В.А., Полищук А.В. Методы диагностики вертеброгенных нейрокомпрессионных поражений (обзор литературы) // Украинский нейрохирургический журнал. – 2003. – № 4. – С. 16–22.

Boer V.A., Polishchuk A.V. Methods of diagnostics of vertebrogenic neurocompression injuries (literature review) // Ukrainskij neirohirurgicheskij zhurnal. – 2003. – N 4. – P. 16–22. (in Russian)

5. Болгов М.А., Зенков Л.Р., Яхно Н.Н. Соматосенсорные вызванные потенциалы при болевых

вертеброгенных синдромах пояснично-крестцовой локализации // Неврологический журнал. – 2000. – № 3. – С. 24–28.

Bolgov M.A., Zenkov L.R., Yakhno N.N. Somatosensory evoked potentials at pain vertebrogenic syndrome of lumbosacral localization // Nevrologicheskij zhurnal. – 2000. – N 3. – P. 24–28. (in Russian)

6. Верхозина Т.К., Сороковиков В.А., Скляренко О.В., Ипполитова Е.Г. Диагностика и рефлексотерапия болевых синдромов при остеохондрозе поясничного отдела позвоночника. – Иркутск: НЦРБХ СО РАМН, 2011. – 139 с.

Verkhovina T.K., Sorokovikov V.A., Sklyarenko O.V., Ippolitova E.G. Diagnostics and reflexotherapy of pain syndromes at lumbar osteochondrosis. – Irkutsk: SCRRS SB RAMS, 2011. – 139 p. (in Russian)

7. Ипполитова Е.Г., Кошкарева З.В., Скляренко О.В., Горбунов А.В. Особенности клиники и диагностики у больных с послеоперационным рубцово-спаечным эпидуритом и стенозами позвоночного канала // Сибирский медицинский журнал (г. Иркутск). – 2009. – № 6. – С. 102–105.

Ippolitova E.G., Koshkareva Z.V., Sklyarenko O.V., Gorbunov A.V. Peculiarities of clinic and diagnostics in patients with postoperative cicatricial-commissural epiduritis and spinal stenosis // Sibirskij medicinskij zhurnal (Irkutsk). – 2009. – N 6. – P. 102–105. (in Russian)

8. Ипполитова Е.Г., Скляренко О.В. Использование ЭНМГ-показателей для выбора тактики лечения больных с послеоперационным рубцово-спаечным эпидуритом // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2008. – № 4. – С. 20–22.

Ippolitova E.G., Sklyarenko O.V. Using electroneuromyographic indices in choosing tactics of treatment of patients with postoperative cicatricial-commissural epiduritis // Bulleten' VSNC SO RAMN. – 2008. – N 4. – P. 20–22. (in Russian)

9. Касаткина Л.Ф., Гехт Б.М. Значение электромиографии в оценке состояния двигательных единиц скелетных мышц человека при поражении периферического нейромоторного аппарата // Журнал невропатологии и психиатрии. – 1988. – № 4. – С. 39–34.

Kasatkina L.F., Gecht B.M. Significance of electromyography in the estimation of the state of motor units of skeletal muscles of a human at the injury of peripheral neuromotor apparatus // Zhurnal nevropatologii i psichiatrii. – 1988. – N 4. – P. 39–34. (in Russian)

10. Коуэн Х., Брумлик Дж. Руководство по электромиографии и электродиагностике: пер. с англ. – М.: Медицина, 1975. – 192 с.

Kowen H., Brumlick J. Manual on the electromyography and electrodiagnostics. – Moscow: Medicina, 1975. – 192 p. (in Russian)

11. Николаев С.Г. Практикум по клинической электромиографии. – Иваново: ИГМА, 2003. – 264 с.

Nikolaev S.G. Practical course on clinical electromyography. – Ivanovo, 2003. – 264 p. (in Russian)

12. Санадзе А.Г., Касаткина Л.Ф. Клиническая электромиография. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 63 с.

Sanadze A.G., Kasatkina L.F. Clinical electromyography. – Moscow: GEOTAR-Media, 2007. – 63 p.

13. Складенко О.В., Сороковиков В.А., Кошкарёва З.В., Ипполитова Е.Г. Игло-рефлексотерапия в комплексном лечении больных с послеоперационным рубцово-спаечным эпидуритом в поясничном отделе позвоночника // Сибирский медицинский журнал (г. Иркутск). – 2009. – Т. 88, № 5. – С. 44–47.

Sklyarenko O.V., Sorokovikov V.A., Koshkareva Z.V., Ippolitova E.G. Acupuncture in complex treatment of patients with postoperative cicatricial-commissural epiduritis in lumbar spine // Sibirskij medicinskij zhurnal (Irkutsk). – 2009. – Vol. 88, N 5. – P. 44–47. (in Russian)

14. Цысляк Е.С., Ипполитова Е.Г., Сороковиков В.А., Горбунов А.В., Кошкарёва З.В., Брюханов В.Г. ЭМГ-критерии выраженности патологических изменений у больных со стенозами позвоночного канала // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – № 5. – С. 143–145.

Tsyslyak E.S., Ippolitova E.G., Sorokovikov V.A., Gorbunov A.V., Koshkareva Z.V., Bryukhanov V.G. EMG-criteria of intensity of pathological changes in patients with spinal stenosis // Bjul. VSNC SO RAMN. – 2010. – N 5. – P. 143–145. (in Russian)

15. Cinotti G., De Santis P., Nofroni I., Postacchini F. Stenosis of lumbar intervertebral foramen: anatomic study on predisposing factors // Spine. – 2002. – Vol. 1, N 27 (3). – P. 223–229.

16. Inui Y., Doita M., Ouchi K., Tsukuda M. et al. Clinical and radiologic features of lumbar spinal stenosis and disc herniation with neuropathic bladder // Spine. – 2004. – Vol. 14, N 29 (8). – P. 869–873.

17. Jane J.A. Jr., Di Pierro C.G., Helm G.A., Shaffrey C.I. et al. Acquired lumbar stenosis: topic review and a case series // Neurosurg. Focus. – 1997. – Vol. 15, N 3 (2). – P. e6.

Сведения об авторах

Ипполитова Елена Геннадьевна – научный сотрудник Иркутского научного центра хирургии и травматологии (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1; тел.: 8 (3952) 29-03-81; e-mail: elenaippolitova@mail.ru)

Верхозина Татьяна Константиновна – кандидат медицинских наук, заведующая отделением функциональных методов диагностики и лечения Иркутского научного центра хирургии и травматологии, доцент кафедры рефлексотерапии и косметологии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования

Кошкарёва Зинаида Васильевна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник Иркутского научного центра хирургии и травматологии

Сороковиков Владимир Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора Иркутского научного центра хирургии и травматологии по научной работе, заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и нейрохирургии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования

Арсентьева Наталия Ивановна – кандидат биологических наук, доцент, ученый секретарь Иркутского научного центра хирургии и травматологии

Information about the authors

Ippolitova Elena Gennadjevna – Research Officer of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology (664003, Irkutsk, ul. Bortsov Revolutsii, 1; tel.: +7 (3952) 29-03-81; e-mail: elenaippolitova@mail.ru)

Verkhovina Tatiana Konstantinovna – Candidate of Medical Sciences, Head of the Unit of Functional Methods of Diagnostics and Treatment of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Assistant Professor of the Department of Reflexotherapy and Cosmetology of Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education

Koshkareva Zinaida Vasilyevna – Candidate of Medical Sciences, Leading Research Officer of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology

Sorokovikov Vladimir Alekseyevich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Deputy Director of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology for Science, Head of the Department of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery of Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education

Arsentyeva Natalia Ivanovna – Candidate of Biological Sciences, Docent, Academic Secretary of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology

И.А. Кирилова

ОЦЕНКА УРОВНЯ ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ ДЕТЕЙ ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА
Г. ИРКУТСКА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИНДЕКСОВ

Иркутский государственный университет (Иркутск)

Обследованы дети дошкольного возраста города Иркутска. С помощью центильного метода обследуемые поделены на три группы физического развития (ФР): 1-я группа – дети с гармоничным ФР, 2-я группа – дети с дисгармоничным ФР за счет дефицита массы тела, 3-я группа – дети с дисгармоничным ФР за счет избытка массы тела. Результаты исследования выявили ухудшение ФР, что выражается в увеличении массы тела детей 3–6 лет. Проведена оценка ФР с помощью метода индексов, которая показала несоответствие расчетов данным методом с группами гармоничности ФР дошкольников.

Ключевые слова: гармоничность физического развития, дошкольники, метод индексов

PHYSICAL DEVELOPMENT INDEX METHOD ASSESSMENT OF IRKUTSK PRESCHOOL
AGE CHILDREN

I.A. Kirilova

Irkutsk State University, Irkutsk

189 preschool age children (3–6 y.o.) of Irkutsk have been surveyed. By means of a centile method all the surveyed children have been divided into three groups according to their physical development (PD): the 1st group – children with harmonious PD, the 2nd group – children with disharmonious PD due to body weight deficiency, the 3rd group – children with disharmonious PD due to body weight surplus. Results of research revealed PD deterioration, which was expressed in body weight increase in children of 3–6 years of age. Index method PD assessment showed that calculations received with this method do not correspond with groups of harmony of preschool children physical development.

Key words: harmony of physical development, preschool children, index method

ВВЕДЕНИЕ

Физическое развитие (ФР) растущего организма является основным показателем состояния здоровья ребенка. Чем значительнее отклонения в физическом развитии, тем выше вероятность возникновения заболеваний [7]. Простота, доступность методов изучения ФР и высокая информативность полученных данных придают показателям ФР значение объективного критерия благополучия детского населения и находят свое место при характеристике региональной эколого-гигиенической ситуации [9]. Составление стандартов физического развития детей и их периодическое обновление, могут быть примерами экологического мониторинга, который заключается в наблюдении за изменениями процессов жизнедеятельности людей в связи с воздействием на них внешних факторов [4, 11, 12].

Для характеристики ФР информативными являются три основных антропометрических показателя: масса тела, длина тела, окружность грудной клетки [9, 10].

В последнее время для оценки ФР детей используют метод индексов, хотя, как правило, его применяют в виде дополнительной методики [6]. Индексы представляют собой соотношения отдельных антропометрических признаков, выраженных в математических формулах. Разные индексы включают различное число признаков. Наиболее простые индексы включают два признака: весо-ростовые и грудно-ростовые показатели. К весо-ростовым относятся индекс массы тела (ИМТ) и индекс Рорера [1]. К грудно-весовым – индекс Пинье, Бругша и Вервека [1, 2, 3, 6, 8].

Цель исследования: сравнительный анализ оценки физического развития детей дошкольного

возраста 3–6 лет при использовании метода индексов и центильных таблиц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 189 детей в возрасте от 3 до 6 лет, посещающих ДООУ № 148 «Ручеек» г. Иркутска. Получение информационного согласия родителей на участие в проводимом исследовании было обязательной процедурой при включении детей в одну из групп.

У дошкольников были измерены основные антропометрические показатели: масса тела (кг), длина тела (см), окружность грудной клетки (см). Оценку гармоничности физического развития детей проводили с использованием «Межрегиональных нормативов для оценки длины и массы тела детей от 0 до 14 лет» [4]. В зависимости от соотношения длины и массы тела дети поделены на три группы: **1-я группа** состояла из 153 детей с гармоничным ФР, **2-я группа** – 10 детей с дисгармоничным ФР за счет дефицита массы тела, **3-я группа** – 26 детей с дисгармоничным ФР за счет избытка массы тела.

Далее по группам гармоничности рассчитывали уровень физического развития дошкольников с помощью расчетных индексов, учитывающих массу тела (МТ, кг), длину тела (ДТ, см), окружности грудной клетки (ОГК, см) ребенка. Для оценки ФР детей использовали индекс Кетле или массы тела (ИМТ) = $MТ/ДТ^2$ (кг/м²) [1, 2, 8]; индекс Пинье = $ДТ - (МТ + ОГК)$ (ед.) [1, 6, 8]; индекс Рорера = $МТ/ДТ^3$ (кг/м³) [1, 2, 8]; индекс Бругша = $ОГК \times 100/ДТ$ (%) [1, 8]; индекс Вервека = $ДТ/2МТ + ОГК$ (ед.) [2, 3].

Для статистического анализа использовали программу Statistica 6.1 Statsoft (США). Применяли

различные методы параметрической статистики (вычисление М-взвешенной средней арифметической, средней ошибки (m), средне-квадратичного отклонения (σ), достоверности различий средних величин по t-критерию Стьюдента и F-критерию Фишера).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Распределение дошкольников по группам с различным уровнем ФР (соответствию длины и массы тела согласно межрегиональным нормативам) приведены в таблице 1. Результаты проведенных исследований выявили, что наибольшее количество детей относилось к группе с гармоничным ФР (1-я группа) (81 %). Отклонения морфометрических показателей от нормы обнаружены у 19 % детей. Причем, среди детей с дисгармоничным ФР чаще встречались дошкольники с избыточной массой тела (14 %) (3-я группа) по отношению к показателям 2-й группы – с дефицитом массы тела (5 %). Сравнительный анализ характеристик физического развития детей, обследованных центильным методом, показал, что масса тела дошкольников с гармоничным ФР ($18,80 \pm 2,98$ кг) достоверно значимо выше массы тела детей с дисгармоничным развитием обусловленным ее дефицитом ($16,11 \pm 3,65$ кг) в среднем на 2,69 кг. По таким показателям, как длина тела и окружность грудной клетки достоверных различий в характеристиках сравниваемых групп не выявлено.

Дети с избыточной массой тела ($23,46 \pm 3,87$ кг) с высокой степенью достоверности ($p < 0,000$) по данному показателю превышали характеристики дошкольников с гармоничным ФР ($18,02 \pm 2,98$ кг). Кроме того, они имели достоверно значимо большие значения окружности грудной клетки ($60,81 \pm 4,28$ см), чем дети 1-й группы ($55,94 \pm 2,81$ см).

Характеристика физического развития дошкольников, выявленная с помощью расчетных росто-весовых индексов, представлена в таблице 2.

Оценка ФР дошкольников 3–6 лет с помощью индекса Кетле (ИМТ) показала достоверные отличия среди детей с различным уровнем гармоничности ФР

($p < 0,05$). Наибольшее отклонение от рекомендуемых значений для исследуемого возраста отмечено у детей 3-й группы с избыточной массой тела.

Расчет индекса Пинье у дошкольников выявил достоверное отличие между детьми с гармоничным ФР ($37,04 \pm 10,73$ ед.) и с более высокими значениями массы тела ($28,77 \pm 3,50$ ед.) ($p < 0,000$). Индекс характеризует тип телосложения и чем меньше его показатель, тем крепче телосложение ребенка. Для индекса Пинье рекомендуемыми являются значения от 10 до 25 единиц. Уровень индекса Пинье обследованных дошкольников г. Иркутска во всех исследованных группах свидетельствовал о слабом и очень слабом типе их телосложения.

Индекс Рорера является групповым показателем долихо- и брахиморфии, причем природу этих особенностей экологии объясняют адаптацией к географоклиматическим условиям проживания различных популяций. Значения индекса Рорера детей, которые по центильным таблицам характеризуются, как гармоничные и дисгармоничные за счет дефицита массы тела, составили $14,01 \pm 1,33$ и $12,05 \pm 1,36$ кг/м³, соответственно, что отвечает рекомендуемым характеристикам ($10,7$ – $13,7$ кг/м³) (таблица 2). Тогда как значения этого индекса у детей с дисгармоничным ФР за счет избыточной массы тела ($16,18 \pm 1,11$ кг/м³) их превышали. Все различия характеристик индексов в сравниваемых группах имеют высокую степень достоверности ($p < 0,000$).

Значения индекса Бругша у дошкольников с гармоничным ФР составили $50,95 \pm 2,61$ %, с дисгармоничным ФР за счет дефицита массы тела – $50,08 \pm 3,50$ %, с дисгармоничным ФР за счет избыточной массы тела – $53,84 \pm 2,48$ %. Выявленные характеристики индекса Бругша свидетельствовали об узкогрудости всех дошкольников, что не противоречило в определении типа их телосложения согласно уровню индекса Пинье как слабого и очень слабого.

Согласно значениям индекса Вервека выделяют три типа телосложения: мезоморфный – средний

Таблица 1
Характеристики показателей групп физического развития дошкольников 3–6 лет ($X \pm \sigma$)

Показатели	1-я группа ($n = 153$)	2-я группа ($n = 10$)	3-я группа ($n = 26$)
Масса тела, кг	$18,80 \pm 2,98$	$16,11 \pm 3,65^*$	$23,46 \pm 3,87^*$
Длина тела, см	$110,31 \pm 8,07$	$110,05 \pm 11,53$	$113,04 \pm 7,56$
Окружность грудной клетки, см	$55,94 \pm 2,81$	$54,80 \pm 3,16$	$60,81 \pm 4,28^{*;\#}$

Примечание. * – коэффициент Стьюдента ($p \leq 0,05$); # – коэффициент Фишера ($p \leq 0,05$) по отношению к 1-й группе.

Таблица 2
Росто-весовые индексы дошкольников 3–6 лет с различным уровнем гармоничности физического развития ($X \pm \sigma$)

Индексы	1-я группа ($n = 153$)	2-я группа ($n = 10$)	3-я группа ($n = 26$)	Рекомендованные значения индексов
Кетле, кг/м ²	$15,37 \pm 0,88$	$13,14 \pm 0,61^*$	$18,24 \pm 0,97^*$	$14,34$ – $15,72$ [1, 2, 8]
Пинье, ед.	$37,04 \pm 10,73$	$39,14 \pm 5,79$	$28,77 \pm 3,50^{*;\#}$	10 – 25 [1, 5, 8]
Рорера, кг/м ³	$14,01 \pm 1,33$	$12,05 \pm 1,36^*$	$16,18 \pm 1,11^*$	$10,7$ – $13,7$ [1, 2, 8]
Бругша, %	$50,95 \pm 2,61$	$50,08 \pm 3,50$	$53,84 \pm 2,48$	63 – 52 [1, 8]
Вервека, ед.	$1,18 \pm 0,05$	$1,27 \pm 0,04^*$	$1,05 \pm 0,05^*$	$1,25$ – $0,85$ [2, 3]

Примечание. * – коэффициент Стьюдента ($p \leq 0,05$); # – коэффициент Фишера ($p \leq 0,05$) по отношению к 1-й группе.

вариант размеров тела, брахиморфный – широкое туловище и короткие конечности; долихоморфный – узкое туловище и длинные конечности [2, 3]. Результаты анализа индекса Вервека показали, что соматотип детей 1-й группы ($1,18 \pm 0,05$ ед.) и 3-й группы ($1,05 \pm 0,05$ ед.) можно отнести к мезоморфному типу ($1,25-0,85$), тогда как дошкольники 2-й группы с дефицитом массы тела ($1,27 \pm 0,04$ ед.) характеризовались умеренной долихоморфией ($1,35-1,25$). Детей с умеренной брахиморфией ($0,85-0,75$) и выраженной брахиморфией ($< 0,75$) в исследовании не выявлено.

Таким образом, расчет различных росто-весовых индексов для обследованных дошкольников 3–6 лет г. Иркутска с учетом предварительной оценки гармоничности их физического развития показал, что такие индексы как Кетле, Рорера и Вервека у обследованных дошкольников соответствовали группам гармоничности ФР, которые были определены с помощью метода центильных таблиц. Однако значения индекса Пинье и Бругша всех дошкольников отличались от характеристик, предложенные различными авторами в качестве нормативных [1, 5, 8] и свидетельствовали о слабом телосложении обследованных детей, включая группу с избыточной массой тела. Такое несоответствие возможно связано с тем, что морфометрические характеристики детской популяции в период длительного времени претерпевают значительных изменений и требуют периодической корректировки их оценки.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Башкиров П.Н. Учение о физическом развитии человека. – М.: Изд-во Московского ун-та. – 1962. – 339 с.
Bashkirov P.N. The doctrine about physical development of the person. – Moscow: Moscow University Publishing, 1962. – 339 p.
2. Бусел Л.А., Циркин В.И. Индексы физического развития детей 3–7 лет как критерии оценки влияния факторов окружающей среды // Современные наукоемкие технологии. – 2006. – № 4. – С. 39.
Bussel L.A., Tsirkin V.I. Indexes of physical development of children of 3–7 years as criteria of an assessment of influence of factors of environment // Sovremenniyе naukojomiye tekhnologii. – 2006. – N 4. – P. 39.
3. Клименко Е.А. Методика оценки физического развития детей и подростков // Материалы по дополнительному экологическому образованию учащихся (сборник статей). Вып. IV / под ред. М.Н. Симоновой, С.К. Алексеева. – Калуга: Изд-во КГУ им. К.Э. Циолковского, 2008. – С. 208–228.
Klimenko E.A. Assessment of physical development of children and teenagers / Materialy po dopolnitel'nomu ekologicheskomu obrazovaniju uchashchikhhsa (sbornik statej). – Issue IV / Ed. M.N. Simonova, S.K. Alekseyev. – Kaluga: K.E. Tsiolkovsky State University, 2008. – P. 208–228.
4. Крикун Е.Н., Мартыросов Э.Г., Никитюк Д.Б. Антропометрический мониторинг показателей физического развития новорожденных детей // Научные ведомости белгородского государственного университета. – 2008. – № 6. – С. 26–33.
Krikun E.N., Martirosov E.G., Nikityuk D.B. Anthropomorphic monitoring of newborn children physical development // Nauchnye vedomosti belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. – 2008. – N 6. – P. 26–33.
5. Межрегиональные нормативы для оценки длины и массы тела детей от 0 до 14 лет. – М.: Министрство здравоохранения СССР, 1990. – 37 с.
Interregional standards for assessment of length and body weight of children from 0 to 14 years. – Moscow: Ministry of Health of the USSR, 1990. – 37 p.
6. Олонцева Г.Н. Комплексная диагностика физического развития ребенка: учебное пособие. – Иркутск: Изд-во Иркут. гос. пед. ун-та, 2007. – 152 с.
Olontseva G.N. Complex diagnostics of child physical development: manual. – Irkutsk: Irkutsk State. Teachers Training University, 2007. – 152 p.
7. Оценка физического развития и состояния здоровья детей и подростков. – М.: ТЦ Сфера, 2005. – 64 с.
Assessment of physical development and state of health of children and teenagers. – Moscow: TC Sfera, 2005. – 64 p.
8. Региональные показатели физического развития детей и подростков Иркутской области: Методические рекомендации. – 2004. – 44 с.
Regional indicators of physical development of children and teenagers of the Irkutsk region: Methodical recommendations. – 2004. – 44 p.
9. Савватеева В.Г., Кузьмина Л.А., Шаров С.В. и др. Физическое развитие детей раннего возраста г. Иркутска // Сибирский медицинский журнал. – 2003. – Т. 40, № 5. – С. 71–77.
Savvateeva V.G., Kuzmin L.A., Sharov S.V. Physical development of early age children of Irkutsk // Sibirskiy medicinskiy zhurnal. – 2003. – Vol. 40, N 5. – P. 71–77.
10. Трушкина Л.Ю., Трушкин А.Г., Демьянова Л.М. Гигиена и экология человека. – 2006.
Trushkina L.Yu., Trushkin A.G., Demyanova L.M. Human hygiene and ecology. – 2006.
11. Ямпольская Ю.А. Популяционный мониторинг физического развития детского населения // Гигиена и санитария. – 1996. – № 1. – С. 24–26.
Yampolskaya Yu.A. Population monitoring of physical development of children population // Gigiena i sanitariya. – 1996. – N 1. – P. 24–26.
12. Ямпольская Ю.А. Физическое развитие школьников Москвы в последние десятилетия // Российский педиатрический журнал. – 2001. – № 4. – С. 65–68.
Yampolskaya Yu.A. Physical development of Moscow schoolchildren in the last decades // Russkiy pediatrich-eskiy zhurnal. – 2001. – N 4. – P. 65–68.

Информация об авторах

Кирилова Ирина Анатольевна – аспирант кафедры естественнонаучных дисциплин Иркутского государственного университета (664011, г. Иркутск, ул. Нижняя Набережная, 6; e-mail: kirilova-i@mail.ru)

Information about the authors

Kirilova Irina Anatolyevna – Postgraduate of the Department of Natural Sciences of Irkutsk State University (664020, Irkutsk, ul. Nizhnyaya Naberezhnaya, 6; e-mail: kirilova-i@mail.ru)

К.Ю. Николаев ¹, А.К. Овсянникова ¹, Г.И. Лифшиц ², И.В. Москаленко ³

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ЭФФЕКТА СОРБЦИОННОГО КОМПЛЕКСА В РЕАБИЛИТАЦИИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА

¹ Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины СО РАМН (Новосибирск)² Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАМН (Новосибирск)³ Городская клиническая больница № 1 (Новосибирск)

Целью исследования явилось изучение противовоспалительного эффекта минимальных дозировок энтеросорбента, содержащего углерод и алюминия оксид на фоне стандартного лечения пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) после перенесенного инфаркта миокарда. После двухнедельного приема энтеросорбента у больных ХСН ($n = 39$) выявлено снижение уровня С-реактивного белка, улучшение показателей микроциркуляции, что является проявлением уменьшения системного воспаления характерного для ХСН.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность, энтеросорбент, содержащий углерод и алюминия оксид, С-реактивный белок, микроциркуляция

THE USE OF ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF THE SORPTION COMPLEX IN REHABILITATION OF PATIENTS WITH CHRONIC HEART FAILURE AFTER MYOCARDIAL INFARCTION

K.Yu. Nikolaev ¹, A.K. Ovsyannikova ¹, G.I. Lifshits ², I.V. Moskalenko ³¹ Scientific Research Institute of Internal Medicine and Preventive medicine SB RAS, Novosibirsk² Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk³ City Clinical Hospital N 19, Novosibirsk

The aim of the study was to investigate the anti-inflammatory effect of minimum dosages of enterosorbent containing carbon and aluminum oxide on the background of standard treatment for patients with chronic heart failure after myocardial infarction. After two weeks of receiving enterosorbent containing carbon and aluminum oxide in patients with CHF ($n = 39$) showed a reduction in the level of C-reactive protein, as well as marked improvement in microcirculation, which is a manifestation reduce systemic inflammation characteristic of chronic heart failure.

Key words: chronic heart failure, enterosorbent containing carbon and aluminum oxide, C-reactive protein, microcirculation

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что системное воспаление является важным звеном в патогенезе хронической сердечной недостаточности (ХСН). Доказано, что имеющиеся при ХСН гиперпродукция провоспалительных цитокинов (TNF α , IL-6 и IL-1 и др.) и связанные с ней эндотелиальная дисфункция и оксидативный стресс неблагоприятно влияют на клинко-гемодинамические показатели и прогноз жизни больных [5, 7, 8]. Повышение основных показателей системного воспаления прямо связано с прогрессированием ХСН, а уменьшение выраженности воспалительных реакций положительно влияет на состояние сердечно-сосудистой системы. Так, продемонстрировано, что у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца при длительном наблюдении повышение уровней С-реактивного белка (СРБ), лейкоцитов в общем анализе крови прямо связано с развитием ХСН [9], а снижение СРБ сопряжено с улучшением систолической функции левого желудочка у больных ХСН на фоне лечения бета-блокатором карведилолом [11]. Таким образом, уменьшение системного воспалительного процесса при ХСН является перспективным направлением для улучшения прогноза пациентов, страдающих хронической сердечной недостаточностью.

В последние годы проводятся исследования, направленные на изучение возможностей коррекции воспаления при терапевтических заболеваниях с помощью оральных сорбентов [13]. При этом опубликованы единичные сведения об улучшении качества жизни пациентов с ХСН при двухлетнем дополнительном приеме сорбционного комплекса, содержащего углерод на фоне базовой сердечно-сосудистой терапии [12]. Известно, что использование энтеросорбентов в стандартных суточных дозировках может вызывать у пациентов запоры и способствовать снижению приверженности больных к лечению этими препаратами. По нашему мнению, возможным путем минимизации этого нежелательного явления у больных ХСН является снижение суточной дозы энтеросорбента.

Цель исследования: изучение противовоспалительного эффекта минимальных суточных дозировок энтеросорбента, содержащего углерод и алюминия оксид на фоне стандартного лечения пациентов с хронической сердечной недостаточностью после перенесенного инфаркта миокарда.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 39 пациента с хронической сердечной недостаточностью II–III функционального класса

по классификации New York Heart Association (NYHA) после ранее перенесенного инфаркта миокарда (ИМ), возраст обследованных пациентов составил $56,4 \pm 0,7$ года. Q-позитивный инфаркт миокарда перенесли 53 пациента (85,5 %), давность этого заболевания составила 24 месяца (медиана), 9 и 59 месяцев (25%-й и 75%-й процентиля). В исследование включались мужчины и женщины в возрасте не менее 18 и не старше 65 лет с верифицированной хронической сердечно недостаточности II–III функциональных классов по классификации NYHA после перенесенного не менее чем за три месяца до начала исследования инфаркта миокарда.

Критериями исключения из исследования являлись: текущее или прошлое (в течение последних 3 месяцев) свидетельство наличия тяжелой неконтролируемой сопутствующей сердечно-сосудистой или цереброваскулярной патологии, неконтролируемые сердечные аритмии или плохо контролируемая гипертония, обострение хронических заболеваний, онкологические заболевания, наличие в анамнезе непереносимости активированного угля, алюминия оксида, серебра, препаратов из групп ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) или блокаторов рецепторов ангиотензина II, а также невозможность проведения у больного теста 6-минутной ходьбы.

При первичном осмотре пациенты методом конвертов были рандомизированы в две группы (основная и контрольная). Перед скринингом пациенты подписывали информированное согласие на проведение всех процедур, предусмотренных протоколом исследования. Проводился сбор демографической информации. Осуществлялась оценка жалоб пациента и анамнеза болезни и жизни пациента, получаемой лекарственной терапии, физикальное обследование с оценкой состояния органов и систем, показателей жизненно важных функций организма: артериального давления и частоты сердечных сокращений. На основании этого проводилась проверка критериев включения и исключения пациента в исследование. Осуществлялся сбор биологических образцов для лабораторных анализов (кровь на общий анализ и СРБ). Пациентам проводился тест 6-минутной ходьбы и исследование микроциркуляции. Затем пациенты основной группы ($n = 22$) дополнительно к стандартному лечению ХСН (ингибиторы АПФ, блокаторы рецепторов ангиотензина-1, диуретики и т.д.) получали энтеросорбент, содержащий углерод и алюминия оксид. Пациенты из контрольной группы ($n = 17$) получали стандартное лечение ХСН без энтеросорбента. Больные из основной группы принимали энтеросорбент, содержащий углерод и алюминия оксид в суточной дозе $0,2 \text{ г/кг}$ массы тела, в три приема в течение 14 ± 3 дней. Такая дозировка на $0,1 \text{ г/кг}$ меньше минимально рекомендуемой в инструкции по применению энтеросорбента, содержащего углерод и алюминия оксид (торговое название «Энтерумин», ПФК «Обновление», г. Новосибирск). Сравнимые группы не различались по сопутствующей лекарственной терапии. При повторном обследовании больных ХСН через 14 ± 3 дня

после скрининга повторно осуществлялась оценка жалоб пациента, оценивались нежелательные явления со времени первого визита, сопутствующая лекарственная терапия, проводилось динамическое физикальное обследование с оценкой состояния органов и систем, показателей жизненно важных функций организма: артериального давления и частоты сердечных сокращений. Повторно осуществлялся сбор биологических образцов для лабораторных анализов (кровь на общий анализ и С-реактивный белок). Кроме этого, пациентам повторно проводились тест 6-минутной ходьбы и исследование микроциркуляции.

Определение уровня С-реактивного белка в сыворотке крови осуществлялось турбидиметрическим методом. Проводился общий анализ крови с расчетом лейкоцитарной формулы. Тест 6-минутной ходьбы проводился в утренние часы. Пациент легко завтракал за 3–4 часа до проведения теста, не принимал кардиологических препаратов и не курил, по меньшей мере, за 2 часа до теста. Пройденное пациентом расстояние измерялось с точностью до 1 метра.

Оценка микроциркуляции проводилась с помощью окклюзионной пробы методом лазерной доплеровской флуометрии (ЛДФ) на аппарате «ЛАКК-02» (НПО «ЛАЗМА», Россия). При исследовании пациенты находились в положении сидя (предплечье – на уровне сердца) ЛДФ-зонд фиксировался над выбранной точкой наружной поверхности предплечья вблизи лучезапястного сустава. Манжета тонометра фиксировалась на соответствующем плече. Проба проводилась по следующей схеме: 1-я минута – регистрация исходного уровня кровотока, затем, не прерывая записи, 3-минутная окклюзия (в манжете быстро нагнетается и поддерживается давление 220–250 мм рт. ст.), по истечении которой воздух из манжеты быстро выпускался, и в течение последующих 6 минут регистрировалась реакция восстановления кровотока. При интерпретации результатов окклюзионной пробы оцениваются следующие показатели, характеризующие реактивную постокклюзионную гиперемия.

$M_{\text{исх}}$ – среднее значение показателя микроциркуляции в перфузионных единицах (перф. ед.) до окклюзии.

$M_{\text{мин}}$ – показатель микроциркуляции в процессе окклюзии. Этот показатель характеризует уровень «биологического нуля» кровотока в отсутствии артериального притока.

$PM_{\text{макс}}$ – максимальное значение показателя микроциркуляции в процессе развития реактивной постокклюзионной гиперемии.

На основании этих показателей рассчитывался РКК – резерв капиллярного кровотока, являющийся отношением $PM_{\text{макс}}$ к $M_{\text{исх}}$ и выражающийся в процентах. В группе здоровых лиц РКК составляет от 200 % до 300 %. Снижение РКК может наблюдаться:

- при увеличении притока крови в микроциркуляторное русло (в этом случае увеличивается число исходно функционирующих капилляров);

• при явлениях стаза и застоя крови в венах (при данных состояниях также отмечается увеличение числа функционирующих капилляров; кроме того, при возникновении реактивной постокклюзионной гиперемии часть кинетической энергии притекающих эритроцитов неизбежно расходуется на преодоление инертности форменных элементов, находящихся в состоянии стаза). Увеличение РКК наблюдается при наличии спазма приносящих микрососудов (исходно функционирует меньшее число капилляров) [2, 3].

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью пакета программ SPSS 10.05. Определялся характер распределения количественных признаков методом Колмогорова – Смирнова. В случае нормального распределения вычислялось среднее значение (M) и ошибка среднего (m). При сравнении двух нормально распределенных выборок использовался t -тест Стьюдента. При отсутствии нормального распределения вычислялись медиана (Me), 25%-й и 75%-й процентиля (25%; 75%). Связи между признаками оценивались путем вычисления коэффициента корреляции Спирмена (r). При оценке качественных признаков использовался критерий χ^2 . Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимался равным 0,05. Проведение данного исследования одобрено локальным этическим комитетом ГБУЗ НСО «Городская клиническая больница № 19» г. Новосибирска.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В таблице 1 представлено сопоставление сравниваемых групп пациентов по результатам проведенного скрининга.

Больные из сравниваемых групп не различались по возрасту, гендерным характеристикам, давности перенесенного инфаркта миокарда, индексу Кетле, результатам теста 6-минутной ходьбы, показателям общего анализа крови, СРБ и уровню диастолического давления. Обнаружено, что показатели систолического

артериального давления (АД) были выше у пациентов контрольной группы, по сравнению с больными из группы сравнения.

В конце двухнедельного курса лечения в сравниваемых группах проведено сопоставление клинических характеристик в начале и конце исследования (табл. 2).

Выявлено, что у пациентов контрольной группы в конце исследования отмечался меньший, чем на визите скрининга уровень систолического АД. В сравниваемых группах на втором визите возрастали показатели теста 6-минутной ходьбы. В основной группе, в отличие от группы контроля, на фоне приема энтеросорбента, содержащего углерод и алюминия оксид, статистически значимо снижался уровень СРБ по сравнению с исходным состоянием. Нами выявлено, что снижение СРБ прямо ассоциировано с приемом больными ХСН энтеросорбента, содержащего углерод и алюминия оксид ($\chi^2 = 12,67, p < 0,001$). Кроме этого, обнаружено, что в основной группе статистически значимо снизилось количество людей, имеющих показатель РКК более 300 % и менее 200 %. Определено, что ни у одного пациента из основной группы не зафиксировано за время исследования побочного эффекта в виде запора.

ОБСУЖДЕНИЕ

Основная причина активации воспаления у больных ХСН остается в настоящее время неясной. Существуют три гипотезы, объясняющие причины и механизм повышения провоспалительных факторов при ХСН. Самой популярной является гипотеза миокардиальной продукции цитокинов. Экспериментальные исследования показывают, что кардиомиоциты способны продуцировать фактор некроза опухоли альфа (ФНО- α), СРБ, фактор роста, причем уровень цитокинов находится в прямой зависимости от степени напряжения стенки миокарда («диастолического стресса») и тем больше, чем выше уровень конечно-диастолического давления в левом желудочке. Согласно другой гипотезе важнейший

Таблица 1

Клиническая характеристика сравниваемых групп пациентов

Показатели	Основная группа	Контрольная группа	p
Пациенты мужского пола, n (%)	8 (47,1 %)	15 (65,2 %)	$> 0,05$
Возраст (годы)	$58,8 \pm 0,6$	$54,4 \pm 1,5$	$> 0,05$
Давность ИМ (месяцы), Me (25%; 75%)	51 (18; 86)	20 (7; 37)	$> 0,05$
САД (мм рт. ст.)	$120 \pm 2,4$	$132 \pm 3,5$	0,011
ДАД (мм рт. ст.)	$77 \pm 1,6$	$81 \pm 2,0$	$> 0,05$
Результаты теста 6-минутной ходьбы (м)	416 ± 14	402 ± 23	$> 0,05$
Индекс Кетле ($кг/м^2$)	$31,6 \pm 0,8$	$32,8 \pm 1,1$	$> 0,05$
Эритроциты ($\times 10^5$)	$4,7 \pm 0,1$	$4,4 \pm 0,1$	$> 0,05$
Гемоглобин (г/л)	$149 \pm 2,7$	$150 \pm 3,6$	$> 0,05$
Лейкоциты ($\times 10^9$)	$8,2 \pm 0,4$	$7,4 \pm 0,3$	$> 0,05$
СОЭ (мм/час)	$7,7 \pm 1,5$	$9,0 \pm 1,3$	$> 0,05$
СРБ (мг/л)	$6,9 \pm 1,2$	$7,6 \pm 1,1$	$> 0,05$

Сопоставление динамики клинических показателей в сравниваемых группах

Показатели	Основная группа		Контрольная группа	
	начало исследования	конец исследования	начало исследования	конец исследования
САД (мм рт. ст.)	120 ± 2,4	120 ± 3,0	132 ± 3,5	121 ± 2,1*
ДАД (мм рт. ст.)	77 ± 1,6	78 ± 1,6	81 ± 2,0	79 ± 1,2
Результаты теста 6-минутной ходьбы (м)	416 ± 14	454 ± 13**	402 ± 23	444 ± 27**
Индекс Кетле (кг/м ²)	31,6 ± 0,8	31,4 ± 0,9	32,8 ± 1,1	32,6 ± 1,2
Эритроциты (× 10 ⁵)	4,7 ± 0,1	4,6 ± 0,1	4,4 ± 0,1	4,7 ± 0,1
Гемоглобин (г/л)	149 ± 2,7	147 ± 3,4	150 ± 3,6	146 ± 2,6
Лейкоциты (× 10 ⁹)	8,2 ± 0,4	8,8 ± 0,8	7,4 ± 0,3	7,2 ± 0,8
СОЭ (мм/час)	7,7 ± 1,5	10,5 ± 2,6	9,0 ± 1,3	6,7 ± 1,3
СРБ (мг/л)	6,9 ± 1,2	6,0 ± 1,3	7,6 ± 1,1	7,8 ± 1,1
РКК (%)	317 ± 32	316 ± 30	325 ± 26	310 ± 56
РКК < 200 %, n (%)	2 (11,8 %)	0 (0 %)	3 (13,6 %)	5 (22,7 %)
РКК > 300 %, n (%)	8 (47,1 %)	4 (23,5 %)	10 (45,5 %)	7 (31,8 %)

Примечание. * – $p < 0,01$; ** – $p < 0,001$ по сравнению с началом исследования.

источник провоспалительных цитокинов при ХСН – периферические ткани и скелетная мускулатура. Экстрамиокардиальная продукция цитокинов стимулируется тканевой гипоксией и избытком свободных радикалов, возникающим вслед за повреждением миокарда и падением сердечного выброса. Согласно третьей гипотезе, причиной повышения уровня цитокинов у больных ХСН являются бактериальные эндотоксины, проникновение которых в организм осуществляется через поврежденную стенку кишечника. Попадая в кровоток, они, взаимодействуя с CD14 рецептором иммунокомпетентных клеток, запускают синтез ФНО- α и других цитокинов. Эта оригинальная гипотеза имеет немало веских доказательств. Так, например, было показано, что моноциты больных ХСН, как правило, демонстрируют повышенную чувствительность к липополисахаридам, входящими в состав клеточной мембраны бактерий. У больных ХСН концентрация эндотоксина в плазме тем выше, чем более выражен отек кишечной стенки, причем применение диуретиков снижает уровень как эндотоксина, так и ФНО- α . «Кишечное» происхождение эндотоксина у больных ХСН подтверждается тем фактом, что его концентрация в печеночных венах достоверно выше, чем в левом желудочке или легочных венах. Тем не менее, в рамках этой эндотоксиновой гипотезы не укладывается тот факт, что повышение уровня цитокинов отмечается у больных ХСН уже на ранних стадиях заболевания, когда застойные явления на периферии (в кишечнике) еще не так выражены [1]. Известно, что влияние провоспалительных факторов на сосудистую реактивность значительно ухудшает прогноз у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями [6]. Вышеизложенные факты являются предпосылками для использования энтеросорбентов в лечении больных ХСН. Нами обнаружено снижение уровня СРБ у больных ХСН на фоне двухнедельного применения пониженных, по

сравнению с рекомендуемыми, суточных дозировок энтеросорбента, содержащего углерод и алюминия оксид. Вероятно, это обусловлено уменьшением выраженности системного воспаления, характерного для ХСН. Данный феномен представляется весьма важным в связи с тем, что СРБ, по некоторым данным, обратно ассоциирован с толерантностью к физической нагрузке при ХСН [1].

Также представляется важным обнаруженное снижение доли пациентов с ХСН и стазическими микроциркуляторными проявлениями на фоне использования минимальных суточных дозировок энтеросорбента, содержащего углерод и алюминия оксид. Известно, что в результате снижения сердечного выброса ухудшается кровенаполнение органов и тканей, в том числе почек, что сопровождается включением почечного звена патогенеза ХСН. Для поддержания на нормальном уровне артериального давления при сниженном сердечном выбросе увеличивается активность симпатoadреналовой системы. Повышенное выделение катехоламинов, в основном норадреналина, приводит к сужению артериол, а также венул, к застою и стазу [2]. Характерной особенностью микроциркуляции при ХСН является развитие нарушений эндотелий-зависимой сосудистой реактивности и ассоциированными с ней нейроэндокринными сдвигами, обуславливающими метаболические изменения в различных органах и тканях [4, 10]. Выявленное нами уменьшение застойно-стазических реакций микроциркуляторного русла у больных ХСН, возможно является проявлением снижения эндогенной интоксикации, обусловленной применением минимальных дозировок энтеросорбента, содержащего углерод и алюминия оксид. Механизмы этого эффекта пока до конца не ясны и нуждаются в уточнении.

Таким образом, складывается мнение, что применение минимальных суточных дозировок энтеро-

сорбента, содержащего углерод и алюминия оксид («Энтерумин») в течение двух недель в качестве дополнения к стандартной терапии ХСН, способствует снижению уровня системного воспаления. По нашему мнению, требуется дальнейшее изучение влияния различных суточных дозировок этого энтеросорбента на различные механизмы системного воспаления и регуляции сосудистого тонуса на уровне микроциркуляции при ХСН.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенного исследования выявлено снижение уровня СРБ у больных, перенесших инфаркт миокарда с хронической сердечной недостаточностью после двухнедельного приема минимальных суточных доз энтеросорбента, содержащего углерод и алюминия оксид («Энтерумин»). Отмечены также улучшения в микроциркуляторном звене гемостаза. Это является проявлением уменьшения системного воспаления характерного для ХСН. Зафиксировано отсутствие нежелательных явлений в виде запоров на фоне приема минимальных суточных доз данного энтеросорбента у больных ХСН.

Авторы выражают благодарность за помощь в проведении данного исследования научным сотрудникам ПФК «Обновление», г. Новосибирск к.х.н. С.Ю. Бурылину и И.И. Фроловой.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Костюкевич О.И., Хадышьян Г.Г. Коррекция системного воспаления методом нутритивной поддержки у пациентов с ХСН III–IV ФК // Сердечная недостаточность. – 2005. – № 5. – С. 186–190.

Kostyukevich O.I., Khadyshyan G.G. Correction of systemic inflammation by nutritional support in patients with congestive heart failure III–IV FC // Serdechnaya nedostatochnost. – 2005. – N 5. – P. 186–190.

2. Крупаткин А.И., Сидоров В.В. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 256 с.

Krupatkin A.I., Sidorov V.V. Laser Doppler flowmetry of blood microcirculation. – Moscow: OAO "Izdatelstvo Meditsina", 2005. – 256 p.

3. Николаев К.Ю., Пархоменко Е.И., Лифшиц Г.И. и др. Воспроизводимость показателей эндотелий-зависимой сосудистой реактивности микроциркуляторного русла // Омский научный вестник. – 2005. – N 1 (30). – P. 198–200.

Nikolaev K.Y., Parkhomenko E.I., Lifshitz G.I. et al. Reproducibility of indicators of endothelium-dependent vascular reactivity microvasculature // Omsk Scientific Bulletin. – 2005. – N 1 (30). – P. 198–200.

4. Николаева А.А., Лифшиц Г.И., Штеренталь И.Ш. и др. Особенности нейроэндокринных нарушений регуляции при остром инфаркте миокарда в зависимости от тяжести течения заболевания // Кардиология. – 1993. – № 11. – С. 60–63.

Nikolaeva A.A., Lifshits G.I., Shterental I.Sh. et al. Characteristics of neuroendocrine regulatory disorders

in acute myocardial infarct in relation to the severity of the course of the disease // Kardiologiya. – 1993. – N 11. – P. 60–63.

5. Николаева А.А., Николаев К.Ю., Попова Л.В. Сосудистая реактивность и эндотелиальные дисфункции при артериальной гипертензии и ишемической болезни сердца (диагностика, лечение и профилактика). – Новосибирск: ГПНТБ СО РАН, 2006. – 192 с.

Nikolaeva A.A., Nikolaev K.Y., Popova L.V. Vascular reactivity and endothelial dysfunction in arterial hypertension and coronary heart disease (diagnosis, treatment and prevention). – Novosibirsk: GPNTB SO RAN, 2006. – 192 p.

6. Николаева А.А., Лифшиц Г.И., Штеренталь И.Ш. и др. Прогностическая оценка сосудистой реактивности к вазоактивным веществам и клинического индекса тяжести у больных острым инфарктом миокарда // Кардиология. – 1991. – № 12. – С. 21–24.

Nikolaeva A.A., Lifshits G.I., Shterental I.Sh. et al. Prognostic evaluation of vascular reactivity to vasoactive drugs and the clinical index of disease severity in patients with myocardial infarction // Kardiologiya. – 1991. – N 12. – P. 21–24.

7. Озова Е.М., Киякбаев Г.К., Кобалава Ж.Д. Воспаление и хроническая сердечная недостаточность. Роль статинов // Кардиология. – 2007. – № 1. – С. 52–64.

Ozova E.M., Kiyakbaev G.K., Kobalava Z.D. Inflammation and congestive heart failure. The role of statins // Kardiologiya. – 2007. – N 1. – P. 52–64.

8. Штеренталь И.Ш., Мержиевская В.М., Николаев К.Ю. и др. Ранняя диагностика нарушений сосудистой реактивности и ее гормональной регуляции // Мед. радиология. – 1990. – № 8. – С. 48–49.

Shterental I.Sh., Merzhievskaya V.M., Nikolaev K.Y. et al. Early diagnosis of vascular reactivity and its hormonal regulation // Med. radiologiya. – 1990. – N 8. – P. 48–49.

9. Elsen A., Benderly M., Behar S. et al. Inflammation and future risk of symptomatic heart failure in patients with stable coronary artery disease // Am. Heart J. – 2014. – Vol. 167 (5). – P. 707–714.

10. Hirai D.M., Copp S.W., Holdsworth C.T. et al. Skeletal muscle microvascular oxygenation dynamics in heart failure: exercise training and nitric oxide-mediated function // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2014. – Vol. 306, N 5. – P. 690–698.

11. Nessler J., Nessler B., Golebiowska-Wiatrak R. et al. Serum biomarkers and clinical outcomes in heart failure patients treated de novo with carvedilol // Cardiol. J. – 2013. – Vol. 20 (2). – P. 144–151.

12. Shibahara H., Shibahara N. Cardiorenal protective effect of the oral uremic toxin absorbent AST-120 in chronic heart disease patients with moderate CKD // J. Nephrol. – 2010. – Vol. 23 (5). – P. 535–540.

13. Vaziri N.D., Yuan J., Khazaeli M. et al. Oral activated charcoal adsorbent (AST-120) ameliorates chronic kidney disease-induced intestinal epithelial barrier disruption // Am. J. Nephrol. – 2013. – Vol. 37 (6). – P. 518–525.

Сведения об авторах

Николаев Константин Юрьевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией неотложной терапии Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины СО РАН (630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1; тел.: +7 (383) 373-04-12; e-mail: nikolaevky@yandex.ru)

Овсянникова Алла Константиновна – кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины СО РАН

Лифшиц Галина Израилевна – доктор медицинских наук, зав. лабораторией персонализированной медицины Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (e-mail: gl62@mail.ru)

Москаленко Ирина Викторовна – кандидат медицинских наук, заведующая отделением восстановительного лечения Городской клинической больницы № 19 (e-mail: ivmoskalenko@mail.ru)

Information about the authors

Nikolaev Konstantin Yurevich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Laboratory of Urgent Therapy of Scientific Research Institute of Internal Medicine and Preventive Medicine SB RAS (630089, Novosibirsk, ul. Borisa Bogatkova, 175/1; tel.: +7 (383) 373-04-12; e-mail: nikolaevky@yandex.ru)

Ovsyannikova Alla Konstantinovna – Candidate of Medical Sciences, Junior Research Officer of Scientific Research Institute of Internal Medicine and Preventive Medicine SB RAS (e-mail: aknikolaeva@bk.ru)

Lifshits Galina Izrailevna – Doctor of Medical Sciences, Head of Laboratory of Personalized Medicine of Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS (e-mail: gl62@mail.ru)

Moskalenko Irina Viktorovna – Candidate of Medical Sciences, Head of Department of Regenerative Medicine of City Clinical Hospital N 19 (e-mail: ivmoskalenko@mail.ru)

О.В. Петрунко

РЕМИССИЯ КАК СОВРЕМЕННАЯ ЦЕЛЬ АНТИДЕПРЕССИВНОЙ ТЕРАПИИ

Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования (Иркутск)

В ходе анализа эффективности вальдоксана (агомелатина) при терапии депрессивного расстройства (количество пациентов – 50 человек) выделены клинические предикторы наиболее полного ответа на препарат до степени достижения ремиссии. Среди закончивших исследование (40 человек) респондерами являлись 36 (90 %) больных. В 27 наблюдениях из 40 состояние больных соответствовало ремиссии. Первичный ответ (респонс) через 1–2 недели терапии определен в качестве прогностического фактора формирования ремиссии.

Ключевые слова: депрессивное расстройство, антидепрессивная терапия, ремиссия, первичный ответ, вальдоксан

ACHIEVEMENT OF REMISSION AS A MODERN PURPOSE OF ANTIDEPRESSANT THERAPY

O.V. Petrunko

Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk

During the analysis of valdoxan (agomelatine) effectiveness in the treatment of depressive disorders (50 patients) clinical predictors of the most complete response to the point of remission are marked. Among patients who completed the study (40 patients), 36 were responders (90 %). The remission was seen in 27 patients of 40. Primary response after 1–2 weeks of therapy was defined as a prognostic factor of remission.

Key words: depressive disorder, antidepressant therapy, remission, primary response, valdoxan

Современные взгляды на оценку эффективности терапевтического процесса предполагают не только дихотомическую оценку респондеров и нонреспондеров, но и учет базовой характеристики эффективности терапевтического процесса – достижение ремиссии (remissio – временное ослабление или исчезновение симптомов заболевания). Такая смена парадигмы – с преодоления негативных последствий течения (хронификации) или лечения (резистентности) психических расстройств на достижение положительных результатов (ремиссии или выздоровления) – должна восприниматься как позитивно поставленная клиническая задача [1]. Достижение полной ремиссии при фармакотерапии депрессивных расстройств обеспечивает меньший риск обострений/рецидивов и хронификации последующих состояний, увеличение длительности интермиссий, улучшение социального функционирования и прогноза [4, 11], в том числе снижение риска инвалидизации [7].

Современная оценка ремиссии при депрессивных расстройствах предполагает использование шкалы депрессии Гамильтона (HAMD), которая на протяжении нескольких десятилетий в разных модификациях является базовым инструментом для оценки динамики депрессии в процессе психофармакотерапии. Психометрическая оценка терапевтической эффективности антидепрессивной терапии представляет собой выделение клинических групп (респондеры, нонреспондеры, парциальные респондеры) на основе статистически значимых различий абсолютных значений показателей терапевтической динамики (до начала и в конце терапии). Современная трактовка терапевтического «ответа» определяет ремиссию

как редукцию баллов по шкале HAMD до 7 баллов и менее, респондеров – на 50 % и более, парциальных респондеров – на 26–49 % и нонреспондеров – на 25 % и менее.

Согласно зарубежным данным, только 20–30 % больных с депрессивными расстройствами в результате применения антидепрессантов первого выбора достигают ремиссии, тогда как 70–80 % составляют проблемную группу, требующую проведения мероприятий, направленных на повышения эффективности терапии [9]. В ходе терапии депрессии 10–20 % лиц достигают респонса с резидуальными симптомами, 15 % – парциального респонса и 25 % – нонреспонса [8]. В клинической практике пациентов с недостаточной эффективностью терапии значительно больше в связи с высокой коморбидностью депрессивных расстройств с расстройствами личности, злоупотреблением психоактивными веществами, соматическими заболеваниями [10].

Дифференцированный подход к выбору антидепрессивной терапии предполагает уточнение индивидуальной психофармакологической реактивности [2]. В настоящее время в качестве критерия, отражающего степень реактивности центральной нервной системы, рассматривают время наступления первичного ответа (респонса). Данный показатель оценивают, как редукцию баллов по HAMD на 25 %.

Чем раньше наступает первичный ответ, тем более вероятен положительный результат терапии с достижением ремиссии. Появление раннего первичного ответа в первые две недели фармакотерапии рассматривается как «критический» период для дальнейшей ее эффективности, в то же время является «безмолвным» в отношении выявления собственного

антидепрессивного эффекта (латентный период), отражая реактивность нейрофизиологических систем организма, в дальнейшем проявляющуюся уже под воздействием психофармакотерапии [2]. Первичный ответ можно рассматривать как предиктор формирования ремиссии, на основании которого определяется дальнейшая терапевтическая тактика, т.е. анализ динамики состояния пациента в течение 2 недель позволяет решить вопрос о необходимости проведения мероприятий, повышающих эффективность терапевтического воздействия.

Цель работы: выявление клинических предикторов наиболее полного ответа на препарат до степени достижения ремиссии при терапии вальдоксаном депрессивного расстройства, оценка первичного ответа на терапию в качестве прогностического фактора формирования ремиссии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В рамках российского мультицентрового открытого несравнительного исследования проведена оценка эффективности и безопасности препарата вальдоксан (агомелатин) при лечении умеренной и тяжелой депрессии – РИТМ (Руководитель иркутского центра – профессор А.С. Бобров, исследование проведено совместно с А.А. Хамархановой, А.В. Швецовой) [5]. Если пациент до включения в настоящее исследование получал антидепрессивную терапию, проводилась фаза «отмывания». Длительность терапии вальдоксаном составила 42 дня (6 нед.) с получением добровольного согласия на участие в исследовании. Критерии включения: мужчины и женщины в возрасте от 18 до 65 лет, умеренный (F32.1) или тяжелый (F32.2) депрессивный эпизод (по МКБ-10), психометрическая оценка не менее 17 баллов по шкале депрессии Гамильтона (HAMD-17) и 3 баллов по шкале общего клинического впечатления (CGI-S). Вальдоксан в дозе 25 мг в сутки назначался однократно в вечернее время, было возможно увеличение дозы препарата до 50 мг в сутки в случае недостаточной эффективности. Протоколом исследования в первых 2 недели терапии допускалось добавление гипнотика при расстройствах сна и анксиолитика (кроме алпразолама) – в случае тревоги.

Оценка эффективности терапии проводилась на 1-й, 2-й, 3-й, 4-й и 6-й (завершающей) неделе терапии по редукции суммарного балла шкалы HAMD-17 и данных шкал CGI-S, CGI-I. В течение всего курса терапии регистрировались возникающие нежелательные явления.

Включены в исследование 50 больных: 41 (82 %) женщина и 9 (18 %) мужчин, средний возраст к началу исследования составил $44,5 \pm 1,5$ года. Большинство пациентов 45 (90,0 %) находились на стационарном лечении, 5 (10,0 %) человек наблюдались амбулаторно. По типу течения больные распределились следующим образом: единичный депрессивный эпизод (ДЭ) – 11 (22 %), рекуррентное депрессивное расстройство – 36 (72 %) и актуальный ДЭ в рамках биполярного аффективного расстройства – 3 (6 %); по тяжести депрессивного эпизода: ДЭ средней степени тяжести – 27 (54 %), тяжелый ДЭ без психотических

симптомов – 23 (46 %) пациента. Значительная часть больных – 20 (40 %) перенесли 4 и более ДЭ с начала болезни. На момент включения в исследование средний суммарный балл по шкале HAMD-17 составил $22,5 \pm 0,4$, по шкале CGI-S (тяжесть состояния) – $3,5 \pm 0,07$. Около половины больных – 24 (48,0 %) до включения в исследование имели работу, инвалидами были признаны 11 (22,0 %), не работали (домохозяйки, уволенные, пенсионеры по возрасту) 15 (30,0 %) человек.

В 97,5 % случаев с 7-го дня терапии начальная доза 25 мг в сутки была увеличена до 50 мг с однократным приемом. Изменение дозы препарата обусловлено преимущественно стационарным контингентом больных, значительной степенью тяжести депрессии, рекуррентным течением у большинства пациентов, наличием суицидальных мыслей (выраженность не более 2 баллов по пункту 3 шкалы HAMD-17) у 9 (18 %) человек.

Выделение клинических предикторов эффективности антидепрессивной терапии вальдоксаном проводилось с использованием инновационной технологии в регистрации депрессивной, тревожной и коморбидной симптоматики в структуре депрессии в виде «аффектограммы» [3]. Порядок составления «аффектограммы» включал 2 этапа. На первом этапе регистрируется симптоматика по мере ее предъявления пациентом с последующим уточнением ее полноты. Второй этап оформления «аффектограммы» содержит группировку симптоматики в диагностические блоки: депрессивный с указанием тяжести депрессии (депрессивный эпизод по МКБ-10) и оттенка сниженного настроения (гипотимии); перманентной тревоги в виде генерализованного тревожного расстройства с выделением когнитивной, психической и соматической (вегетативной) составляющей; сенсорный с указанием структуры патологических телесных ощущений (алгии, сенестопалгии, алготермии), их локализаций и степени генерализации (моно-, би- и полилокальные); идеаторный (денотат депрессии, содержание навязчивых тревожных опасений); наличие/отсутствие идеаторной и/или моторной заторможенности; атипичной симптоматики, а также коморбидных расстройств, к примеру, в виде различных вариантов пароксизмальной/ пароксизмальноподобной тревоги с/без агорафобии. На основе «аффектограммы» возможна формировка наиболее полного диагноза с указанием тяжести и типа депрессии, структуры и степени генерализации патологических телесных ощущений (ПТС), идеаторных образований (не-ипохондрическое, ипохондрическое и смешанное содержание), особенностей депрессивной триады, наличия атипичной симптоматики и коморбидных расстройств.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Завершили исследование 40 (80 %) больных. Причиной выбывания из исследования у 9 человек (18,0 %) было отсутствие положительного эффекта от проводимой терапии, одна пациентка переведена в инфекционную больницу после укуса клеща.

Из закончивших исследование 36 (90 %) человек отнесены к респондерам (редукция суммарного балла по шкале HAMD-17 на 50 % и более), число нонреспондеров – 4 (10 %). Среди пациентов группы респондеров выделены 27 человек с наиболее выраженным терапевтическим ответом до достижения ремиссии (редукция суммарного балла по шкале HAMD-17 до 7 и менее баллов). Для уточнения клинических предикторов формирования ремиссии в ходе терапии вальдоксаном проведен сравнительный статистический анализ (расчет t-критерия Стьюдента) двух групп пациентов с ремиссией (27 человек) и респондеров (9 человек).

Пациенты с ремиссией отличались от респондеров меньшими показателями тяжести депрессии по шкале HAMD-17 ($21,7 \pm 0,5$ балла против $23 \pm 0,9$ балла), длительности заболевания в целом ($5,8 \pm 1,2$ года против $7,4 \pm 2,1$ года) и продолжительности текущего депрессивного эпизода ($3,9 \pm 0,5$ мес. против $6,6 \pm 2,8$ мес.).

В зависимости от величины стартового суммарного балла шкалы HAMD-17 выявлена зависимость в сроках наступления терапевтической ремиссии (2-я неделя – 7,4 % больных, 3-я и 4-я недели – соответственно по 14,8 %; 6-я неделя – 63 %). В случае наступления ремиссии на 2-й неделе отмечается более низкий стартовый суммарный балл шкалы HAMD-17, но с возможной волнообразностью состояния в виде увеличения суммарного балла на 21-й день и последующей его редукцией более чем на 7 баллов. При наступлении ремиссии на 3-й неделе стартовый суммарный балл был выше по сравнению с наступлением ремиссии на 14-й день, но меньшим в сравнении со сроками наступления ремиссии на 28-й и 42-й дни терапии. У пациентов с формированием ремиссии на 6-й неделе выявляется наиболее высокий стартовый суммарный балл шкалы HAMD-17 с последующей плавной редукцией балльной оценки в течение всего периода терапии.

Проведен сравнительный анализ распределения больных с ремиссией и респондеров по типу депрессии (табл. 1). Определение типа депрессии происходило исходя из наличия гипотимии, в том числе с тоскливым оттенком, а также сопутствующего депрессии генерализованного тревожного расстройства (ГТР) по DSM-IV либо его субклинических проявлений [3]. В группе «респондеры» в сравнении

с группой «ремиссия» отмечена достоверно большая частота тревожной депрессии ($p < 0,03$). В группе больных с ремиссией в сравнении с респондерами отмечается большая частота витальных проявлений депрессии – достоверно чаще регистрировались такие депрессивные симптомы как сниженная самооценка и чувство уверенности в себе ($p < 0,01$); мрачное и пессимистическое видение будущего ($p < 0,04$).

Среди респондеров выявлена достоверно большая частота сочетанных расстройств сна ($p < 0,01$) (табл. 2). В группе респондеров к сочетанным расстройствам сна отнесены ранняя и средняя инсомния; реже инсомния в начале ночи, середине ночи и в ранние утренние часы; в единичных наблюдениях – перемежающиеся расстройства сна. В группе с ремиссией сочетанные расстройства сна встречались значительно реже (55,6 % и против 100 %) и выступали в виде какого-либо одного варианта. Это были затруднения засыпания с вечера либо частые пробуждения среди ночи, реже – поздняя инсомния.

Клиническим предиктором наиболее полного клинического ответа на вальдоксан в группе «ремиссия» является достоверно большая частота в сравнении с группой «респондеров» нетипичного для классической меланхолии суточного ритма (40,7 % против 11,1 %; $p < 0,05$) в форме ухудшения состояния в вечерние часы.

В общей группе больных ($n = 36$) с положительным терапевтическим ответом на вальдоксан у 26 (72,2 %) больных с различной тяжестью ДЭ диагностировалось сопутствующее депрессии генерализованное депрессивное расстройство (ГТР) по критериям DSM-IV. При выявлении в структуре ГТР вегетативных расстройств, они дифференцировались на вегетативную реактивную лабильность, вегетативные расстройства, возникающие в ответ на незначительное физическое напряжение, перманентные и периодические вегетативные расстройства, а также выделяли неспровоцированные внешними воздействиями проявления [3]. В группе «ремиссия» в отличие от «респондеров» достоверно чаще выявлялись неспровоцированное перманентное и периодическое проявления вегетативных расстройств (41,8 % против 21,4 %; $p < 0,02$).

Среди проявлений диагностически очерченного ГТР по DSM-IV, сопутствующего депрессии, в группе

Таблица 1
Зависимость полноты терапевтического ответа на терапию вальдоксаном от типа депрессии

Тип депрессии	Полнота терапевтического ответа на терапию вальдоксаном			
	Ремиссия ($n = 27$)		Респондер ($n = 9$)	
	абс.	%	абс.	%
Депрессивный эпизод (ДЭ): наличие гипотимии и сопутствующие депрессии субдиагностические проявления ГТР	7	25,9	1	11,1
Тоскливая депрессия: тоскливый оттенок гипотимии и сопутствующие депрессии субдиагностические проявления ГТР	2	7,4	0	0
Тревожная депрессия: гипотимия (без тоскливого оттенка) и сопутствующее депрессии диагностически очерченное ГТР	12	44,4	7	77,8 *
Тоскливо-тревожная: тоскливый оттенок гипотимии и сопутствующее депрессии диагностически очерченное ГТР	6	22,2	1	11,1

Примечание. * – отличия статистически значимы на уровне $p < 0,03$.

Таблица 2

Сравнительная оценка частоты (%) депрессивных симптомов среди групп «ремиссия» и «респондеры» (без дифференциации на тип депрессии)

Депрессивные симптомы по МКБ-10 (F32)	Ремиссия (n = 27)		Респондер (n = 9)	
	абс.	%	абс.	%
Гипотимия	27	100,0	9	100,0
Утрата интересов и способности получать удовольствие	27	100,0	9	100,0
Повышенная утомляемость	19	70,4	7	77,8
Снижение способности к сосредоточению внимания с/без снижения памяти	22	81,5	7	77,8
Сниженная самооценка и чувство уверенности в себе	15	55,6	9	100,0*
Идеи виновности и самоуничтожения	12	44,4	5	55,6
Мрачное и пессимистическое видение будущего	12	44,4	1	11,1**
Суицидальные мысли	6	22,2	3	33,3
Нарушенный сон, в т. ч.	26	96,3	9	100,0
сочетанный вариант	15	55,6	9	100,0***
Сниженный аппетит	24	88,9	9	100,0

Примечание. * – отличия статистически значимы на уровне $p < 0,01$; ** – $p < 0,04$; *** – $p < 0,01$.

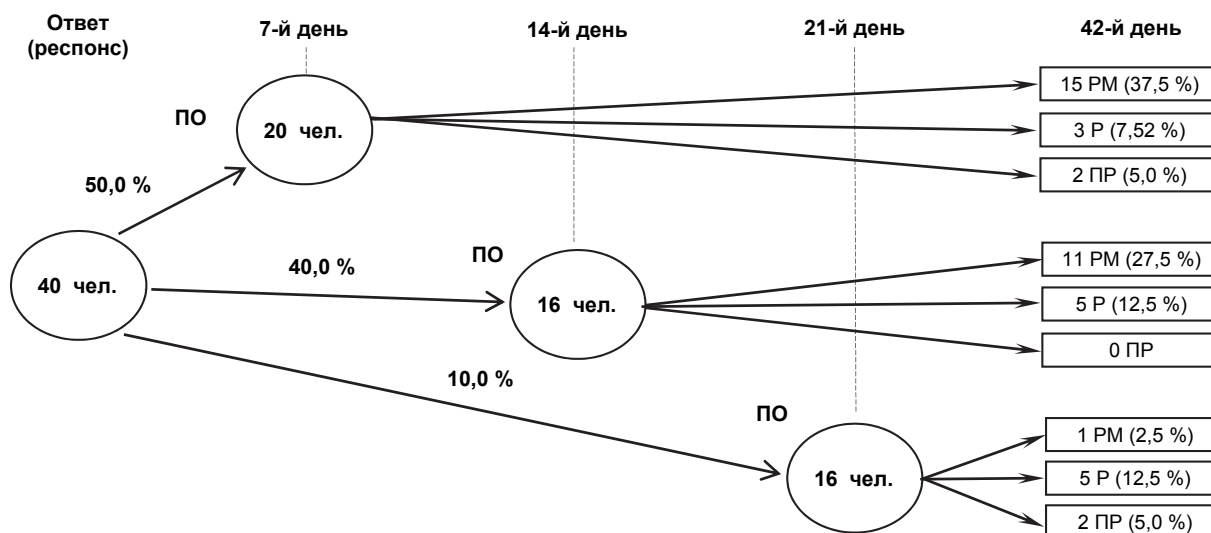


Рис. 1. Эффективность терапии в зависимости от времени первичного ответа при терапии вальдоксаном: ПО – первичный ответ; РМ – ремиссия; Р – респондеры; ПР – патреспондеры.

«ремиссия» в сравнении с «респондерами» оказалась достоверно большей частота симптома «напряжение в мышцах» (50,0 % против 12,5 %; $p < 0,04$).

В качестве коморбидных нарушений в случаях положительного терапевтического ответа на вальдоксан достаточно часто отмечалось наличие пароксизмальных расстройств – у 15 (41,7 %) человек. При этом чаще речь шла о паническом расстройстве (ПР) с разной выраженностью симптоматики; ПР с или без агорафобии имело место у 14 (51,9 %) больных с ремиссией ($p < 0,04$).

Нежелательные явления среди закончивших исследование больных ($n = 40$) были выявлены у 10 (25 %), из них у подавляющего большинства (9 человек) регистрировалось одно нежелательное явление, лишь у 1 больного – два. К нежелательным явлениям были отнесены: тошнота (у 3 человек), дневная сонливость (у 3), головная боль (у 3), головокружение

(у 1), дерматит (у 1). Ни одно нежелательное явление не было причиной прекращения терапии.

Среди 40 пациентов, завершивших прием вальдоксана в течение 42 дней, проведена оценка эффективности терапии в зависимости от времени первичного ответа. Первичный ответ при редукции баллов по шкале депрессии HAMD на 25 % и более к концу 1-й недели терапии отмечен у 50,0 % пациентов, 2-й недели – 40,0 %, 3-й недели – 10,0 %. Среди пациентов с первичным ответом в первые 2 недели терапии (36 пациентов) к концу исследования (6 нед.) терапии 26 человек (65,0 %) находились в ремиссии (7 и менее баллов по шкале депрессии HAMD), 8 пациентов (20,0 %) явились респондерами, и лишь 2 (5,0 %) оказались парциальными респондерами (патреспондерами).

При сравнительном статистическом анализе группы «респондеров» и «ремиссия» выделены кли-

нические предикторы выраженности терапевтического ответа на вальдоксан до достижения ремиссии: достоверно меньшая частота тревожной депрессии; расстройства ночного сна в виде какого-либо одного варианта; наличие нетипичного суточного ритма в форме ухудшения состояния в вечерние часы; достоверно большая частота симптома «напряжение в мышцах» в структуре генерализованного тревожного расстройства (по DSM-IV); постоянные или периодические вегетативные расстройства вне связи с реактивной лабильностью либо незначительным физическим напряжением; пароксизмальная тревога с/без агорафобии как вариант коморбидных расстройств.

Высокий терапевтический эффект препарата на все три варианта инсомнии (ранняя, средняя, поздняя) с одновременным улучшением показателей активности в дневное время при отсутствии седативного побочного эффекта свидетельствует о наличии у вальдоксана хронобиотического действия. Сочетание антидепрессивного и хронобиотического действия препарата имеет важное значение для изученной группы пациентов в связи со значительным преобладанием лиц женского пола, у которых отмечена высокая коморбидность депрессивных и инсомнических расстройств [6].

Таким образом, анализ клинических предикторов формирования ремиссии под влиянием терапии вальдоксаном значительно расширяет представление о спектре психотропной активности препарата. Оценка первичного ответа позволяет прогнозировать результативность проводимой антидепрессивной терапии пациентам с депрессивными расстройствами.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Аведисова А.С. Ремиссия: новая цель терапии и новые методы ее оценки // Психиатрия и психофармакотерапия. – 2004. – № 4. – С. 156–158.
2. Аведисова А.С. Новая стратегия повышения эффективности терапии депрессивных расстройств, определяемая первичным ответом // Психиатрия и психофармакотерапия. – 2011. – № 1. – С. 12–17.
3. Бобров А.С. Эндогенная депрессия. – 2-е доп. и перераб. изд. – Иркутск, 2010. – 430 с.

Bobrov A.S. Endogenous depression. – 2nd ext. and rev. ed. – Irkutsk, 2010. – 430 p.

4. Бобров А.С., Петрунько О.В. Депрессивные расстройства: междисциплинарный подход // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. Здоровье населения Иркутской области: проблемы и пути решения: Материалы научно-практической конференции. – 2003. – № 3. – С. 26–30.

Bobrov A.S., Petrunko O.V. Depressive disorders: an interdisciplinary approach // Bulletin VSNC SO RAMN. Zdorov'e naselenija Irkutskoj oblasti: problemy i puti reshenija: Materialy nauchno-prakticheskoy konferencii. – 2003. – N 3. – P. 26–30.

5. Бобров А.С., Петрунько О.В., Хамарханова А.А., Швецова А.В. Клинические предикторы реакции на терапию вальдоксаном при умеренной и тяжелой депрессии // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2010. – № 9. – С. 14–21.

Bobrov A.S., Petrunko O.V., Khamarkhanova A.A., Shvetsova A.V. Clinical predictors of response to agomelatine therapy in moderate to severe depression // Zhurnal neurologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova. – 2010. – N 9. – P. 14–21.

6. Мадаева И.М., Колесникова Л.И., Солодова Е.И., Семенова Н.В. Климактерический синдром и нарушения сна // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 2 (84), Ч. 2. – С. 173–177.

Madayeva I.M., Kolesnikova L.I., Solodova E.I., Semionova N.V. Climacteric syndrome and sleep disturbance // Bulletin VSNC SO RAMN. – 2012. – N 2 (84), Part 2. – P. 173–177.

7. Петрунько О.В., Клименко О.Г. Инвалидность вследствие аффективных нарушений в Иркутской области по обращаемости в бюро медико-социальной экспертизы // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 2 (90), Ч. 1. – С. 107–110.

Petrunko O.V., Klimenko O.G. Disability as a result of affective disorders in the Irkutsk region referral to the bureau of medical-social expertise // Bulletin VSNC SO RAMN. – 2013. – N 2 (90), Part 1. – P. 107–110.

8. Depression in Primary Care. Vol. 2. Treatment of Major Depression. Rockville M.D.: U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, AHCPR, 1993. (No. AHCPR Publication Nos. 93-0551).

9. Keller M.B. Issues in treatment-resistant depression // J. Clin. Psychiatry. – 2005. – Vol. 66 (suppl. 8). – P. 5–12.

10. Nemeroff C.B. Prevalence and management of treatment-resistant depression // J. Clin. Psychiatry. – 2007. – Vol. 68 (suppl. 8). – P. 17–25.

11. Thase M.E. Achieving remission and managing relapse in depression // J. Clin. Psychiatry – 2003. – Vol. 64 (suppl. 18). – P. 3–7.

Информация об авторах

Петрунько Ольга Вячеславна – кандидат медицинских наук, доцент; доцент кафедры психиатрии и наркологии ГБОУ ДПО Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования (664079, г. Иркутск, м-н Юбилейный, 100; тел.: 8 (3952) 76-38-57; e-mail: petrunko@mail.ru)

Information about the authors

Petrunko Olga Vyacheslavna – Candidate of Medical Science, Docent, Assistant Professor at the Department of Psychiatry and Addictology of Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education (664079, Irkutsk, Yubileyniy, 100; tel.: +7 (3952) 76-38-57; e-mail: petrunko@mail.ru)

М.Э. Пусева^{1, 2}, И.Н. Кинаш¹, Т.К. Верхозина^{1, 2}**ПРЕИМУЩЕСТВА СТЕРЖНЕВОЙ ФИКСАЦИИ ПРИ ДИАФИЗАРНЫХ ПЕРЕЛОМАХ КОСТЕЙ ПРЕДПЛЕЧЬЯ ПО ДАННЫМ РЕОВАЗОГРАФИИ**¹ Иркутский научный центр хирургии и травматологии (Иркутск)² Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования (Иркутск)

Авторы представляют результаты исследования периферического кровотока верхней конечности у пациентов с диафизарными переломами костей предплечья при чрескостном остеосинтезе аппаратами внешней фиксации различной компоновки. Отмечается существенная разница реографических показателей от компоновки аппарата внешней фиксации: определяется большая эффективность применения чрескостного остеосинтеза аппаратами внешней фиксации стержневой компоновки с сохранением движений в смежных с поврежденным сегментом суставах.

Ключевые слова: реовазография, чрескостный остеосинтез, перелом костей предплечья

ADVANTAGES OF ROD EXTERNAL FIXATION AT DIAPHYSEAL FRACTURES OF FOREARM BONES ACCORDING TO THE DATA OF RHEOVASOGRAPHYM.E. Puseva^{1, 2}, I.N. Kinash¹, T.K. Verkhovina^{1, 2}¹ Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk² Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk

The authors present the result of the research of peripheral blood flow of upper extremity in patients with diaphyseal fractures of forearm bones at transosseous osteosynthesis by external fixation devices of different set. Significant difference between rheographic indices and the set of external fixation device: greater effectiveness of transosseous osteosynthesis by rod external fixation devices with saving of moves in joints interfacing with injured segments was determined.

Key words: rheovasography, transosseous osteosynthesis, fractures of forearm bones

ВВЕДЕНИЕ

Лечение больных с диафизарными переломами костей предплечья в настоящее время остается актуальной задачей в современной травматологии и ортопедии. Переломы диафизарных отделов костей предплечья составляют 13–15 % случаев от всех переломов длинных трубчатых костей [9, 10, 11, 13]. При неудовлетворительном лечении диафизарных переломов костей предплечья частыми последствиями являются замедленно срастающиеся в неправильном положении переломы и формирование ложных суставов, что приводит к стойким контрактурам в проксимальном и дистальном лучелоктевом сочленении, локтевом и лучезапястном суставах [13, 14]. Метод чрескостного остеосинтеза аппаратами внешней фиксации стержневой компоновки выбрал в себя передовой опыт чрескостного остеосинтеза спицевыми и спице-стержневыми аппаратами внешней фиксации. Он имеет малую травматичность вмешательства, обеспечивает стабильную фиксацию костных фрагментов малым количеством проведенных чрескостных элементов с возможностью во времени дискретно точного многоплоскостного воздействия на расположение костных фрагментов, раннего функционального лечения поврежденной конечности [7].

Одним из условий формирования полноценного костного регенерата является адекватный уровень регионарного кровотока. Состояние сосудистой сети мышц поврежденного сегмента является основным источником васкуляризации экстраоссальной регенерации, а усиление кровоснабжения мышц приводит к стимуляции кровоснабжения кости [6, 8].

В эксперименте доказано, что в условиях создания механической фиксации костных отломков в зону повреждения вырастают капилляры, и остеобласты из недифференцированных клеток формируют вокруг них костные балки соответственно первичному ангиогенному сращению перелома [3, 8, 10].

Как было показано ранее, метод реовазографии позволяет получить объективную информацию о состоянии артериального и венозного кровотока, тонуса сосудов, их сопротивления при травматолого-ортопедической патологии до операции и в процессе лечения больного до снятия АВФ [1, 2, 4, 5, 6, 12].

Цель исследования: сравнить результаты исследования регионарного кровотока в динамике и эффективность лечения диафизарных переломов обеих костей предплечья методом чрескостного остеосинтеза двумя видами компоновок аппаратов внешней фиксации – стержневой и спице-стержневой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В травматолого-ортопедическом отделении ИНЦХТ под наблюдением находился 41 пациент с диафизарным повреждением костей предплечья. Пациенты были разделены по способу фиксации костных отломков на две группы.

Пациентам группы клинического сравнения (ГКС) ($n = 20$) проведено оперативное лечение в виде комбинированного чрескостного остеосинтеза (КЧО) спице-стержневой компоновкой АВФ.

Пациентам основной группы (ОГ) ($n = 21$) выполнен чрескостный остеосинтез с применением аппарата внешней фиксации стержневой компоновки.

Для выполнения данной медицинской технологии необходимо следующее материально-техническое обеспечение:

1. Комплект для чрескостного остеосинтеза по Г.А. Илизарову в составе:

- полукольца различного диаметра;
- сектор 1/4 диаметра кольца аппарата Г.А. Илизарова;
- сектор 3/4 диаметра кольца аппарата Г.А. Илизарова;
- внутрикостные диафизарные стержни-шурупы диаметром 6,0 мм;
- спицы Ø 2,0 и Ø 1,8 мм;
- спицефиксаторы;
- спиценатягиватель тарированный;
- кронштейны с резьбовым отверстием;
- кронштейны с резьбовым хвостовиком;
- гайки, винты, резьбовые стержни;
- элементы с взаимоперпендикулярными отверстиями.

2. Медицинская дрель. Сверла хирургические.

3. Аппарат для обработки костей универсальным набором инструментов АОК УНИ-01 «Медсин».

4. Столы операционные универсальные ОУК модификации ОУК-01, ОУК-02 с комплектами приспособлений. Ортопедическая приставка к хирургическому столу.

5. Рентгенодиагностический аппарат фирмы PHILIPS OPTIMUS CP № 98-7896

Предоперационная подготовка

Показания, противопоказания и предоперационная подготовка общеизвестны, не отличаются от разработанных в ФГУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» для чрескостного остеосинтеза костей предплечья [3].

Общие принципы выполнения чрескостного остеосинтеза

Метод чрескостного остеосинтеза относится к виду высокотехнологичной медицинской помощи и регламентирован следующими документами: методические рекомендации № 2002/134; «Метод унифицированного обозначения чрескостного остеосинтеза» (МУОЧО) (www.aotrf.org/site/metod.html) и атлас проведения чрескостных элементов при остеосинтезе аппаратом Илизарова [9]. Согласно этим документам, известны оптимальные рекомендуемые позиции для проведения чрескостных элементов на каждом уровне предплечья с полным и частичным сохранением ротационных движений предплечья.

Технология чрескостного остеосинтеза диафизарных переломов костей предплечья предполагает предварительное устранение грубого смещения костных фрагментов при помощи скелетного вытяжения с помощью репозиционной приставки к операционному столу и их фиксацию с помощью аппарата внешней фиксации.

Предплечье независимо от уровня перелома устанавливается в положении, среднем между супинацией и пронацией. С помощью distraction достигается диастаз между костными фрагментами 3–4 мм для облегчения репозиции. На поверхность кожи накла-

дываются рентгенконтрастные метки и выполняется рентгенография в двух стандартных проекциях или используется ЭОП. Сегмент делится на восемь равноудаленных уровней и отмечаются позиции введения чрескостных элементов.

При чрескостном остеосинтезе используются стержни-шурупы Ø 6,0 мм. Для введения стержня-шурупа предварительно в кости делается канал сверлом Ø 3,2 мм, затем вводится стержень-шуруп до выхода из второго кортикального слоя не более 3 мм. В метафизарной зоне кости достаточно сформировать канал шилом. Чрескостные элементы фиксируются к внешней опоре с помощью кронштейнов, прокладочных шайб или в репозиционных узлах.

Исследование микроциркуляторного русла проводили на реографе-полианализаторе РГПА 6-12 «РЕАН-ПОЛИ». Статистическую обработку полученных данных осуществляли методами вариационной статистики. Для оценки достоверности различий использовали стандартные значения критерия Стьюдента. Регистрацию РВГ проводили до операции, и затем на 1-е, 7-е, 14-е, 21-е сутки после операции. Определяли средние значения основных показателей реовазограммы: реографический индекс (РИ), отражающий величину пульсового кровенаполнения в исследуемой области; дикротический индекс (Дик. И), отражающий преимущественно тонус артериол; диастолический индекс (Диас. И), отражающий состояние оттока крови в вены и тонус вен; показатель периферического сопротивления ППСС, характеризующий состояние микроциркуляции и индекс венозного оттока (ИВО), характеризующий венозный отток.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Динамика реографических показателей у больных с переломом диафиза обеих костей предплечья в основной группе и группе клинического сравнения представлена в таблице 1 и на рисунке 1.

До операции в обеих группах все реографические показатели значительно отличались от нормы (табл. 1, рис. 1), указывая на грубые нарушения всех звеньев регионарного кровотока. Постепенная положительная динамика показателей реовазографии имела место в обоих случаях. Однако темпы восстановления регионарного кровотока в группах обследованных имели значимые отличия. Так, в основной группе на 14-й день обследования показатели: ППСС, дикротический и диастолический индексы, ИВО, уже имели нормальные величины, а на 21-й день значения всех исследуемых показателей определялись в пределах нормы. В тоже время в ГКС основные показатели РВГ к 21-му дню наблюдения не достигали нормальных значений.

По результатам проведенного исследования (рис. 1) в основной группе к 21-м суткам реографические показатели имели нормальные значения: РИ увеличился на 84 %, ППС увеличился на 25 %, дикротический индекс снизился на 31 %, диастолический индекс снизился на 24,2 %, в то же время в ГКС перечисленные показатели улучшались значительно медленнее, изменяясь на 22 %, 8,25 %, 10,3 % и 13,8 % соответственно.

Таблица 1

Динамика реографических показателей у больных с переломом диафиза обеих костей предплечья в основной группе и в группе клинического сравнения

Показатели	Группы	До операции	После операции				Норма
			1-е сутки	7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки	
РИ (ом)	ОГ	0,026 ± 0,001	0,028 ± 0,001	0,036 ± 0,001	0,046 ± 0,001	0,074 ± 0,001	0,06–0,1
	ГКС	0,022 ± 0,001	0,026 ± 0,001	0,032 ± 0,001	0,039 ± 0,001	0,049 ± 0,001	
ППСС	ОГ	62,2 ± 0,3	60,1 ± 0,2	57,8 ± 0,3	50 ± 0,7	46,7 ± 0,3	45–55
	ГКС	65,4 ± 0,3	62,7 ± 0,3	62,1 ± 0,3	61,2 ± 0,3	60,0 ± 0,05	
Дик.И	ОГ	59,4 ± 0,3	57,6 ± 0,3	53,8 ± 0,4	50,8 ± 0,3	41,5 ± 0,3	35–48
	ГКС	62,1 ± 0,3	61,0 ± 0,4	59,3 ± 0,1	58,5 ± 0,1	55,7 ± 0,4	
Диас.И	ОГ	61,2 ± 0,2	59,5 ± 0,2	57,4 ± 0,2	51,9 ± 0,3	46,4 ± 0,2	45–55
	ГКС	63,2 ± 0,3	62,3 ± 0,3	60,0 ± 0,3	58,5 ± 0,3	54,5 ± 0,3	
ИВО	ОГ	22,1 ± 0,4	21,4 ± 0,3	19,6 ± 0,5	18,7 ± 0,4	17,9 ± 0,4	5–25
	ГКС	26,3 ± 0,3	25,6 ± 0,2	24,9 ± 0,2	24,6 ± 0,2	24,2 ± 0,2	

Примечание. * – достоверность отличий показателей от нормы ($p < 0,05$); ОГ – основная группа; ГКС – группа клинического сравнения.

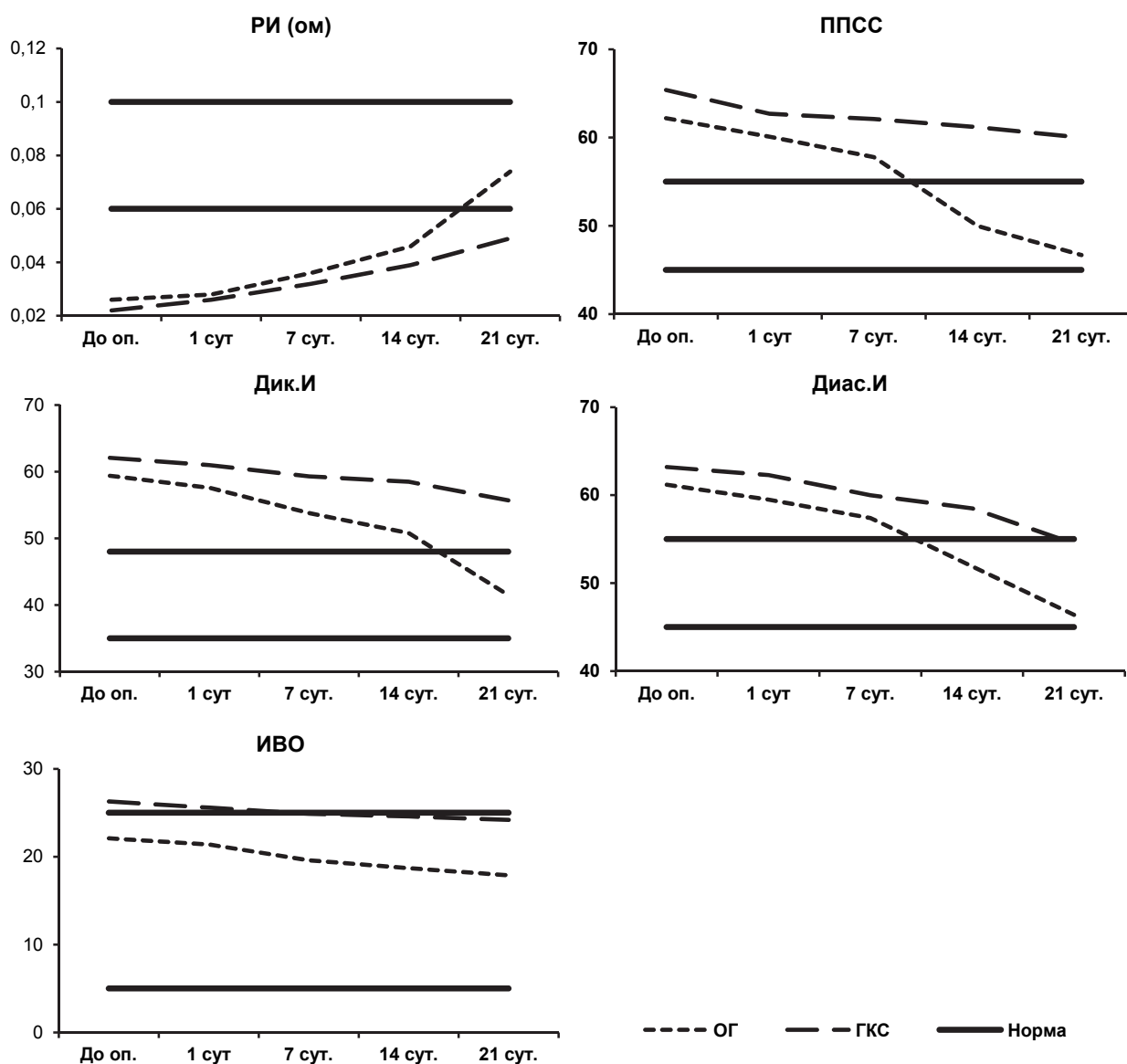


Рис. 1. Динамика реографических показателей у больных с переломом диафиза обеих костей предплечья.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что у больных с переломом обеих костей предплечья при фиксации костных фрагментов аппаратом внешней фиксации стержневой компоновки с сохранением ротационной функции отмечается восстановление показателей пульсового кровенаполнения, микроциркуляторного русла, нормализацией венозного оттока на 21-е сутки. Регионарное кровообращение после хирургического лечения оценивается легкой степенью ишемии.

В группе больных с переломом обеих костей предплечья при фиксации костных отломков аппаратом внешней фиксации спице-стержневой компоновки с ограничением ротационных движений результаты реографического исследования после хирургического лечения протекают в условиях низкого уровня кровотока и тонуса периферических сосудов и оцениваются более тяжелой степенью ишемии.

Таким образом, полученные результаты реографического исследования позволяют признать высокую эффективность применения чрескостного остеосинтеза аппаратами внешней фиксации стержневой компоновки с сохранением движений в смежных с поврежденным сегментом суставах.

ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES

- Верхозина Т.К., Ипполитова Е.Г., Васильев В.Ю. Оценка периферической гемодинамики у больных с остеоартрозом коленного сустава 3–4 стадии // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2010. – Т. 97, № 6. – С. 48–50.
- Verkhosina T.K., Ippolitova E.G., Vasilyev V.Yu. Assessment of peripheral hemodynamics in patients with osteoarthritis of knee joint of 3–4th degree // Sibirskij medicinskij zhurnal (Irkutsk). – 2010. – Vol. 97, N 6. – P. 48–50. (in Russian)
- Верхозина Т.К., Ипполитова Е.Г., Цысляк Е.С. Оценка периферической гемодинамики у больных с дискогенным пояснично-крестцовым радикулитом после удаления грыжи диска // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2011. – Т. 105, № 6. – С. 63–66.
- Verkhosina T.K., Ippolitova E.G., Tsyslyak E.S. Assessment of peripheral hemodynamics in patients with discogenic lumbosacral radiculitis after diskal hernia excision // Sibirskij medicinskij zhurnal (Irkutsk). – 2011. – Vol. 105, N 6. – P. 63–66. (in Russian)
- Илизаров Г.А. Чрескостный компрессионный остеосинтез аппаратом автора: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Курган, 1968. – 56 с.
- Ilizarov G.A. Transosseous compression osteosynthesis by the author's device: abstract of dissertation of Candidate of Medical Sciences. – Kurgan, 1968. – 56 p. (in Russian)
- Ипполитова Е.Г., Кинаш И.Н., Переломов Ю.П. и др. Центральная гемодинамика как маркерный механизм жизнеобеспечения защитно-адаптационных реакций организма при эндопротезировании тазобедренного сустава // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2002. – Т. 2, № 6. – С. 168–170.
- Ippolitova E.G., Kinash I.N., Perelomov Yu.P. et al. Central hemodynamics as an index mechanism of life support of defense-adaptive reaction of an organism at the hip replacement // Bjul. VSNC SO RAMN. – 2002. – Vol. 2, N 6. – P. 168–170. (in Russian)
- Кинаш И.Н., Кошкарева З.В., Ипполитова Е.Г., Верхозина Т.К. Функциональное состояние организма больных диспластическим коксартрозом 3–4 степени до и после операции // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2005. – № 6. – С. 39–41.
- Kinash I.N., Koshkareva Z.V., Ippolitova E.G., Verkhosina T.K. Functional state of an organism of patients with dysplastic coxarthrosis of the 3–4th degree before and after the operation // Bjul. VSNC SO RAMN. – 2005. – N 6. – P. 39–41. (in Russian)
- Кинаш И.Н., Пусева М.Э., Верхозина Т.К., Ипполитова Е.Г. Особенности кровотока при лечении диафизарных повреждений локтевой кости методом чрескостного остеосинтеза // Сборник научной практической конференции «Прикладные научные разработки» (27 июля – 5 августа 2014 г., Чехия). «Aplikovanevedeckenovinky – 2014» – Dil 13. Lekarstvi. – 2014. – С. 45–49.
- Kinash I.N., Puseva M.E., Verkhosina T.K., Ippolitova E.G. Peculiarity of blood flow at the treatment of diaphyseal injuries of ulnar bone by the method of transosseous osteosynthesis // Sbornik nauchno-prakticheskoy konferencii «Prikladnye nauchnye razrabotki». «Aplikovanevedeckenovinky – 2014» – Dil 13. Lekarstvi. – 2014. – P. 45–49. (in Russian)
- Пусева М.Э., Тишков Н.В., Васильев В.Ю., Гришин М.М. и др. Лечение диафизарных переломов и последствий травм костей предплечья // Матер. межд. конгресса «Современные технологии в травматологии и ортопедии». – М., 2004. – С. 138–139.
- Puseva M.E., Tishkov N.V., Vasilyev V.Yu., Grishin M.M. et al. Treatment of diaphyseal fractures and consequences of forearm bones injuries // Mater. mezhd. kongressa «Sovremennye tehnologii v travmatologii i ortopedii». – Moscow, 2004. – P. 138–139. (in Russian)
- Онопrienko Г.А. Васкуляризация костей при переломах и дефектах. – М.: Медицина, 1993. – 224 с.
- Onoprienko G.A. Vascularization of bones at fractures and defects. – Moscow: Medicina, 1993. – 224 p. (in Russian)
- Соломин Л.Н. Основы чрескостного остеосинтеза аппаратом Г.А. Илизарова. – СПб.: ООО «МОРСАР АВ», 2005. – 544 с.
- Solomin L.N. Basics of transosseous osteosynthesis by Ilizarov apparatus. – Saint-Petersburg, 2005. – 544 p. (in Russian)
- Сысенко Ю.М. Чрескостный остеосинтез по Илизарову при лечении больных с закрытыми диафизарными оскольчатыми переломами длинных трубчатых костей верхней конечности: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – СПб., 1999. – 48 с.
- Sysenko Yu.M. Ilizarov transosseous osteosynthesis at the treatment of patients with closed diaphyseal comminuted fractures of long bones of upper extremity: abstract of dissertation of Doctor of Medical Sciences. – Saint-Petersburg, 1999. – 48 p. (in Russian)

11. Фаддеев Д.И. Значение стабильной фиксации при погружном и чрескостном остеосинтезе несросшихся и диафизарных переломов и ложных суставов костей предплечья // Современные технологии в травматологии и ортопедии: матер. научн. конф. – М., 1999. – С. 187–188.

Faddeev D.I. Significance of stable fixation at external and transosseous osteosynthesis of non-united and diaphyseal fractures and false joints of forearm bones // Sovremennye tehnologii v travmatologii i ortopedii: mater. nauchn. konf. – Moscow, 1999. – P. 187–188. (in Russian)

12. Фишкин В.П., Львов С.Е., Удальцов В.Е. Регионарная гемодинамика при переломах костей. – М.: Медицина, 1981. – 184 с.

Fishkin V.P., Lvov S.E., Udaltsov V.E., Regional hemodynamics at the bone fractures. – Moscow: Medicina, 1981. – 184 p. (in Russian)

13. Швед С.И., Шевцов В.И., Сысенко Ю.М. Лечение больных с переломами костей предплечья методом чрескостного остеосинтеза. – Курган, 1997. – 294 с.

Shved S.I., Shevtsov V.I., Sysenko Yu.M. Treatment of patients with forearm bones fractures by the transosseous osteosynthesis. – Kurgan, 1997. – 294 p. (in Russian)

14. Pauwels F. Funktionelle Anpassung des knochens-durchlangenwachstum // Verh. Dtsch. Orthop. Ges. 45. Kongr. – 1958. – P. 1–43.

Сведения об авторах

Пусева Марина Эдуардовна – кандидат медицинских наук, заведующая травматолого-ортопедическим отделением Иркутского научного центра хирургии и травматологии, доцент кафедры травматологии, ортопедии и нейрохирургии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1; тел.: 8 (3952) 29-03-65)

Кинаш Ирина Николаевна – кандидат биологических наук, врач-лаборант отделения лабораторной диагностики Иркутского научного центра хирургии и травматологии

Верхозина Татьяна Константиновна – кандидат медицинских наук, заведующая отделением функциональных методов диагностики и лечения Иркутского научного центра хирургии и травматологии, доцент кафедры рефлексотерапии и косметологии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования

Information about the authors

Puseva Marina Eduardovna – Candidate of Medical Sciences, Head of Traumatology and Orthopedic Unit of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Assistant Professor of the Department of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery of Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education (664003, Irkutsk, ul. Bortsov Revolutsii, 1; tel.: +7 (3952) 29-03-65)

Kinash Irina Nikolaevna – Candidate of Biological Sciences, Medical Laboratory Scientist of the Department of Laboratory Diagnostics of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology

Verkhovina Tatiana Konstantinovna – Candidate of Medical Sciences, Head of the Unit of Functional Methods of Diagnostics and Treatment of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Assistant Professor of the Department of Reflexotherapy and Cosmetology of Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education

О.Б. Щукина ¹, Э.А. Кондрашина ¹, А.М. Харитидис ¹, А.В. Ботина ², Е.А. Маркова ³

ОЦЕНКА ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ С КЛИНИЧЕСКОЙ РЕМИССИЕЙ ЯЗВЕННОГО КОЛИТА

¹Северо-Западный государственный университет имени И.И. Мечникова (Санкт-Петербург)²Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова (Санкт-Петербург)³Городская клиническая больница № 31 (Санкт-Петербург)

Изучение гистологических изменений в слизистой оболочке у пациентов с клинической ремиссией язвенного колита и сопоставление этих изменений с эндоскопическими показателями показало, что повышение количества эозинофилов и/или повышение плотности клеточного инфильтрата в слизистой оболочке чаще сопровождалось другими признаками отсутствия заживления слизистой: эрозиями, криптами, гиперплазиями лимфоидных структур и инфильтрацией слизистой оболочки кишки нейтрофильными лейкоцитами. Для подтверждения полной ремиссии заболевания необходим гистологический контроль для исключения признаков воспаления.

Ключевые слова: язвенный колит, заживление слизистой оболочки, эозинофилы, повышение плотности инфильтрата

EVALUATION OF HISTOLOGICAL PARAMETERS IN PATIENTS WITH CLINICAL REMISSION OF ULCERATIVE COLITIS

O.B. Shchukina ¹, E.A. Kondrashina ¹, A.M. Kharitidis ¹, A.V. Botina ², E.A. Markova ³¹Mechnikov North-Western State University, St. Petersburg²First St. Petersburg State Medical University, St. Petersburg³City Clinical Hospital N 31, St. Petersburg

Goal of the study: to examine histological changes in the mucosa of patients with clinical remission of ulcerative colitis and compare these changes with endoscopic parameters.

Methods: 25 patients with clinical remission of ulcerative colitis underwent fibrocolonoscopy with biopsy and histological assessment of disease activity on the Gebos scale. Due to limited number of observations, it was possible to identify comparable study and control groups only for two parameters: increased eosinophil count and increased density of infiltrate in the mucosa.

Results of the study: erosions, cryptitis, hyperplasia of lymphoid structures and infiltration of the intestinal mucosa with neutrophilic leukocyte often observed in the presence of increased eosinophil count in the mucosa and/or increased density of the cellular infiltrate.

Conclusion: increased eosinophil count and/or increased density of the cellular infiltrate in the mucosa often accompanied by other signs of lack of the mucosa healing. Confirmation of complete remission of the disease requires histological control for exclusion of the inflammation signs.

Key words: ulcerative colitis, mucosal healing, eosinophils, increased density of infiltrate

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день язвенный колит (ЯК) считается медикаментозно неизлечимым заболеванием и требует постоянной поддерживающей терапии, поэтому основной целью лечения является достижение глубокой и стойкой ремиссии. Но, к сожалению, до сих пор отсутствует четкое определение ремиссии и стандартизированные ее критерии. Не утихают споры о необходимости достижения не только клинической, но и эндоскопической и даже гистологической ремиссии [1, 14, 18, 24]. В повседневной клинической практике многие врачи продолжают оценивать эффективность лечения и определять возможность перевода на поддерживающую терапию по исчезновению симптоматики, назначая контрольное эндоскопическое исследование лишь при отрицательной динамике в состоянии пациентов [14].

Хотя прогностическое значение заживления слизистой оболочки (ЗСО) было впервые выявлено R. Wight и S.C. Truelove еще в 1966 г. [27], этот термин рассматривается как неоднозначный, так как

может быть связан как с эндоскопическими, так и с гистологическими аспектами, и в настоящее время его стандартизированного определения не существует [9]. В то же время преимущества достижения ЗСО с разрешением воспаления проявляются более низкими показателями возникновения рецидивов заболевания, госпитализации, колэктомии, назначения иммуносупрессивной терапии и развития колоректального рака [3, 10, 12].

Эндоскопический консенсус Европейской организации по изучению ЯК и болезни Крона (2013 г.) рекомендует при проведении светового эндоскопического исследования оценивать ЗСО с помощью шкалы Мейо [2]. Но отмечает, что оно может варьировать от легкой эритемы, зернистости и контактной ранимости [8, 10] до более строгого определения как нормальной слизистой в отсутствии язв (макро- и микроскопических), с эндоскопической оценкой 0 и отсутствием контактной ранимости [22]. Однако и эндоскопическое ЗСО не обязательно подразумевает, что оно также происходит на микроскопическом уровне [11].

Таблица 1

Распределение больных по группам исследования и контроля

Гистологический признак	Группы	Отделы кишки		
		восходящая	нисходящая	прямая
Повышение количества эозинофилов в слизистой оболочке кишки	Группа исследования (количество больных с наличием признака)	15	16	17
	Группа контроля (количество больных с отсутствием признака)	10	9	8
Повышение плотности инфильтрата в слизистой оболочке кишки	Группа исследования (количество больных с наличием признака)	16	17	16
	Группа контроля (количество больных с наличием признака)	9	8	9

Общепринятого определения гистологического ЗСО тоже не существует. Его признаками считаются как нормальная слизистая оболочка, так и сочетание снижения плотности клеточного инфильтрата за счет уменьшения/отсутствия нейтрофильных лейкоцитов, с типичными для ЯК изменениями архитектоники крипт и/или атрофией, [25] в отсутствии криптитов и крипт-абсцессов.

Одни исследователи отмечают, что больные с постоянно активным микроскопическим воспалением имеют более высокий риск рецидива болезни по сравнению с пациентами с нормальной гистологической картиной [6, 19, 20]. Другие авторы считают, что, хотя ЗСО и связано с оптимальными исходами при ЯК, однако не ясно приводит ли полное ЗСО к лучшим результатам, нежели частичное заживление [21]. А связь между клиническими, эндоскопическими и гистологическими признаками ремиссии весьма умеренна. Так, согласно данным S. Thomas et al. (2009), у трети пациентов с наличием клинических симптомов выявлялась гистологическая ремиссия.

Целью нашего пилотного исследования было изучить гистологические изменения в слизистой оболочке у пациентов с клинической ремиссией ЯК и сопоставить их между собой, а также с эндоскопическими показателями.

МЕТОДИКА

Нами было обследовано 25 больных ЯК. На момент включения в исследование у всех пациентов отмечалась клиническая ремиссия заболевания на протяжении от 2 до 17 месяцев. Она была достигнута на фоне лечения разными лекарственными средствами: препараты 5-аминосалициловой кислоты (5-АСК), глюкокортикостероиды, азатиоприн, ремикейд. Всем больным была выполнена фиброколоноскопия с оценкой ЗСО по эндоскопическому индексу тяжести

UCEIS (наличие сосудистого рисунка, отсутствие кровоточивости, эрозий и язв) [2]. Забранные из восходящей, нисходящей и прямой кишок биоптаты помещали в раствор забуференного нейтрального 10% формалина, далее по стандартной методике изготавливали парафиновые блоки и гистологические препараты, окрашенные гематоксилином и эозином. При последующем гистологическом исследовании в препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, оценивали наличие: криптитов, крипт-абсцессов, эрозий, повышения плотности клеточного инфильтрата, базального плазмацитоза, гиперплазии лимфоидных структур (ГЛС), повышения количества нейтрофильных и эозинофильных лейкоцитов в составе инфильтрата.

В зависимости от наличия или отсутствия гистологических признаков в каждом из обследованных отделов кишки, были сформированы группы исследования и контроля. В группе исследования изучаемый параметр присутствовал, а в группе контроля его не было. Из данного количества наблюдений удалось выделить статистически сопоставимые группы лишь по двум показателям: повышению количества эозинофилов в инфильтрате и повышению плотности клеточного инфильтрата в слизистой оболочке (табл. 1).

Статистическая обработка результатов осуществлялась с использованием пакета программ «STATISTICA for Windows» (версия 5.5). Сравнение показателей проводилось с использованием непараметрических и параметрических методов (критерии Манна – Уитни, Стьюдента, хи-квадрат). Статистически значимыми различия считались при уровне $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При сравнении анамнестических данных нами было выявлено, что у пациентов с повышением

Таблица 2

Длительность ремиссии ЯК в разных группах (в месяцах)

	Повышение количества эозинофилов		Повышение плотности инфильтрата	
	Группа исследования (с наличием признака)	Группа контроля (с отсутствием признака)	Группа исследования (с наличием признака)	Группа контроля (с отсутствием признака)
Слизистая восходящей кишки	5,8 ± 1,4	13,2 ± 3,5	5,6 ± 1,6	12,8 ± 3,4
Слизистая нисходящей кишки	4,6 ± 0,5*	11,7 ± 2,9*	5,0 ± 0,8*	12,7 ± 3,2*

Примечание. * – критерий $p < 0,05$.

плотности инфильтрата, в котором имеются эозинофилы в слизистой оболочке нисходящей кишки, длительность ремиссии была достоверно короче, чем в группе контроля. Эта же тенденция к меньшей продолжительности клинической ремиссии наблюдалась у больных с аналогичными гистологическими признаками в слизистой восходящей кишки (табл. 2).

По данным фиброколоноскопии, у 76 % наших пациентов (19 больных из 25) эндоскопический индекс тяжести был равен 0. Однако, несмотря на клиническую ремиссию ЯК, у 24 % наших пациентов при проведении фиброколоноскопии были обнаружены эрозии, UCEIS = 1. Кроме того, сопоставляя гистологические и эндоскопические параметры, мы установили, что у 50 % пациентов с повышением плотности инфильтрата в слизистой нисходящей кишки визуализировались эрозии в левом фланке, а в контрольной группе ни у одного больного (рис. 1) их не было ($p < 0,05$).



Рис. 1. Состояние слизистой оболочки нисходящей кишки у больного с клинической ремиссией язвенного колита.

В группе с наличием повышенного количества эозинофилов в слизистой восходящей кишки отмечалась тенденция к более частому выявлению эрозий в правом фланке, чем у больных, у которых не было эозинофильной инфильтрации в этой зоне (30 и 0 % соответственно). Такая же тенденция обнаруживалась у больных с повышением плотности инфильтрата в слизистой прямой кишки (33 и 0 % соответственно), но эти различия оказались недостоверными. Заслуживает внимания тот факт, что почти у половины пациентов, у которых отсутствовали эндоскопические проявления ЯК, имелись признаки гистологической активности в слизистой оболочке того или иного сегмента кишки: у 47,4 % была повышена плотность клеточного инфильтрата, у 42,1 % обнаруживалось увеличение количества эозинофилов.

При сопоставлении гистологических параметров выяснилось, что в слизистой оболочке восходящей кишки при наличии повышения плотности инфи-

трата и количества эозинофилов достоверно чаще обнаруживались криптиты (у 44,4 и 40 % больных соответственно, по сравнению с 0 %). В других же отделах кишки (нисходящей, прямой) обнаруживалась лишь такая тенденция, но различия между группами исследования и контроля не достигали статистического уровня значимости.

Частота выявления ГЛС в слизистой восходящей кишки при наличии в ней эозинофилов составляла 40 %, при отсутствии же эозинофильной инфильтрации ГЛС в слизистой тоже не наблюдалось ($p < 0,05$). В других отделах кишки (нисходящей, прямой) значимых различий по частоте ГЛС между больными с наличием повышения эозинофилов в слизистой и их отсутствием не было (44,4 % по сравнению с 12,5 % и 37,5 % по сравнению с 29,4 %, соответственно). Если же у пациентов наблюдалось повышение плотности инфильтрата в слизистой всех трех отделов кишки, то и ГЛС обнаруживалась там достоверно чаще (44,4 % по сравнению с 0 %, 62,5 % по сравнению с 5,8 % и 66,6 % по сравнению с 12,5 %, соответственно). В группе больных с повышением плотности инфильтрата достоверно чаще обнаруживались нейтрофилы в слизистой оболочке прямой кишки (в 44,4 %), чем в группе контроля (0 %). В группах исследования также наблюдалась тенденция к большей частоте выявления нейтрофилов в слизистой восходящей (33,3 % по сравнению с 0 %) и нисходящей кишки (37,5 % по сравнению с 0 %).

В случае наличия повышенного количества эозинофилов в слизистой восходящей и нисходящей кишок в этих же отделах достоверно чаще отмечалось повышение плотности инфильтрата (80 % по сравнению с 6,6 % и 77,8 % по сравнению с 6,3 %, соответственно).

Морфологическое исследование выявило большую частоту эрозий в нисходящей кишке и прямой кишке в группе больных, у которых в слизистой оболочке было установлено повышение плотности инфильтрата (62,5 % по сравнению с 0 % и 44,4 % по сравнению с 0 %, соответственно, $p < 0,05$). В слизистой восходящей кишки эрозии тоже обнаруживались лишь в группе исследования (22,2 %), но различия были недостоверными.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты нашего исследования продемонстрировали, что, несмотря на кажущееся благополучие, проявляющееся в полном исчезновении клинической симптоматики, у части больных ЯК сохранялась как эндоскопическая, так и гистологическая активность и отсутствовало ЗСО. Так, в группах исследования, характеризующихся наличием повышенного количества эозинофилов (рис. 2) и/или повышением плотности клеточного инфильтрата, чаще обнаруживались эрозии (как при эндоскопическом исследовании, так и при гистологической оценке), криптиты, ГЛС и нейтрофильная инфильтрация слизистой оболочки толстой кишки, свидетельствующие об активном воспалительном процессе и отсутствии полноценного ЗСО.

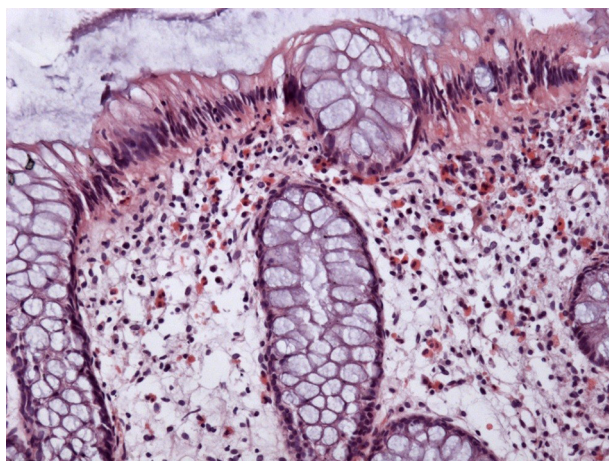


Рис. 2. Язвенный колит, повышение количества эозинофильных лейкоцитов в составе инфильтрата. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 200$.

Это согласуется с данными многих зарубежных исследователей [10, 15], которые отрицают ассоциацию клинических данных с ЗСО. Возможно, что в нашей работе наблюдающееся сохранение активности ЯК отчасти обусловлено тем, что в группы исследования вошли пациенты с меньшей продолжительностью клинической ремиссии, чем в группы контроля.

Наличие в слизистой оболочке толстой кишки диффузного воспалительного инфильтрата признано с одним из микроскопических признаков активного ЯК [16]. Влияние эозинофилов на патогенез ЯК и на течение болезни в настоящее время остается менее ясным. Но их обнаружение в составе инфильтрата ассоциируется с ранним возобновлением клинической симптоматики [4, 26]. Эксперты Европейского консенсуса по гистопатологическим исследованиям при воспалительных заболеваниях кишечника (2013 г.) также утверждают, что присутствие эозинофилов и повышение плотности инфильтрата в слизистой оболочке кишки относятся к перечню тех морфологических параметров, наличие которых при бессимптомном ЯК является предвестником скорого клинического рецидива болезни [16].

На наш взгляд, у пациентов с клинической ремиссией ЯК необходимо не только контрольное эндоскопическое исследование, но и подтверждение глубокой ремиссии заболевания патоморфологической оценкой состояния слизистой. Наша точка согласуется с мнением многих авторов [1, 5, 9, 13], что именно гистологическое ЗСО должно быть конечной целью на данном этапе лечения. Сохраняющееся активное микроскопическое воспаление является предиктором скорого клинического рецидива, при этом его прогностическая информативность выше, чем у эндоскопических признаков активности ЯК [6, 19, 20]. Отсутствие гистологического ЗСО может быть также связано с большим риском госпитализации [7] и развитием осложнений (дисплазии, колоректального рака) [12, 20].

Результаты контрольного гистологического исследования (рис. 3) должны быть основанием для принятия решения о возможности начала перехода к поддерживающей терапии, ее составе и дозировках выбранных лекарственных препаратов.

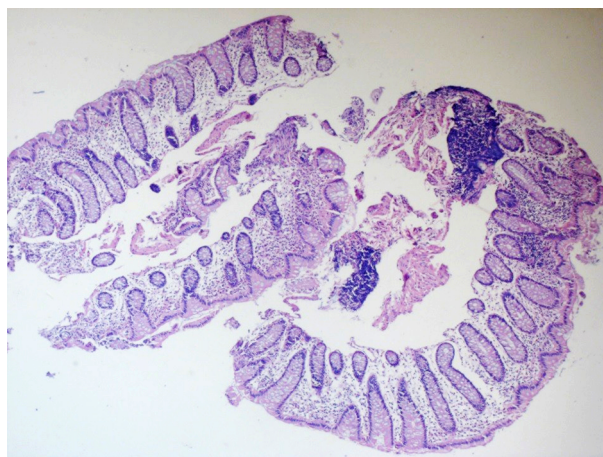


Рис. 3. Язвенный колит, фаза ремиссии. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 40$.

Более того, отдельные авторы [17] считают, что именно на основании полного гистологического ЗСО можно выделить группу больных ЯК с длительной клинической и эндоскопической ремиссией, у которых иммуномодуляторы, средства биологической терапии (инфликсимаб, голимумаб и др.) могут быть отменены.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на отсутствие клинических проявлений ЯК, повышение эозинофилов и/или повышение плотности клеточного инфильтрата в слизистой оболочке, чаще сопровождалось другими признаками активности (эрозиями, криптитам, ГЛС и нейтрофильной инфильтрацией), свидетельствующими об отсутствии ЗСО.

Для подтверждения ремиссии ЯК даже в случае стойкого исчезновения симптомов и эндоскопического ЗСО целесообразно проведение контрольного гистологического исследования.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Владимирова А.А., Неустроев В.Г., Чашкова Е.Ю., Раевская Л.Ю. Дифференциальная диагностика воспалительных заболеваний толстой кишки // Клиническая эндоскопия. – 2011. – № 1 (27). – С. 2–13
Vladimirova A.A., Neustroyev V.G., Chashkova E. Yu., Rayevskaya L.Yu. Differential diagnostics of colon inflammatory disorders // Klinicheskaya endoskopiya. – 2011. – N 1 (27). – P. 2–13.
2. Annese V, Dapernob M., Rutter M.D. et al. European evidence based consensus for endoscopy in inflammatory bowel disease // J. Crohn's Colitis. – 2013. – N 7. – P. 982–1018.
3. Ardizzone S., Cassinotti A., Duca P. et al. Mucosal healing predicts late outcomes after the first course of corticosteroids for newly diagnosed ulcerative colitis // Clin. Gastroenterol. Hepatol. – 2011. – N 9. – P. 483–489.
4. Azad S., Sood N., Sood A. Biological and histological parameters as predictors of relapse in ulcerative colitis: a prospective study // Saudi J. Gastroenterol. – 2011. – Vol. 17. – P. 194–198.
5. Baars J.E., Nuij V.J., Oldenburg B. et al. Majority of patients with inflammatory bowel disease in clinical

remission have mucosal inflammation // *Inflamm. Bowel Dis.* – 2012. – Vol. 18. – P. 1634–1640.

6. Bitton A., Peppercorn M.A., Antonioli D.A. et al. Clinical, biological, and histologic parameters as predictors of relapse in ulcerative colitis // *Gastroenterology.* – 2001. – Vol. 120. – P. 13–20.

7. Burger D., Thomas S., Walsh A. et al. Depth of remission may not predict outcome of UC over 2 years // *Gut.* – 2011. – Vol. 60. – P. A133.

8. Colombel J.F., Rutgeerts P., Reinisch W. et al. Early mucosal healing with infliximab is associated with improved long-term clinical outcomes in ulcerative colitis // *Gastroenterology.* – 2011. – Vol. 141. – P. 1194–1201.

9. D'Haens G., Sandborn W.J., Feagan B.G. et al. A review of activity indices and efficacy end points for clinical trials of medical therapy in adults with ulcerative colitis // *Gastroenterology.* – 2007. – Vol. 132. – P. 763–786.

10. Frøslie K.F., Jahnsen J., Moum B.A., Vatn M.H. Mucosal healing in inflammatory bowel disease: results from a Norwegian population based cohort // *Gastroenterology.* – 2007. – Vol. 133. – P. 412–422.

11. Geboes K., Dalle I. Influence of treatment on morphological features of mucosal inflammation // *Gut.* – 2002. – Vol. 50, Suppl. 3. – P. III37–42.

12. Gupta R.B., Harpaz N., Itzkowitz S. et al. Histologic inflammation is a risk factor for progression to colorectal neoplasia in ulcerative colitis: a cohort study // *Gastroenterology.* – 2007. – Vol. 133. – P. 1099–1105.

13. Hanauer S.B., Kirsner J.B. Treat the patient or treat the disease? // *Dig. Dis.* – 2012. – Vol. 30. – P. 400–403.

14. Kane S., Lu F., Kornbluth A., Awais D. et al. Controversies in mucosal healing in ulcerative colitis // *Inflamm. Bowel Dis.* – 2009. – Vol. 15. – P. 796–800.

15. Lichtenstein G.R., Rutgeerts P. Importance of mucosal healing in ulcerative colitis // *Inflamm. Bowel Dis.* – 2010. – Vol. 16. – P. 338–346.

16. Magroa F., Langnerb C., Driessen A. et al. European consensus on the histopathology of inflammatory bowel disease // *J. Crohn's Colitis.* – 2013. – Vol. 7. – P. 827–851.

17. Pineton de Chambrun G., Peyrin-Biroulet L., Lemmann M., Colombel J.F. Clinical implications of mucosal

healing for the management of IBD // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* – 2010. – N 7. – P. 15–29.

18. Reinisch W., Van Assche G., Befrits R. et al. Recommendations for the treatment of ulcerative colitis with infliximab: a gastroenterology expert group consensus // *J. Crohn's Colitis.* – 2012. – N 6. – P. 248–258.

19. Riley S.A., Mani V., Goodman M.J. et al. Microscopic activity in ulcerative colitis: what does it mean? // *Gut.* – 1991. – Vol. 32. – P. 174–178.

20. Rubin D., Huo D., Hetzel J. et al. Increased degree of histological inflammation predicts colectomy and hospitalization in patients with ulcerative colitis // *Gastroenterology.* – 2012. – Vol. 132. – P. A19.

21. Stidham R.W., Higgins P.D. Value of mucosal assessment and biomarkers in inflammatory bowel disease // *Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol.* – 2010. – N 4. – P. 285–291.

22. Sutherland L.R., Martin F., Greer S. et al. 5-Aminosalicylic acid enema in the treatment of distal ulcerative colitis, proctosigmoiditis, and proctitis // *Gastroenterology.* – 1987. – Vol. 92. – P. 1894–1898.

23. Thomas S.J., Walsh A.J., Von Herbay A. et al. How much agreement is there between histological, endoscopic and clinical assessments of remission in ulcerative colitis // *Gut.* – 2009. – Vol. 58, Suppl. 1. – P. A101.

24. Travis S.P.L., Higgins P.D.R., Orchard T. et al. Review article: Defining remission in ulcerative colitis // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2011. – Vol. 34. – P. 113–124.

25. Villanacci V., Antonelli E., Geboes K. et al. Histological healing in inflammatory bowel disease: A still unfulfilled promise // *World J. Gastroenterol.* – 2013. – Vol. 19. – P. 968–978.

26. Woodruff S.A., Masterson J.C., Fillon S. et al. Role of eosinophils in inflammatory bowel and gastrointestinal diseases // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 2011. – Vol. 52. – P. 650–661.

27. Wright R., Truelove S.R. Serial rectal biopsy in ulcerative colitis during the course of a controlled therapeutic trial of various diets // *Am. J. Dig. Dis.* – 1966. – N 11. – P. 847–857.

Сведения об авторах

Щукина Оксана Борисовна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры гастроэнтерологии и диетологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова (197110, г. Санкт-Петербург, пр. Динамо, 3; тел.: 8 (812) 235-10-93; e-mail: burmao@gmail.com)

Кондрашина Эллина Александровна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры гастроэнтерологии и диетологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова (e-mail: elalkon@rambler.ru)

Ботина Анна Вячеславовна – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры патологической анатомии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова (e-mail: botinaanna@mail.ru)

Маркова Елена Анатольевна – врач-эндоскопист Городской клинической больницы № 31 (e-mail: markova2408@mail.ru)

Харитидис Александра Михайловна – врач-гастроэнтеролог Городского центра диагностики и лечения ВЗК Городской клинической больницы № 31 (e-mail: akharitidis@gmail.com)

Information about the authors

Shchukina Oksana Borisovna – Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor at the Department of Gastroenterology and Nutrition Science of Mechnikov North-Western State University (197110, Saint-Petersburg, Prospekt Dinamo, 3; tel.: +7 (812) 235-10-93; e-mail: burmao@gmail.com)

Kondrashina Ellina Aleksandrovna – Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor at the Department of Gastroenterology and Nutrition Science of Mechnikov North-Western State University (e-mail: elalkon@rambler.ru)

Botina Anna Vyacheslavovna – Candidate of Medical Sciences, Teaching Assistant at the Department of Pathological Anatomy of Saint-Petersburg First St. Petersburg State Medical University (e-mail: botinaanna@mail.ru)

Markova Elena Anatolyevna – Endoscopist of City Clinical Hospital N 31 (e-mail: markova2408@mail.ru)

Kharitidis Aleksandra Mikhaylovna – Gastroenterologist of City Center of Diagnostics and Treatment of Colon Inflammatory Disorders at City Clinical Hospital N 31 (e-mail: akharitidis@gmail.com)

УДК 577.161.2:616.314-084(571.53)

Т.А. Спасич, Е.П. Лемешевская, Л.А. Решетник, А.В. Виноградова, С.Б. Гармаева

ГИГИЕНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ДЕФИЦИТА ВИТАМИНА D
У НАСЕЛЕНИЯ ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ И ПУТИ ЕГО ПРОФИЛАКТИКИ

Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)

Определен статус витамина D у населения Иркутской области по уровню $25(\text{OH})\text{D}_3$ в сыворотке крови людей разного возраста. Самые высокие показатели обнаружены у детей – $37,78 \pm 1,74$ нг/мл. У мужчин уровень $25(\text{OH})\text{D}_3$ был равен $24,64 \pm 2,33$ нг/мл, у женщин до 70 лет – $21,22 \pm 0,85$, после 70 лет – $15,13 \pm 2,24$ нг/мл, самые низкие показатели найдены у детей с целиакией – $13,43 \pm 2,14$. Более 60 % населения страдают от недостаточности витамина D. Массовая профилактика невозможна из-за ограниченности фортифицированных продуктов питания в торговой сети.

Ключевые слова: витамин D, дефицит, рахит, целиакия, $25(\text{OH})\text{D}_3$

HYGIENIC VALUE OF VITAMIN D DEFICIENCY IN IRKUTSK REGION
AND WAYS OF ITS PREVENTION

T.A. Spasich, I.Y. Tarmayeva, L.A. Reshetnik, A.V. Vinogradova, S.B. Garmayeva

State Medical University of Irkutsk (Irkutsk)

The status of vitamin D in the population of Irkutsk region has been determined by the contents of $25(\text{OH})\text{D}_3$ in blood serum of 268 people of different age. The highest rates were found in children – $37,78 \pm 1,74$ ng/ml. In men the level of activity of $25(\text{OH})\text{D}_3$ was equal to $24,64 \pm 2,33$ ng/ml, in women up to 70 years – $21,22 \pm 0,85$, older than 70 years – $15,13 \pm 2,24$ ng/ml. The lowest rates are found in children with celiac disease – $13,43 \pm 2,14$. More than 60 % of the population suffer from vitamin D deficiency. Yet wide-scale preventive measures are not possible due to limited range of fortified food in the trade network.

Key words: vitamin D, deficiency, rickets, celiac disease, $25(\text{OH})\text{D}_3$

Из общего количества кальция, присутствующего в организме человека, 98,9 % находится в костях, 0,51 % – в зубах, 0,51 % – в мягких тканях, остальные 0,08 % – в плазме крови и внеклеточной жидкости. Общее количество кальция в организме новорожденного составляет около 25 г, но по мере роста и формирования скелета эта величина возрастает до 1,3–1,5 кг. В период бурного роста подростки наращивают более трети общей «взрослой» массы костей, что отражает напряженность процессов обмена кальция в это время и предъявляет жесткие требования к обеспечению этим элементом растущего организма. Интенсивный рост с одновременным морфологическим созреванием создает для костей и зубов ребенка особое положение, при котором дети являются очень чувствительными к любым неблагоприятным воздействиям и в первую очередь – к недостатку витамина D [2]. Поэтому витамин D именуют противорахитическим витамином, важным для прочности костей и зубов. Взаимодействуя с рецепторами, метаболиты витамина D регулируют обмен кальция и фосфора, путем поддержания постоянной концентрации кальция в крови и межклеточной жидкости, увеличивая всасывание кальция и фосфора в кишечнике и реабсорбируя их в дистальных канальцах почек [2, 4].

Нарушения секреции желчи затрудняют всасывание витамина D, что влечет за собой нарушение всасывания и кальция. Это обстоятельство имеет большое значение для детей с нарушенным кишечным всасыванием и, в частности, с целиакией. Недостаточное образование витамина D в коже в условиях низкой инсоляции, малое содержание его в пище и плохое всасывание в кишечнике – основные причины, существенно ухудшающие обеспеченность детского организма витамином D, т.к. до 90 % этого витамина образуется в коже [3]. При недостаточной инсоляции ряд продуктов (сливочное масло, жирная рыба, яичный желток, сырая печень) могут служить дополнительными источниками витамина D [2]. Солнечное облучение, способное обеспечить образование витамина D в коже, в течении всего года возможно лишь в экваториальной зоне и в зоне не выше 34-го градуса северной широты. Для жителей высоких широт, даже в ясные дни синтез витамина D в коже фактически прекращается. Это объясняется тем, что с вращением Земли меняется угол ее оси и толщина атмосферного слоя, через который проходит солнечный луч [5]. Для жителей южных районов Иркутской области солнечное излучение, способное обеспечить образование витамина D в коже, продолжается только 4 месяца в году – с середины апреля до середины

августа, для северных районов – с мая по июль. В течение 8–9 мес. года необходим прием витамина D [3].

Нормы потребления витамина D определены для детей и взрослых как 400 МЕ [2, 4], но дискутируются и более высокие дозы для подростков и женщин на этапе прекоцепции, беременных и кормящих, в постменопаузальном периоде, для спортсменов [7, 8].

Группами риска по гиповитаминозу D являются дети (особенно в периоды ускорения роста), жители промышленных городов, лица, мало бывающие вне помещений, носящие одежду, закрывающую все тело, проживающие в северных широтах, страдающие ожирением, вегетарианцы, женщины, принимающие оральные контрацептивы. Для лиц с темным цветом кожи (конкуренция с меланином) увеличивается время достижения максимума накопления превитамина D в коже (вместо 15 минут – 3 часа) [2]. Жители Прибайкалья относятся к группе риска, т.к. на территории выпадает до 1200 мм осадков в год, из них 80 % – в летний период. В городах с неблагоприятной экологической обстановкой препятствиями на пути солнечного света являются смог и пыль.

Во многих странах для массовой профилактики населения витамином D обогащается все питьевое молоко и/или все соки; в России таких продуктов нет, или их ассортимент крайне ограничен [5, 6].

Рецепторы к витамину D обнаружены у большого числа клеток, и поэтому функциональная роль витамина D не ограничивается регуляцией остеогенеза. Витамин D контролирует более 1000 генов и соответствующих им белков. Доказана его антипролиферотивная роль (подавления гиперпролиферации и канцерогенеза при раке молочной железы и толстого кишечника), дифференцирующая, иммуномодулирующая (при туберкулезе и респираторных инфекциях), нейрорепрессивная, гипотензивная. Возможно, 1,25-дигидроксивитамин D повышает продукцию инсулина и снижает выделение ренина, а также изменяет липогенез в адипоцитах [3]. Витамин D причислен к группе микронутриентов необходимых для питания мозга [8].

Последние исследования привели к переоценке параметров адекватного статуса витамина D и продемонстрировали высокую распространенность его недостаточности у населения южных стран [1]. Научное сообщество волнует проблема гиповитаминоза D у современного человека и ассоциированных с этим эпидемии остеопороза, риска развития диабета, артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, инфарктов и инсультов, а также различных форм рака, аутоиммунных заболеваний и дефектов иммунитета [8].

В настоящее время в лаборатории «Инвитро», в Иркутском областном диагностическом центре имеется реальная возможность определить уровень метаболитов витамина D. Наиболее точным индикатором активности считается $25(\text{OH})\text{D}_3$. Это связано с тем, что $25(\text{OH})\text{D}_3$ характеризуется достаточно длительным периодом полувыведения – около 2–3 недель [4].

Пересмотрена точка зрения об оптимальном уровне $25(\text{OH})\text{D}_3$ в крови, но дискуссии продолжают [5]. Достаточным считается уровень более 40 нг/мл. При уровне $25(\text{OH})\text{D}_3$ в крови более 30 нг/мл достигается баланс между гормонами паращитовидных желез, инициирующих резорбцию кальция из кости и зубов, и активностью $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (1,25-дигидроксивитамина D_3). Содержание $25(\text{OH})\text{D}_3$ менее 30 нг/мл признано как недостаточность. Дефицит витамина D диагностируется при уровне $25(\text{OH})\text{D}_3$ в крови ниже 20 нг/мл [8].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение уровня $25(\text{OH})\text{D}_3$ в сыворотке крови у представителей населения Иркутской области (в частности, у детей с целиакией), а также поиски в торговой сети продуктов питания, обогащенных витамином D.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Методом случайной выборки были анализированы результаты 268 анализов активности $25(\text{OH})\text{D}_3$ в сыворотке крови, выполненные методом радиокурентного связывания в лаборатории «Инвитро» в течение 2010–2014 гг. 47 анализов принадлежали детям, госпитализированным в Ивано-Матренинскую детскую клиническую больницу по случаю ОРВИ и целиакии. Все аналитические данные были распределены по возрастным группам: 47 анализов у детей до 14 лет, 3 анализа – у подростков, 20 анализов принадлежали мужчинам 19–67 лет, 188 анализов – женщинам 19–70 лет и 10 – женщинам старше 70 лет. Рассчитывалось среднее значение оксиколекальциферола и ошибка средней, а также определена доля лиц с оптимальными значениями $25(\text{OH})\text{D}_3$ (более 40 нг/мл), достаточным уровнем (более 30 нг/мл), недостаточностью витамина D (менее 30 нг/мл) и его дефицитом (менее 20 нг/мл). Все родители детей интервьюированы по поводу профилактики рахита.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Среди детей средний уровень активности $25(\text{OH})\text{D}_3$ составил $37,78 \pm 1,74$ нг/мл, оптимальный уровень $25(\text{OH})\text{D}_3$ имели 39,5 % детей, достаточный – еще 9,3 %. Таким образом, половина детей имели возможность накопления кальция, костной массы и минерализации зубов в соответствии с возрастной физиологией. Каждый четвертый ребенок (25,5 %) имел недостаточный уровень $25(\text{OH})\text{D}_3$ и каждый четвертый – дефицит.

Анкетирование родителей детей первых двух лет жизни показало, что 80 % детей получали профилактику рахита. В осенний период специфическую профилактику получали 80 % детей, в зимнее время – только половина опрошенных, а весной – только 25 %. Достоверных различий в группах между систематическим приемом витамина D и эпизодическим приемом препарата нами не получено, поэтому можно предполагать, что доза сапплементации витамина D, учитывая географическое положение области проживания, является недостаточной.



Рис. 1. Средняя активность 25(OH)D₃ D у жителей Иркутской области.

Среди 3 подростков у темноволосого (фактор риска) мальчика уровень 25(OH)D₃ составлял 11,8 нг/мл, у шатена – 28,5 нг/мл, последний принимал витамины. Этот факт нацеливает на более тщательную необходимость профилактики гиповитаминоза D у темноволосых детей со смуглой кожей. Третий анализ принадлежал девочке 12 лет с латентной целиакией. Активность 25(OH)D₃ у нее была 53 нг/мл. Анализ проведен после двухнедельного пребывания в Таиланде (кровь на анализ была взята через 3 недели после возвращения в Иркутск). Как видно, активность 25(OH)D₃ была высокой. Таким образом, оптимальный уровень 25(OH)D₃ имели 33,3 % подростка, у 33,3 % наблюдалась недостаточность и у 33,4 % – дефицит.

У 20 мужчин 19–67 лет уровень активности 25(OH)D₃ был равен 24,64 ± 2,33 нг/мл, 34,5 % мужчин имели достаточный уровень оксиколекальциферола, 30 % – недостаточность и 34,5 % – дефицит. От интервьюирования о приеме витамина D респонденты отказались.

Среди 188 женщин в возрасте от 19–70 лет не получено различий в активности метаболита витамина D между обследованными в возрасте до 50 лет и женщинами старше 50 лет. Концентрация 25(OH)D₃ у них была низкой и составляла 21,22 ± 0,85 нг/мл. У 18 % активность 25(OH)D₃ превышала 30 нг/мл и была достаточной, у 36,7 % обследованных отмечена недостаточность витамина D и у 45,2 % – дефицит. Среди 10 женщин в возрасте старше 70 лет уровень 25(OH)D₃ составлял 15,13 ± 2,24 нг/мл, у 10 % имела место недостаточность, у 90 % отмечен дефицит 25(OH)D₃.

Раздельно были анализированы показатели обеспеченности витамином D у детей первого года, детей раннего возраста и детей дошкольного возраста с целиакией. Как видно из таблицы 1, показатели активности 25(OH)D₃ у них различаются. У детей до года они выше, так как среди младенцев приверженность профилактики рахита более высокая.

У детей раннего возраста активность оксиколекальциферола составляла 35,06 ± 2,14 нг/мл, достоверной разницы из-за небольшой выборки обследованных с детьми первого года не отмечено ($p = 0,124$)

Таблица 1
Активность 25-оксиколекальциферола в сыворотке у детей Иркутска

Группы детей	№ группы	Значения 25(OH)D ₃ , нг/мл
Дети до 1 года ($n = 17$)	I	39,41 ± 1,71*, **
Дети раннего возраста ($n = 18$)	II	35,06 ± 2,14*, **
Дети с целиакией ($n = 12$)	III	13,43 ± 2,14***

Примечание. * – I и II, $p = 0,124$; ** – I и III, $p = 0,0001$; *** – II и III, $p < 0,001$.

У детей раннего возраста начинали специфическую профилактику рахита в осенний период 60 % детей, зимой их оставалось 37 %. Обобщенный анализ профилактики рахита у детей второго года в г.г. Ангарске, Братске, Иркутске убедил авторов в том, что профилактику рахита после года систематически получают только дети, рожденные преждевременно. В этом же исследовании показано, что если у самой матери имеются серьезные заболевания (сахарный диабет, гипертоническая болезнь и др.) приверженность профилактики в таких семьях высокая.

Возвращаясь к анализу активности 25(OH)D₃ в сыворотке крови у детей раннего возраста, нужно обратить внимание на детей из Домов ребенка ($n = 9$). Они получали специфическую профилактику рахита витамином D, но не систематическую, однако лишены были достаточного длительного пребывания на воздухе. Активность оксиколекальциферола у них была ниже – 32,7 ± 1,64 нг/мл, в сравнении с другими детьми этого возраста – 35,71 нг/мл ($p = 0,476$), что показывает значение факторов неспецифической профилактики рахита у детей.

У 12 детей с целиакией активность 25(OH)D₃ была самой низкой из всех обследованных и составляла 13,43 ± 2,14 нг/мл. У всех 12 детей отмечен дефицит витамина D. Специфическую профилактику монопрепаратами витамина D они не получали, 3 детей получали поливитаминные комплексы («Комплевит», «Алфавит»). В «Комплевите» витамина D нет, а в «Алфавите» количество его очень низкое – 100 МЕ.

В торговой сети г. Иркутска найдены обогащенные витамином D следующие наименования продуктов: творог «Растишка», «Актимель», «Иммунели» (по 1,5 мкг), молоко для беременных и кормящих женщин «АГУ-мама» (0,4 мкг), молока для беременных и кормящих женщин «Янта» (0,75 мкг).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Неспецифическая и специфическая профилактика рахита у детей способствует более высокому статусу 25(OH)D₃ витамина по сравнению со взрослыми. Специфической профилактики рахита в большей степени привержены дети до 1 года. Наиболее тревожная ситуация недостаточности витамина D имеет место для подростков, когда формируется 40 % генетически детерминированной костной массы и у детей с целиакией, в связи с нарушенным кишечным всасыванием.

Отсутствие профилактики рахита у взрослого населения сопряжено с низким статусом витамина D и может быть ассоциировано с высокой частотой остеопороза и переломов костей, эпидемией таких социально-значимых заболеваний как: сердечно-сосудистые, диабет, психические расстройства, онкозаболевания и др.

Массовая профилактика недостаточности витамина D у населения Иркутской области невозможна из-за ограниченности обогащенных продуктов питания в торговой сети. В такой ситуации необходима групповая и индивидуальная профилактика гиповитаминоза D.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Алиева Н.Р., Камилова А.Т. Коррекция нарушений обмена витамина D и кальция у детей с целиакией // Тезисы Ежегодного Международного форума «Питание и здоровье». – М., 2014. – С. 3.

Aliyev N.R., Kamilova A.T. Correction of metabolic disorders of vitamin D and calcium in children with celiac disease // Tezisy Ezhegodnogo Mezhdunarodnogo foruma "Pitanie i zdorov'e". – Moscow, 2014. – P. 3. (in Russian)

2. Мальцев С.В., Архипова Н.Н. Витамин D, кальций и фосфаты у здоровых детей и при патологии. – Казань, 2012. – 112 с.

Maltsev S.V., Arkhipova N.N. Vitamin D, calcium and phosphate in healthy children and pathology. – Kazan, 2012. – 112 p. (in Russian)

3. Ребров В.Г., Громова О.А. Витамины и микроэлементы. – М.: АЛЕВ-В, 2003. – 670 с.

Rebrov V.G., Gromov O.A. Vitamins and trace elements. – Moscow: ALEV-In, 2003. – 670 p. (in Russian)

4. Спиричев В.Б., Шатнюк Л.Н., Поздняковский В.М. Обогащение пищевых продуктов витаминами и минеральными веществами. – Новосибирск: Изд-во Сиб. ун-та, 2005. – 548 с.

Spirichev V.B., Shatnyuk L.N., Pozdnyakovskiy V.M. Food fortification with vitamins and minerals. – Novosibirsk: Publishing House of Siberian University, 2005. – 548 p. (in Russian)

5. Яновский Л.М. Кальций: проблемы повышения оптимума потребления // 7-й ежегодный международный научный форум «Стоматология-2006». – М., 2006. – С. 107–109.

Yanovsky L.M. Calcium: the problem of increasing optimum consumption // 7 ezhegodnyy mezhdunarodnyy nauchnyy forum «Stomatologiya-2006». – Moscow, 2006. – P. 107–109. (in Russian)

5. Chapuy M., Maamer P.M. et al. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population // Osteoporosis int. – 1997 (7). – P. 439–443.

6. Chun R.F., Adams J.S., Hewison M. Back to the future: a new look at «old» vitamin D // J. Endocrinol. – 2008. – Vol. 198 (2). – P. 261–269.

7. Holick M.F. Vitamin D status measurement interpretation and clinical application // Ann. Epidemiol. – 2009. – Vol. 19 (20). – P. 73–78.

Сведения об авторах

Спасич Татьяна Анатольевна – заочный аспирант кафедры гигиены труда и гигиены питания Иркутского государственного медицинского университета, ассистент кафедры общей стоматологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов Иркутского государственного медицинского университета (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1; тел.: (3952) 24-38-25, +7 914 923-12-18; e-mail: miladent@mail.ru)

Лемешевская Елизавета Петровна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой гигиены труда и гигиены питания Иркутского государственного медицинского университета

Решетник Любовь Александровна – доктор медицинских наук, профессор, Заслуженный врач РФ, заведующая кафедрой детских болезней Иркутского государственного медицинского университета

Виноградова Алла Владимировна – кандидат медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой стоматологии общей практики факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов Иркутского государственного медицинского университета

Гармаева Сэрэгма Борисовна – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры детских болезней Иркутского государственного медицинского университета

Information about the authors

Spasich Tatyana Anatolyevna – Extension Postgraduate of the Department of Occupational Health and Nutrition Hygiene of Irkutsk State Medical University, Teaching Assistant of the Department of Dentistry of Irkutsk State Medical University (664003, Irkutsk, ul. Krasnogo Vosstania; tel.: +7 (3952) 24-38-25; e-mail: miladent@mail.ru)

Lemeshevskaya Elizaveta Petrovna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Occupational Health and Nutrition Hygiene of Irkutsk State Medical University

Reshetnik Lubov Aleksandrovna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Honored Doctor of Russian Federation, Head of the Department of Children's Diseases of Irkutsk State Medical University

Vinogradova Alla Vladimirovna – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Dentistry of Irkutsk State Medical University

Garmaeva Seregma Borisovna – Candidate of Medical Sciences, teaching assistant of the Department of Children's Diseases of Irkutsk State Medical University

КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ И ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА

УДК 619:582.284

Е.О. Костромина, В.А. Чхенкели

ПОЛУЧЕНИЕ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩИХ ГРИБОВ

Иркутская государственная сельскохозяйственная академия (Иркутск)

В мире насчитывается большое разнообразие базидиальных грибов, в том числе и грибов-ксилотрофов, которые являются малоизученными в отношении их фармакологических свойств, и в результате перспективным объектом исследования для фармакологии, биотехнологии, ветеринарии и медицины. В данной работе рассматриваются способы создания лекарственных препаратов на основе дереворазрушающих грибов, обладающих выраженным иммуностимулирующим эффектом, антимикробной, антиоксидантной, противоопухолевой активностью.

Ключевые слова: грибы-ксилотрофы, промышленное грибоводство, экстенсивный метод, интенсивный метод, фармацевтический анализ, биотехнология

PREPARATIONS BASED ON WOOD-DECAY FUNGI

E.O. Kostromina, V.A. Chkhenskeli

Irkutsk State Academy of Agriculture, Irkutsk

There is a large variety of basidiomycetes in the world including xylophilic fungi which pharmacological properties are scarcely studied. So they are a promising research object for pharmacology, biotechnology, medicine, and veterinary medicine. This paper considers ways to create medicines based on wood-decaying fungi, producing pronounced immune stimulating effect, antimicrobial, antioxidant, antitumor activity.

Key words: xylophilic fungi, mushroom growing industrial, extensive method, intensive method, pharmaceutical analysis, biotechnology

Цель работы: изучение лекарственных свойств грибов и создание на их основе лекарственных препаратов различного назначения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Прежде, чем говорить о способах выращивания, производства грибов в промышленных масштабах, необходимо знать, сколько в современном мире известно лекарственных грибов и насколько известны их биологически активные вещества, их влияние на организм животных и человека, насколько перспективным объектом в экономическом плане является то или иное семейство грибов с точки зрения биотехнологии, ветеринарии и медицины.

Грибы (лат. *fungi, mycota*) – особая форма жизни, царство живой природы, объединяющее эукариотические организмы, сочетающие в себе некоторые признаки, как растений, так и животных.

Мир грибов является биологически и экологически разнообразным. Они являются неотъемлемой частью всех водных и наземных экосистем, играют важную роль в биосфере, разлагая всевозможные органические материалы. Многие виды грибов активно используются человеком в пищевых, хозяйственных и медицинских целях. В настоящее время описано около 70 тыс. видов грибов, но по некоторым оценкам известно до 1,5 миллионов видов грибов [3].

На протяжении многих веков люди эмпирически отбирали из окружающей их природы то, что было пригодным для питания и лечения, передавая эти знания из поколения в поколение. По этномикологическим сведениям, более 200 видов съедобных, несъедобных и даже ядовитых грибов, наряду с лекарственными растениями, использовались в народной медицине для лечения различных заболеваний.

Еще мыслители древности, обобщая опыт многих поколений людей, посвящали целые трактаты лечебным свойствам различных видов пищи и разумному ее потреблению. Однако решающий шаг в научно-обоснованном понимании полезности того или иного пищевого продукта был сделан только в 60–70-х годах XX столетия. Это стало возможным благодаря успехам, достигнутым в изучении физиологии человека, детальным исследованиям химического состава различных пищевых продуктов и созданию концепции сбалансированного питания, что позволяет при оценке различных продуктов исходить из современных представлений о потребности человека в конкретных, в том числе незаменимых пищевых веществах. Благодаря прогрессивному развитию промышленного грибоводства во всем мире увеличились объемы производства (до 20 млн тонн в год) и потребления культивируемых съедобных грибов определенных видов. Наряду с экономиче-

ской и экологической целесообразностью важными аргументами в пользу дальнейшего увеличения объемов производства культивируемых грибов является их ценность как физиологически функционального пищевого продукта, а также возможность использования отдельных видов макромицетов в качестве объектов современных технологий получения диетических, лечебно-профилактических и лекарственных препаратов [1].

Анализируя данные можно сделать вывод, что царство грибы являются мало изученным перспективным объектом для дальнейшего изучения. Очевидно, что грибы использовали с древнейших времен в пищу и в качестве лекарственного средства, что дало опыт и знания использования данного продукта, благодаря накопленному опыту, который оставили наши предки в рукописях путем передачи из поколения в поколение, дошло до современного мира.

Самыми распространенными биологически активными веществами грибов являются полисахариды, такие как *гликаны*, *гетерогликаны* и *гликозамингликаны*, общее количество которых может достигать 60 % и более от сухой биомассы гриба. Они представляют большой интерес для ученых в связи с высокой неспецифической активностью, действующей через иммунную систему. Также лекарственные препараты на основе высших грибов не являются токсическими по сравнению с препаратами, созданными на основе химического синтеза, или препаратами на основе низших грибов, особенно это относится к антибиотикам [4].

Благодаря лечебным свойствам данных грибов медики всех стран активно изучают их для того, чтобы доказать их лекарственные свойства, основываясь на древних литературных источниках. Результаты этих исследований дают основу для создания новых лекарственных препаратов на основе грибов, которые активно используют из-за их малой токсичности, высокой эффективности, особой направленности.

У нас наибольший интерес вызывают дереворазрушающие грибы, поэтому мы опишем процесс получения лекарственных препаратов на основе дереворазрушающих грибов.

Промышленное грибоводство. В настоящее время наиболее развитой областью практического использования макромицетов является промышленное грибоводство с целью получения плодовых тел. Искусственное выращивание грибов появилось в Китае 1400 лет назад, в Европе – с середины XVII века, в России производство грибов было организовано в 1848 г. В наши дни ежегодный мировой объем производства грибов составляет уже многие миллионы тонн.

Грибоводство – важная отрасль сельского хозяйства. По развитию грибоводства судят об уровне сельскохозяйственного производства, поскольку грибоводство – очень сложная отрасль сельскохозяйственного производства, требующая условий стерильности, четкого воспроизведения технологических режимов [9]. Грибы, которые удалось ввести в культуру, продолжают активно исследовать во многих странах, преимущественно в Китае и Японии, в Западной Европе и США. На сегодняшний день лечение

препаратами на основе шляпочных грибов признано официальной медициной многих стран, в т.ч. США, Канады, Израиля, Новой Зеландии, Германии и др. Особенно активно в этом направлении работают различные онкоцентры, т.к. противоопухолевая активность доказана у многих высших грибов [4].

Процесс получения препаратов на основе дереворазрушающих грибов трудоемкий и требует терпения и внимания. Например, на основе дереворазрушающих грибов получили следующие лекарственные препараты: шизофиллан, лентинан, крестин, бифунгин, Леван-2 и многие др. [1, 8]. Существует два способа выращивания грибов: экстенсивный и интенсивный. Методы выращивания грибов мы рассмотрим на примере гриба шиитаке (*Lentinus edodes*).

Экстенсивный метод выращивания грибов. Шиитаке (*Lentinus edodes* (Berk.) Sing.). Для выращивания грибов необходимо заготовить отрезки древесины – бука, дуба или ольхи. Специфика шиитаке состоит в том, что он не развивается на живой древесине, в то же время этот гриб не может расти на сухой древесине. Поэтому древесину для выращивания шиитаке заготавливают ранней весной или поздней осенью. Древесина должна быть с корой толщиной не более 1 мм, чтобы через кору проникал свет [2]. При культивировании шиитаке для субстрата используют отходы риса, солому злаковых культур, опилки и кору лиственных пород деревьев. К указанным материалам добавляют сахар и добавки, богатые азотом и кальцием. Перед посевом мицелия субстрат подвергают термической обработке. Полиэтиленовые мешки с субстратом устанавливают в помещении с температурой воздуха 24–26 °С и влажностью 80–85 %. Продолжительность обрастания – 1,5–2 месяца [4].

Инокуляция. При инокуляции влажность древесины должна составлять не менее 40–50 %. Мицелий вносят в отрезки древесины и затыкают их деревянными пробками или воском. Заинокулированные мицелием шиитаке отрезки древесины укладывают штабелями в тени деревьев или под навесом. Можно также их поместить в помещение. Температура воздуха в период прорастания мицелия должна быть в пределах 13–27 °С, влажность – 80–85 %. Свет в этот период не нужен. Период инкубации длится 6–8 месяцев в зависимости от вида древесины. **Плодоношение.** После инкубации наступает плодоношение шиитаке. Отрезки древесины устанавливают в затененном участке под деревьями или под навесом. При выращивании шиитаке в искусственных условиях отрезки древесины для стимуляции плодоношения помещают на 2–3 суток в холодную воду или проводят длительный интенсивный полив. Через 7–11 дней после проведения стимуляции при температуре 12–20 °С появляются первые зачатки плодовых тел. Плодоношение шиитаке длится от трех до пяти лет [2].

Интенсивный метод выращивания грибов. Шиитаке (*Lentinus edodes* (Berk.) Sing.). Выращивание шиитаке интенсивным методом в специально оборудованных помещениях с регулируемыми условиями микроклимата имеет существенное преимущество

щество перед экстенсивным: процесс производства плодовых тел может происходить в течение всего года. Урожайность при интенсивном способе более высокая и стабильная, чем при экстенсивном. При интенсивном культивировании возможна механизация и автоматизация производственных процессов [2]. Выращивание шиитаке интенсивным методом можно осуществлять на различных субстратах, основу которых составляют опилки лиственных пород деревьев – ольхи, ивы, березы, дуба, осины и некоторых других пород. Для улучшения питательных свойств субстрата опилки смешивают с отрубями или зерна злаковых культур – ячменя, пшеницы, проса, риса.

Инкубация. В период инкубации нужно поддерживать температуру в пределах 20–30 °С. Влажность в этот период не регулируется, вентиляция помещения не производится, освещение тоже не нужно. Период инкубации длится от 20 до 60 дней, иногда до 120 дней. **Плодоношение.** Для инициации плодоношения шиитаке субстратные блоки аккуратно вынимают из полиэтиленовых мешков и помещают на 2–3 суток в холодную воду. Далее субстратные блоки размещают в помещении для последующего плодоношения. В этот период влажность в помещении должна быть на уровне 85–90 %, а температура в пределах 20 °С. Помещение должно быть освещенным и проветриваемым. Через 7–14 дней появляются зачатки грибов, а еще через 7–14 дней – сформировавшиеся грибы. Шиитаке плодоносит волнами [2].

Сырьем для приготовления лекарственных средств являются собранные в природе или выращенные плодовые тела, а также мицелий (грибница) и культуральная жидкость, образующиеся при искусственном культивировании грибов. Препараты, создаваемые из лекарственных грибов, представляют собой, как правило, спиртовые или масляные вытяжки и их производные [4].

Но прежде чем готовый лекарственный препарат использовать для лечения людей и животных он проходит фармацевтический анализ, который подтверждает, что препарат безопасен для использования, не токсичный и не загрязнен посторонними веществами.

Фармацевтический анализ (ФА) – основа фармацевтической химии имеет свои особенности, отличающие его от других видов анализа. Они заключаются в том, что анализу подвергаются вещества различной химической природы: неорганические, элементоорганические, радиоактивные, органические соединения от простых алифатических до сложных природных биологически активных веществ (БАВ). Объектами фармацевтического анализа являются лекарственные вещества, а также смеси, содержащие различное число компонентов.

В настоящее время более актуально культивировать дереворазрушающие грибы с использованием биотехнологического метода, т.к. все условия для их роста создаются в лаборатории и не зависят от климатических условий, времени года, в отличие от других методов выращивания грибов. Например, на основе гриба-ксилотрофа *Trametes pubescences* (Schumacher:Fr.) Pilat. штамм 0663 получен методом жидкофазной ферментации препарат Траметин. В

экспериментальных условиях изучали активность Траметина *in vivo* на белых нелинейных мышах при моделировании сальмонеллезной инфекции. В результате исследований было установлено, что препарат траметин обладает высокой антимикробной активностью в отношении сальмонеллеза. Траметин усиливает фагоцитарную активность нейтрофилов, а применение препарата в дозе 250 мг/кг оказывает более значимое действие на инфекционный процесс, что приводит к нормализации гематологических показателей крови. Также препарат траметин исследовали при мониторинге на животных различных возрастных групп на молочно-товарных фермах Иркутской области, возбудителем колибактериоза у которых являлись патогенные штаммы энтерогеморрагической кишечной палочки (ЭГКП) серотипа O157:H7. Экспериментально *in vitro* было установлено, что 62,9 % штаммов являются чувствительными к новому ветеринарному препарату траметин. В связи с этим был сделан вывод о том, что данный препарат на основе гриба-ксилотрофа *T. pubescences* может использоваться после проведения клинических испытаний в системе ветеринарно-санитарных мероприятий при борьбе с колибактериозом для его профилактики, лечения. К тому же это экономически обоснованно (стоимость курса лечения теленка составляет 165 руб., что несравнимо с использованием других препаратов) [6, 7].

В Иркутском филиале Института ветеринарии Сибири и Дальнего Востока Россельхозакадемии с использованием современных методов биотехнологии на основе *T. pubescens* ранее был разработан и ветеринарный препарат Леван-2, предназначенный для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний бактериальной этиологии новорожденных телят, обладающий антимикробной активностью в отношении референтных и клинических штаммов микроорганизмов родов *Salmonella*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus* – представителей семейства *Enterobacteriaceae* [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, очевидно, что наиболее эффективным способом выращивания дереворазрушающих грибов является интенсивный метод. При данном методе грибы можно выращивать круглый год в специально оборудованных помещениях с регулируемыми условиями микроклимата. Чтобы получать качественные лекарственные препараты необходимо соблюдать методику их переработки для сохранения всех лекарственных свойств гриба.

Благодаря развитию биотехнологии на основе гриба-ксилотрофа *T. pubescens* в нашем регионе были созданы высокоэффективные ветеринарные препараты Траметин и Леван-2, которые сегодня широко используют для профилактики и лечения желудочно-кишечных болезней молодняка сельскохозяйственных животных в ветеринарной практике. Эти препараты, кроме антимикробного действия, обладают иммуностимулирующей и антиоксидантной активностью, что в дальнейшем позволит использовать их для лечения других патологий животных.

Грибы будут являться еще много лет перспективным объектом для исследования, поскольку из всего разнообразия грибов в настоящее время изучено не более 5 %.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Вассер С.П. Биологические особенности лекарственных макромицетов в культуре: Сборник научных трудов в двух томах. Т. 1 / под ред. чл.-корр. НАН Украины С.П. Вассера. – Киев: Альтерпрес, 2011. – С. 5–6; 62.

Vasser S.P. Biological features of medicinal macro-mycetes in culture: Collection of scientific works in two volumes. Vol. 1 / Ed. by Corresponding Member NAS of Ukraine S.P. Vasser. – Kiev: Alterpres, 2011 – P. 5–6; 62. (in Russian)

2. Грибное производство [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.mkgs.ru/gribnoe-proizvodstvo.php>. (13.08.2014).

Mushroom production [Electronic resource]. – URL: <http://www.mkgs.ru/gribnoe-proizvodstvo.php>. (13.08.2014)

3. Грибы [Электронный ресурс]. – URL: <https://ru.wikipedia.org/wiki/Грибы>. (12.08.2014).

Mushrooms [Electronic resource]. – URL: <https://ru.wikipedia.org/wiki/Грибы>. (12.08.2014).

4. Лекарственные грибы [Электронный ресурс]. – URL: http://www.new-oxygen.ru/articles/meditsina_i_zdorove/5800/. (12.08.2014).

Medicinal mushrooms [Electronic resource]. – URL: http://www.new-oxygen.ru/articles/meditsina_i_zdorove/5800/. (12.08.2014)

5. Методы фармацевтического анализа [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.znaytovar.ru/s/Metody-farmaceuticheskogo-anali.html>. (26.08.2014).

Methods of pharmaceutical analysis [Electronic resource]. – URL: <http://www.znaytovar.ru/s/Metody-farmaceuticheskogo-anali.html>. (26.08.2014)

6. Чхенкели В.А., Анисимова А.В. Изучение анти-микробной и иммунопротекторной активности препаратов траметин и тримеразин в сравнительном аспекте // Вестник ИрГСХА. – 2014. – № 60, март. – С. 94–99.

Chkhenkeli V.A., Anisimova A.V. The study of antimicrobial activity of the preparations and immunoprotective activity trametin and trimerazin in comparative aspect // Vestnik IrGSHA. – 2014. – N 60, March. – P. 94–99.

7. Чхенкели В.А., Калинович А.Е. Антимикробная активность препарата траметин в отношении изолятов энтерогеоморрагической кишечной палочки серотипа O157:H7 // Вестник ИрГСХА. – 2013. – № 57, август. – С. 84–88.

Chkhenkeli V.A., Kalinovich A.E. Antimicrobial activity of the preparation trametin in relation isolates of enterohaemorrhagic Escherichia coli serotype O157: H7 // Vestnik IrGSHA. – 2013. – N 57, August. – P. 84–88. (in Russian)

8. Чхенкели В.А., Никифорова Т.И., Скворцова Р.Г. Антимикробное действие дереворазрушающего гриба *Coriolus pubescens* (Shum.: Fr.) Quel. // Микология и фитопатология. – 1998. – Т. 32, № 1. – С. 69–71.

Chkhenkeli V.A., Nikiforova T.I., Skvortsova R.G. The antimicrobial action of wood-destroying fungi *Coriolus pubescens* (Shum.: Fr.) Quel. // Mykologia i Fitopatologia. – 1998. – Vol. 32, N 1. – P. 69–71. (in Russian)

9. Юй Ли, Хайин Бао, Широких А.А., Широких И.Г. и др. Лекарственные грибы в традиционной китайской медицине и современных биотехнологиях / под общ. ред. В.А. Сысуева: НИИ сельского хозяйства Северо-Востока. – Киров: О-Краткое, 2009. – 285 с.

Yu Li, Haiying Bao, Shirokih A.A., Shirokih I.G. et al. Medicinal mushrooms in traditional Chinese medicine and modern biotechnology / Ed. V.A. Sysuev: Agricultural Research Institute of the North-East. – Kirov: O-Kratkoye, 2009 – 285 p.

Сведения об авторах

Костромина Екатерина Олеговна – аспирант кафедры анатомии, физиологии микробиологии факультета биотехнологии и ветеринарной медицины, Иркутская государственная сельскохозяйственная академия (664007, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 59; e-mail: kate_like_horses@mail.ru)

Чхенкели Вера Александровна – доктор биологических наук, профессор, зав. кафедры анатомии, физиологии и микробиологии факультета биотехнологии и ветеринарной медицины, Иркутская государственная сельскохозяйственная академия (e-mail: chkhenkeli@rambler.ru)

Information about the authors

Kostromina Ekaterina Olegovna – Postgraduate of the Department of Anatomy, Physiology and Microbiology of Biotechnology and Veterinary Medicine of Irkutsk State Agricultural Academy (664007, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 59; e-mail: kate_like_horses@mail.ru)

Chkhenkeli Vera Aleksandrovna – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Anatomy, Physiology and Microbiology of Biotechnology and Veterinary Medicine of Irkutsk State Agricultural Academy (e-mail: chkhenkeli@rambler.ru)

Н.К. Татарина¹, И.В. Свиридов¹, А.А. Торопова¹, Л.Н. Шантанова^{1,2}, Л.Л. Гармаева¹АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ СУХИХ ЭКСТРАКТОВ *RHAPONTICUM UNIFLORUM* (L.) DC¹ Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (Улан-Удэ)² Бурятский государственный университет (Улан-Удэ)

Исследовали антиоксидантную активность в условиях *in vitro* сухих экстрактов СЭЛ-1 и СЭЛ-2, полученных из *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC, обладающих выраженным антирадикальным действием в отношении связывания DPPH-радикала (IC_{50} (СЭЛ-2) = 2,0 мкг/мл). Выявлена их способность к инактивации ряда активных форм кислорода ($O_2^{\cdot-}$, NO). В отношении $O_2^{\cdot-}$ -анион радикала фитосредства проявляют умеренную, а в отношении NO – выраженную антирадикальную активность (IC_{50} (СЭЛ-2) = 311,0 мкг/мл). Обнаружено наличие умеренной Fe^{2+} -хелатирующей активности исследуемых экстрактов. Данный эффект обусловлен, по-видимому, содержанием фенольных соединений, фенолкарбоновых кислот, тритерпеновых сапонинов и дубильных веществ.

Ключевые слова: *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC, антиоксидантная активность, DPPH-радикал, супероксид-радикал, оксид азота

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE DRY EXTRACT *RHAPONTICUM UNIFLORUM* (L.) DCН.К. Tatarinova¹, I.V. Sviridov¹, A.A. Toropova¹, L.N. Shantanova^{1,2}, L.L. Garmayeva¹¹ Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude² Buryat State University, Ulan-Ude

A study of the antioxidant activity of the *in vitro* dry extracts DER-1 and DER-2 derived from *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC. It was established that the extracts have pronounced antiradical activity against DPPH-radical binding (IC_{50} (DER-2) = 2.0 mkg/ml). When studying the effect of the dry extracts a number of reactive oxygen species ($O_2^{\cdot-}$, NO) revealed that they exhibit their ability to inactivate. With respect to $O_2^{\cdot-}$ -anion radical extracts show moderate and against NO – expressed antiradical activity (IC_{50} (DER-2) = 311.0 mkg/ml). We also revealed the presence of moderate Fe^{2+} -chelating activity of the extracts studied. This effect is caused by apparently content of phenolic compounds, phenol carbonic acids, triterpene saponins and tannins.

Key words: *Rhaponticum uniflorum* (L.) DC, antioxidant activity, DPPH-radicals, superoxide-radicals, nitrogen oxide

Исследованиями последних лет показано, что ведущим молекулярно-клеточным механизмом патогенеза многих заболеваний является дисбаланс в системе свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты [10]. Избыток свободных радикалов сопровождается индукцией процессов свободнорадикального окисления биомакромолекул, нарушая структурно-функциональную целостность клеточных мембран и, как следствие, повреждение клеток организма [2, 3]. В этой связи одним из путей повышения адаптации организма к неблагоприятным условиям окружающей среды, повышения его стресс-устойчивости является использование антиоксидантных и адаптогенных средств [4, 9]. Наиболее перспективным направлением представляется использование средств растительного происхождения, обладающих широким спектром действия, отсутствием токсичности и отрицательных побочных эффектов при их длительном назначении.

В традиционной медицине стран Восточных Азии для лечения заболеваний различной этиологии издавна применяются препараты на основе левзеи одноцветковой (*Rhaponticum uniflorum* (L.) DC). В извлечениях корневищ с корнями и надземной части *R. uniflorum* обнаружены сесквитерпеноиды (гермакран D, цинаропикрин, метакрилат дезацилцинаропикрина, эпоксиметакрилат дезацилцинаропикрина); дитерпеноид фитол [13], алкалоиды [7], флавоноиды

[5]. Несомненно, как и другие виды рода *Rhaponticum*, *R. uniflorum* содержит фитостеролы, полиацетиленовые соединения, стероиды, фенолкарбоновые кислоты, тритерпеновые сапонины и дубильные вещества.

В Институте общей и экспериментальной биологии СО РАН получены сухие экстракты *R. uniflorum*: сухой экстракт из корней и корневищ *R. uniflorum* (СЭЛ-1) и сухой экстракт из надземной части *R. uniflorum* (СЭЛ-2), представляющие собой комплекс экстрактивных веществ.

Цель работы: определить антиоксидантную активность сухих экстрактов *Rhaponticum uniflorum* в условиях *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительное сырье (надземная часть, корни и корневища) было собрано в окрестностях г. Улан-Удэ в июле-октябре 2013 г. Сухие экстракты *R. uniflorum* из корней и корневищ (СЭЛ-1) и надземной части (СЭЛ-2) получены путем экстрагирования спирто-водной смесью с последующим концентрированием и упариванием. Материалы оформлены в виде заявки на способ получения указанных сухих экстрактов и находятся на стадии рассмотрения в ФИПС (Федеральный институт промышленной собственности).

Антирадикальную активность по отношению к супероксид-анион радикалу ($O_2^{\cdot-}$) определяли в

Таблица 1

Антиоксидантная активность сухих экстрактов *Rhaponticum uniflorum*, IC₅₀

Объект	DPPH-метод, мкг/мл	Fe ²⁺ , мкг/мл	O ₂ ^{•-} , мкг/мл	NO, мкг/мл
СЭЛ-1 (корни + корневища)	79,1 ± 1,1	> 1000	273,2 ± 7,1	334,1 ± 8,7
СЭЛ-2 (надземная часть)	2,0 ± 0,1	> 1000	406,0 ± 9,3	311,2 ± 8,4
АК ^а	4,8 ± 0,1	150,0 ± 5,3	101,0 ± 5,1	1140,0 ± 34,2
Ионол ^а	45,1 ± 1,3	–	–	–

Примечания. DPPH-метод – антирадикальная активность в отношении ДФПГ[•]; Fe²⁺ – Fe²⁺-хелатирующая активность; O₂^{•-} – связывание супероксид-анион радикала; NO – связывание молекул оксида азота (II); ^а – вещество сравнения.

неэнзиматической системе феназин-метосульфат / НАДН по методу A.-S. Chen et al. [11]; по отношению к DPPH-радикалам – по методу A. Seyoum et al. [15], по отношению к NO – по методу R. Govindarajan et al. [12]. Хелатирующую активность испытуемых средств определяли с использованием о-фенантролинового метода [8]. Значение результатов выражено через концентрацию исследуемого средства, необходимую для связывания 50 % реактивных частиц (IC₅₀). В качестве препарата сравнения использовали классические антиоксиданты: аскорбиновую кислоту (АК) (Sigma) и ионол (Sigma). Статистическую обработку полученных данных проводили согласно рекомендациям [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что исследуемые экстракты *R. uniflorum* обладают выраженной антиоксидантной активностью (табл. 1).

Установлено, что СЭЛ-1 и СЭЛ-2 обладают выраженной антирадикальной активностью в отношении DPPH-радикала, при этом уровень половинного ингибирования (IC₅₀) для исследуемых фитосредств составляет 2 мкг/мл и 79 мкг/мл соответственно. При этом антирадикальная активность СЭЛ-2 превосходит таковую препарата сравнения ионола. В эксперименте показано, что полученные экстракты проявляют умеренную Fe²⁺-хелатирующую активность, что обусловлено, по-видимому, низким содержанием в их составе полисахаридного комплекса.

При изучении влияния сухих экстрактов на ряд активных форм кислорода (O₂^{•-}, NO) выявлено, что они проявляют способность к их инактивации. В отношении O₂^{•-}-анион радикала фитосредства проявляют умеренную активность. Следует отметить, что данный вид активности экстрактов более выражен для СЭЛ-1 (IC₅₀ = 273 мкг/мл).

Показано, что исследуемые экстракты обладают выраженной антирадикальной активностью в отношении NO. Так, концентрация необходимая для связывания 50 % реактивных частиц для СЭЛ-1 составила 334 мкг/мл, а для СЭЛ-2 – 311 мкг/мл, что ниже таковой препарата сравнения – аскорбиновой кислоты (IC₅₀ = 1140,0 мкг/мл).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что экстракт из корней и корневищ *R. uniflorum*, а также экстракт из надземной части *R. uniflorum* проявляют выраженное антирадикаль-

ное и антиоксидантное действие за счет содержания терпеноидов, экдистероидов и полифенольных соединений путем образования феноксильных радикалов, хелатирования ионов металлов переменной валентности и стабилизации мембран, вследствие способности фенолов проникать в липидный бислой [1, 14]. Результаты данных исследований позволяют рассматривать *R. uniflorum* в качестве потенциально перспективного антиоксидантного средства и дают основание для определения антиоксидантной активности сухого экстракта *R. uniflorum* в условиях *in vivo*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Президиума СО РАН, Интеграционный проект № 57.

ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES

1. Азам Н., Горошко О.А., Пахомова В.П. Антиоксидантная активность лекарственных субстанций и биологически активных веществ // Традиционная медицина. – 2009. – № 1. – С. 35–38.
2. Азам Н., Горошко О.А., Пахомова В.П. Antioxidant activity of medicinal substances and biologically active substances // Tradicionnaya medicina. – 2009. – N 1. – P. 35–38.
3. Активация свободнорадикального окисления – эфферентное звено типовых патологических процессов / под ред. Н.П. Чесноковой, М.Ю. Ледванова. – Саратов, 2006. – 177 с.
4. Активация свободнорадикального окисления – эфферентное звено типовых патологических процессов / eds N.P. Chesnokova, M.Y. Ledvanova. – Saratov, 2006. – 177 p.
5. Барабой В.А., Брехман И.И., Голожин В.Г. Перекисное окисление и стресс. – М.: Наука, 2004. – 148 с.
6. Baraboy V.A., Brekhman I.I., Golozhin V.G. Peroxidation and stress. – Moscow: Nauka, 2004. – 148 p.
7. Владимир Ю.А. Биологические мембраны и незапрограммированная гибель клетки // Соросов. образов. журн. ISSEP. – 2000. – Т. 6, № 9. – С. 2–9.
8. Vladimirov Yu.A. Biological membranes and unprogrammed cell death // Sorosovskiy obrazovatelnyy jurnal ISSEP. – 2000. – Vol. 6, N 9. – P. 2–9.
9. Головкин Б.Н., Руденская Р.Н., Трофимова И.А. и др. Биологически активные вещества растительного происхождения. – М.: Наука, 2001. – 350 с.
10. Golovkin B.N., Rudenskaya R.N., Trofimov I.A. et al. Biologically active substances of plant origin. – Moscow: Nauka, 2001. – 350 p.
11. Дерффель К. Статистика в аналитической химии. – М.: Мир, 1994. – 98 с.

Derffel K. Statistics in Analytical Chemistry. – Moscow: Mir, 1994. – 98 p.

7. Куваев В.Б., Блинова К.Ф. Предварительная химическая оценка лекарственных растений тибетской медицины, произрастающих в Забайкалье // Вопросы фармакогнозии. – 1961. – Вып. 1. – С. 113–162.

Kuvayev V.B., Blinov K.F. Chemical pre-evaluation of medicinal plants of Tibetan medicine, native to Transbaikalia // Voprosy farmacognosii. – 1961. – Vol. 1. – P. 113–162.

8. Оленников Д.Н., Зилфикаров И.Н., Торопова А.А., Ибрагимов Т.А. Химический состав сока каллизи душистой (*Callisia fragrans* Wood) и его антиоксидантная активность (*in vitro*) // Химия растительного сырья. – 2008. – № 4. – С. 95–100.

Olennikov D.N., Zilfikarov I.N., Toropova A.A., Ibragimov T.A. The chemical composition of *Callisia fragrans* Wood sap and its antioxidant activity (*in vitro*) // Himiya rastitelnogo sirya. – 2008. – N 4. – P. 95–100.

9. Федоров Ф.Н., Фурса Н.С., Митина Л.В. Сравнительная эффективность фармакопейных фитопрепаратов-адаптогенов // Практик. фитотерапия. – 1998. – № 1. – С. 7–11.

Fedorov F.N., Fours N.S., Mitin L.V. Comparative efficacy of pharmacopoeia herbal adaptogenic remedies // Practicheskaja phitoterapija. – 1998. – N 1. – P. 7–11.

10. Чеснокова Н.П., Моррисон В.В., Понукалина Е.Ф., Афанасьева Г.А. и др. О роли активации

свободнорадикального окисления в структурной и функциональной дезорганизации биосистем в условиях патологии // Фундаментальные исследования. – 2009. – № 5. – С. 122–130.

Chesnokova N.P., Morrison V.V., Ponukalina E.F., Afanasyeva G.A. et al. The role of activation of free radical oxidation in structural and functional disorganization biosystems in pathology // Fundamentalniye issledovanija. – 2009. – N 5. – P. 122–130.

11. Chen A.-S., Taguchi T., Sakai K., Kikuchi K. et al. Antioxidant activities of chitibiose and chititriose // Biological & Pharmaceutical Bulletin. – 2003. – Vol. 26. – P. 1326–1330.

12. Govindarajan R., Rastogi S., Vijayakumar M. Studies on the antioxidant activities of *Desmodium gagicum* // Biological & Pharmaceutical Bulletin. – 2003. – Vol. 26. – P. 1424–1427.

13. Huneck S., Knapp H.D. Inhaltsstoffe weiterer Compositen aus der Mongolei // Pharmazie. – 1986. – Bd. 41, N 9. – S. 673.

14. Nijveldt R.J., van Nood E., van Hoorn D.E.C., Boelens P.G. et al. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications // Am. J. Clin. Nutr. – 2001. – Vol. 74. – P. 418–425.

15. Seyoum A., Asres K., El-Fiky F.K. Structure-radical scavenging relationships of flavonoids // Phytochemistry. – 2006. – Vol. 67, N 18. – P. 2058–2070.

Сведения об авторах

Татарина Наталья Кирилловна – аспирант лаборатории безопасности биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; тел.: (3012) 43-37-13; e-mail: tatarinova-natali@mail.ru)

Свиридов Иван Владимирович – аспирант лаборатории безопасности биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН

Торопова Анята Алексеевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН

Шантанова Лариса Николаевна – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией безопасности биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН

Гармаева Любовь Леонидовна – аспирант лаборатории медико-биологических исследований Института общей и экспериментальной биологии СО РАН

Information about the authors

Tatarinova Natalia Kirilovna – Postgraduate at the Laboratory of Safety of Biologically Active Substances of Institute of General and Experimental Biology SB RAS (670047, Ulan-Ude, ul. Sakhyanovoy, 6; tel.: +7 (3012) 43-37-13; e-mail: tatarinova-natali@mail.ru)

Sviridov Ivan Vladimirovich – Postgraduate at the Laboratory of Safety of Biologically Active Substances of Institute of General and Experimental Biology SB RAS

Toropova Anyuta Alekseevna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer at the Laboratory of Safety of Biologically Active Substances of Institute of General and Experimental Biology SB RAS

Shantanova Larisa Nikolayevna – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Safety of Biologically Active Substances of Institute of General and Experimental Biology SB RAS

Garmayeva Lyubov Leonidovna – Postgraduate at the Laboratory of Medical and Biological Researches of Institute of General and Experimental Biology SB RAS

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

УДК 616.314.18 – 002.4: 615.242

М.В. Дударь, Л.С. Васильева, В.Д. Молоков

ЛЕЧЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТА ТЕРПЕНСОДЕРЖАЩИМ ПРЕПАРАТОМ

Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)

Исследовано терапевтическое действие препарата «Антиран», содержащего терпеноидизоборнилацетат, на воспалительный процесс в пародонте у 56 беспородных белых крыс. В контрольной группе животных лечение не проводили, а основная группа получала с 1-х по 3-е сутки диализ антибиотика, на 4-е сутки – ультразвуковой кюретаж с раствором «Антиран», с 5-х по 14-е сутки – диализ «Антирана» в ткани пародонта по 20 минут ежедневно. Воспалительный процесс изучали морфологическими методами. Показано, что «Антиран» эффективно купирует воспаление, предотвращает вторичную альтерацию тканей, ускоряет репаративные процессы и восстановление поврежденных тканей.

Ключевые слова: пародонтит, терпеноиды, воспаление

TREATMENT OF EXPERIMENTAL PERIODONTITIS BY TERPENE-CONTAINING MEDICATION

M.V. Dudar, L.S. Vasilyeva, V.D. Molokov

Irkutsk State Medical University, Irkutsk

Therapeutic effect of terpenoidisobornylacetate-containing preparation Antiran on the inflammatory process in parodontium in 56 white outbred rats was researched. Animals of control group wasn't provide the treatment, animals of treatment group had antibiotic dialysis from 1st till 3rd day, ultrasound curettage with Antiran solution on the 4th day, Antiran dialysis in the parodontium tissues for 20 minutes OD from 5th to 14th day. Inflammatory process was studied using morphological methods. It was showed that Aniran arrests an inflammation, prevents secondary alteration of tissues, promotes reparative processes and recovery of damaged tissues.

Key words: periodontitis, terpenoids, inflammation

Заболевания пародонта представляют сложную актуальную проблему, которая имеет не только медицинскую, но и социальную значимость. Это обусловлено интенсивностью поражения этим недугом всех возрастных групп населения нашей страны. Распространенность заболеваний пародонта в России в различных возрастных группах колеблется от 48,2 % (12 лет) до 86,2 % (44 года), а к 60–65 годам достигает 100 %. В комплексном лечении заболеваний пародонта применяются медикаментозные, хирургические, ортопедические и физиотерапевтические методы. Однако эффективность лечения пародонтита остается недостаточно высокой, а применение антибактериальных средств очень часто приводит к таким осложнениям, как дисбактериоз, развитие грибковой инфекции, проявление резистентности микроорганизмов, сенсбилизация организма, что определяет актуальность поиска новых средств и методов терапии [8].

Одним из перспективных направлений представляется исследование терапевтического действия препаратов, имеющих в своем составе биологически активные вещества (БАВ) растительного происхождения, в частности, представителей многочисленного

класса терпеноидов, производные которых находят всё большее применение в медицинской практике. Имеющиеся данные литературы свидетельствуют о высокой антибактериальной активности терпеноидсодержащего препарата «Антиран» за счёт его главного компонента – изоборнилацетата. Кроме того, установлены его противовоспалительный и цитопротекторный эффекты, способствующие ускорению репаративных процессов [4, 6].

Цель работы: выявление возможности коррекции деструктивно-репаративных процессов при пародонтите раствором «Антиран» в условиях его применения при ультразвуковом кюретаже и трансмембранном диализе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проведен на 56 беспородных белых крысах-самках массой 150–170 г. Пародонтит моделировали по методике А.И. Воложина и С.И. Виноградовой путем наложения шелковой лигатуры в десневую бороздку на 7 суток [2, 5]. Животных разделили на две группы. В контрольной группе не проводили никакого лечения, а основная группа получала лечение путем трансмембранного диализа

раствора линкомицина гидрохлорида с 1-х по 3-е сутки включительно, на 4-е сутки проводили ультразвуковой кюретаж пародонтальных карманов с раствором «Антиран», с 5-х по 14-е сутки – диализ раствора «Антиран» в ткани пародонта по 20 минут. Животных выводили из эксперимента сразу после снятия лигатуры (нулевой срок) и через 3, 7, 14 суток.

Для исследования иссекали фрагмент нижней челюсти с нижними резцами и участком десны между ними. Фрагменты фиксировали в нейтральном 10%-м формалине, декальцинировали в 7%-й азотной кислоте, заливали в парафин, изготавливали гистологические срезы и окрашивали их пикрофуксином по Ван-Гизону. Анализ проводили с использованием окулярной сетки и системы анализа изображения с программным обеспечением ImageScoreColor (Москва, 2007) по Г.Г. Автандилову [1]. Определяли объемную долю лейкоцитарного инфильтрата, полнокровных сосудов, отечной жидкости, костных фрагментов, новообразованного коллагена и тканей, сохранивших и восстановивших нормальную структуру.

Экспериментальные исследования проводились, согласно правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96).

Полученные данные имели нормальное распределение и обработаны статистически стандартными параметрическими методами Statistica 6.0 с вычислением среднего значения и его ошибки, критерия Стьюдента. Данные считались статистически значимо отличающимися при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

За период моделирования пародонтита (7 суток) воспалительный процесс распространился на

все ткани пародонта, но на разных уровнях длины корня зуба он был выражен в различной степени. Сосудистая реакция (расширение, полнокровие) была наиболее выражена в нижней трети пародонта (табл. 1), в средней трети она была вдвое слабее, а в десне почти не проявлялась. Вместе с тем воспалительный отек (полости с экссудатом) был на всем протяжении корня зуба практически одинаковым, тогда как лейкоцитарная инфильтрация была максимально выражена в десне, где занимала более половины объема тканей и в 2,5–3 раза превышала ее значение в других участках пародонта. Тем не менее, параллельно в соединительных тканях пародонта активизировался коллагеногенез, особенно в периодонте средней трети корня зуба, где количество новообразованного коллагена было в 2,5 раза больше, чем в нижней трети.

К 3-м суткам наблюдения в условиях отсутствия лечения нарастала вторичная альтерация тканей (рис. 1): лейкоцитарный инфильтрат стал распространяться из десны в периодонт и костную ткань зубной альвеолы, верхушки альвеолярных отростков частично разрушились, в соединительной ткани десны появилось довольно большое количество нерезорбированных костных фрагментов, увеличилась объемная доля расширенных полнокровных сосудов (в десне – в 4,8 раза ($p < 0,05$), в средней трети пародонта – в 2,8 раза ($p < 0,05$)). Несмотря на вторичную альтерацию тканей, продолжало возрастать количество новообразованного коллагена, которое увеличилось в десне в 2,2 раза ($p < 0,05$), а на дне зубной альвеолы – в 3,9 раза ($p < 0,05$).

У животных, которым в течение 3 суток ежедневно проводили диализ линкомицина, вторичная альтерация тканей пародонта практически купировалась, существенно уменьшилась доля нерезорбированных костных фрагментов (в 3,9 раза; $p < 0,05$)

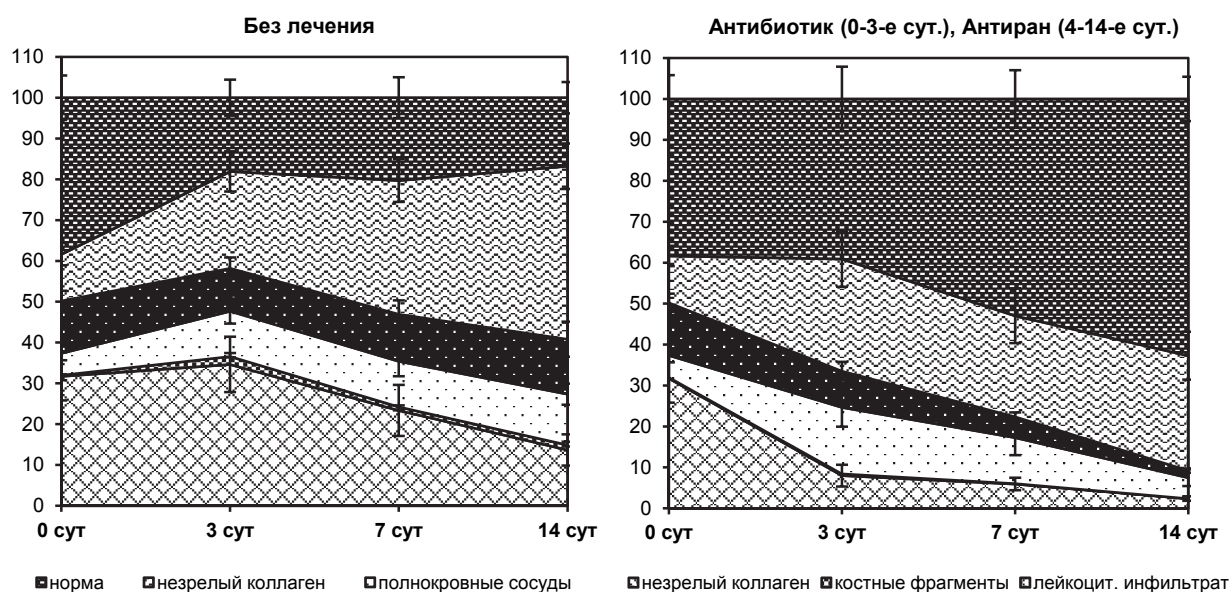


Рис. 1. Изменение средних значений объемной доли (%) структурных элементов тканей пародонта в динамике экспериментального пародонтита.

и лейкоцитарная инфильтрация всех тканей (в десне – в 2,2 раза, в средней трети корня зуба – в 4,2 раза, в нижней трети – в 4,6 раза; $p < 0,05$). При этом, по срав-

нению с нелечеными животными, в тканях средней трети корня увеличилась в 1,6 раза ($p < 0,05$) доля полнокровных сосудов, а в десне коллагеногенез

Таблица 1

Объемная доля (%) структурных элементов пародонта в динамике экспериментального пародонтита у нелеченых животных и при лечении препаратом «Антиран» ($n = 8$)

Показатель, доля V в %		Сроки после снятия лигатуры (сут.)			
		0 сут.	3 сут.	7 сут.	14 сут.
Нелеченные животные					
Лейкоцитарный инфильтрат	в/3	53,99 ± 6,09	41,69 ± 6,53	28,41 ± 5,10*	17,50 ± 3,65*
	с/3	22,36 ± 7,73	31,34 ± 4,94	21,29 ± 5,57	8,45 ± 4,15
	н/3	18,83 ± 5,95	30,85 ± 8,01	20,36 ± 7,88	15,07 ± 4,42
Экссудат	в/3	13,82 ± 2,99	12,20 ± 2,25	13,06 ± 3,64	11,96 ± 3,04
	с/3	11,54 ± 1,77	10,82 ± 2,71	12,85 ± 5,18	12,67 ± 5,97
	н/3	13,07 ± 2,73	8,45 ± 3,11	8,74 ± 3,32	15,80 ± 4,77
Полнокровные сосуды	в/3	1,67 ± 0,33	7,97 ± 1,75*	5,91 ± 1,82*	7,00 ± 0,94*
	с/3	4,84 ± 3,05	13,70 ± 2,72*	7,32 ± 1,83	12,0 ± 3,28*
	н/3	9,70 ± 1,78	11,68 ± 4,45	20,24 ± 7,66	18,40 ± 3,26*
Костные фрагменты	в/3	0,23 ± 0,16	4,57 ± 1,41*	2,49 ± 0,88*	2,77 ± 2,02
	с/3	0,0 ± 0,24	1,32 ± 2,56	0,17 ± 1,32	0,0 ± 3,03
	н/3	0,54 ± 0,54	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,87 ± 0,41
Новообразованный коллаген	в/3	10,42 ± 2,79	23,23 ± 3,51*	34,08 ± 5,09*	46,67 ± 4,35*
	с/3	17,13 ± 3,53	21,18 ± 2,71	33,19 ± 4,84*	44,37 ± 4,43*
	н/3	6,82 ± 2,12	26,80 ± 5,44*	30,98 ± 6,03*	36,11 ± 7,94*
Сохраненные и восстановленные ткани	в/3	19,87 ± 4,60	10,34 ± 3,67	16,06 ± 4,91	14,10 ± 3,20
	с/3	44,14 ± 4,18	21,65 ± 4,86*	25,20 ± 6,46*	22,52 ± 3,40*
	н/3	51,06 ± 7,56	22,23 ± 4,27*	19,69 ± 4,33*	13,77 ± 4,93*
Кюретаж и диализ раствора «Антиран»					
Лейкоцитарный инфильтрат	в/3	53,99 ± 6,09	17,97 ± 6,15*; **	13,47 ± 2,80*; **	5,47 ± 1,02*; **
	с/3	22,36 ± 7,73	3,00 ± 1,59*; **	3,47 ± 1,27*; **	1,54 ± 0,58*
	н/3	18,83 ± 5,95	3,00 ± 0,22*	0,87 ± 0,51*	0,15 ± 0,10*
Экссудат	в/3	13,82 ± 2,99	8,60 ± 2,71	4,90 ± 1,29	1,21 ± 0,63**
	с/3	11,54 ± 1,77	10,00 ± 1,85	6,33 ± 0,74*	2,64 ± 0,37*
	н/3	13,07 ± 2,73	7,93 ± 2,31	4,08 ± 1,17*	1,38 ± 0,59*; **
Полнокровные сосуды	в/3	1,67 ± 0,33	8,58 ± 2,48*	12,71 ± 4,29*	5,66 ± 2,12
	с/3	4,84 ± 3,05	22,07 ± 5,11*	12,35 ± 4,67	6,23 ± 2,52*; **
	н/3	9,70 ± 1,78	18,18 ± 6,50	8,51 ± 3,81	3,38 ± 1,48*; **
Костные фрагменты	в/3	0,23 ± 0,16	1,16 ± 0,33*	0,37 ± 0,09**	0,00 ± 0,00
	с/3	0,0 ± 0,24	0,00 ± 0,00**	0,00 ± 0,00**	0,00 ± 0,00
	н/3	0,54 ± 0,54	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Новообразованный коллаген	в/3	10,42 ± 2,79	41,52 ± 6,54*; **	31,59 ± 6,91*	36,33 ± 5,92*
	с/3	17,13 ± 3,53	20,53 ± 7,56	26,27 ± 7,76	28,74 ± 6,61*
	н/3	6,82 ± 2,12	20,15 ± 6,19	16,20 ± 5,36	19,13 ± 5,01*
Сохраненные и восстановленные ткани	в/3	19,87 ± 4,60	22,18 ± 7,19	36,96 ± 6,68**	51,33 ± 4,67*; **
	с/3	44,14 ± 4,18	44,40 ± 7,09**	51,58 ± 8,26**	60,84 ± 6,99*; **
	н/3	51,06 ± 7,56	50,73 ± 9,40**	70,35 ± 6,18**	75,96 ± 4,55*; **

Примечание. в/3 – верхняя треть корня зуба; с/3 – средняя треть корня зуба; н/3 – нижняя треть корня зуба; * – отличие от нулевого срока (сразу после снятия лигатуры) ($p < 0,05$); ** – отличие от показателя у нелеченых крыс в этот же срок ($p < 0,05$).

имел более высокую активность – количество новообразованного коллагена было больше в 1,8 раз ($p < 0,05$). Таким образом, диализ линкомицина в течение 3 суток существенно уменьшил деструктивные процессы в пародонте и активизировал репаративные процессы.

К 7-м суткам наблюдения у нелеченых животных активность воспаления начинала снижаться. В тканях пародонта уменьшалась объемная доля лейкоцитарной инфильтрации. Особенно этот показатель снизился в десне (в 1,9 раза; $p < 0,05$), хотя доля экссудата и полнокровных сосудов осталась прежней, а количество нерезорбированных костных отломков (верхушек межкорневых перегородок) возросло в 10,8 раза ($p < 0,05$). Параллельно на всех уровнях корня зуба в тканях пародонта нарастала доля новообразованных коллагеновых волокон ($p < 0,05$), а в тканях средней трети корня зуба доля полнокровных сосудов начала снижаться. К 14-м суткам клеточная инфильтрация оставалась значительной, хотя в десне она уменьшалась, по сравнению с первым сроком наблюдения, в 3 раза ($p < 0,05$). Среди клеток инфильтрата обнаружено большое количество макрофагов и молодых фибробластов. Деструктивные процессы еще не завершены: в соединительной ткани десны оставались нерезорбированные костные фрагменты, выраженность отека (доля экссудата) не изменялась и была наибольшей в периодонте дна зубной альвеолы, но активность репаративных процессов во всех тканях была высокой, объемная доля новообразованного коллагена составляла $42,4 \pm 5,6 \%$ (рис. 1).

У животных основной группы, которым проводили лечение препаратом «Антиран» (на 4-е сутки – ультразвуковой кюретаж; с 5-х по 14-е сутки – диализ), доля лейкоцитарного инфильтрата продолжала уменьшаться и уже на 7-е сутки была ниже в десне вдвое, в периодонте и стенке зубной альвеолы – в 6 раз (по сравнению с нелечеными животными), а на дне зубной альвеолы практически отсутствовала (табл. 1).

Нерезорбированные костные фрагменты регистрировались в десне только на 7-е сутки и были единичными, в других тканях отсутствовали. Полнокровие сосудов и доля экссудата тоже значительно убывали, и к 14-м суткам отечность тканей не выявлялась. Следует отметить, что при лечении препаратом «Антиран» экссудат активно элиминировался из глуболежащих тканей пародонта на поверхность. Количество новообразованного коллагена сохранялось на постоянном уровне, но за счет его созревания существенно возросла доля восстановленных тканей, которых к концу наблюдения было больше в 2,7–5,5 раза (от 51 до 76 %), чем у нелеченых животных.

На основании полученных данных можно сделать заключение, что воздействие препарата «Антиран» при воспалении в пародонте эффективно купирует острые воспалительные явления, предотвращая вторичную альтерацию тканей, а также ускоряет репаративные процессы и восстановление поврежденных тканей. Эти эффекты «Антирана»

связаны с входящим в его состав терпеноидом – бициклическим монопептидом изоборнилацетатом, являющимся основным компонентом эфирного масла пихты. Противовоспалительное действие терпеноидов связано с их антагонизмом с гистамином и серотонином, с активацией лейкоцитов и фагоцитозом, стабилизацией клеточных мембран, ингибированием лейкотриена B_4 и липоксигеназы, а также с модулированием внутриклеточного уровня ц-АМФ за счет вмешательства в транспорт Ca^{2+} [7, 9]. По данным литературы, изоборнилацетат обладает высокой антибактериальной активностью, подавляет патогенность грамотрицательных микроорганизмов [3, 4], не уступая в этом антибиотикам, а также проявляет противовоспалительный, антиэкссудативный и цитопротекторный эффекты [4, 6]. Кроме того, «Антиран» имеет существенное преимущество перед антибиотиками, так как не оказывает патологического и иммунодепрессивного воздействия на организм, не повышает резистентность микроорганизмов [4].

Представленные данные дают основание апробировать применение препарата «Антиран» в клинике как средство лечения генерализованного пародонтита.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
Avtandilov G.G. Medical morphometry. – Moscow: Medicina, 1990. – 384 p. (in Russian)
2. Большедворская Н.Е., Казанкова Е.М., Тирская О.И. и др. Патогенетическое значение структурных особенностей пародонта у крыс при пародонтите // Паллиативная медицина и реабилитация. – 2005. – № 2. – С. 95а–95.
Bolshedvorskaya N.E., Kazankova E.M., Tirskaia O.I. et al. Pathogenetic value of rats' parodontium structure at periodontitis // Palliativnaja medicina i reabilitacija. – 2005. – N 2. – P. 95a–95. (in Russian)
3. Васильева Л.С., Куликов Л.К., Казанков С.С. и др. Динамика микробного пейзажа в хронической экспериментальной ране при её лечении препаратами содержащими биологически активные вещества // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2010. – Т. 97, № 6. – С. 79–81.
Vasilyeva L.S., Kulikov L.K., Kazankov S.S. et al. Dynamics of microbial landscape in chronic experimental wound at its treatment by the preparations containing biologically active substances // Sibirskij medicinskij zhurnal (Irkutsk). – 2010. – Vol. 97, N 6. – P. 79–81.
4. Васильева Л.С., Казанков С.С., Куликов Л.К. и др. Морфология инфицированной хронической раны при её лечении биологически активными препаратами наружного применения // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2009. – Т. 87, № 4. – С. 41–43.
Vasilyeva L.S., Kazankov S.S., Kulikov L.K. et al. Morphology of infected chronic wound at its treatment by biologically active preparations of external application // Sibirskij medicinskij zhurnal (Irkutsk). – 2009. – Vol. 87, N 4. – P. 41–43.

5. Воложин А.И., Виноградова С.И. Патогенез экспериментального пародонтита у кроликов // Стоматология. – 1991. – № 4. – С. 10–12.

Volozhin A.I., Vinogradova S.I. Pathogenesis of experimental periodontitis at rabbits // Stomatologija. – 1991. – N 4. – P. 10–12.

6. Казанков С.С., Цыбиков С.Г., Зайчук И.П. и др. Отдельные аспекты динамики хронической инфицированной раны при её лечении препаратами содержащими биологически активные вещества // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2009. – № 3 (67). – С. 187–189.

Kazankov S.S., Tsybikov S.G., Zaychuk I.P. et al. Some aspects of dynamics of chronic infected wound at its treatment by the preparations containing biologically active substances // Bjul. VSNC SO RAMN. – 2009. – N 3 (67). – P. 187–189.

7. Николаевский В.В., Еременко А.Е., Иванов И.К. Биологическая активность эфирных масел. – М.: Медицина, 1987. – 144 с.

Nikolaevskiy V.V., Eremenko A.E., Ivanov I.K. Biological activity of essential oils. – Moscow: Medicina, 1987. – 144 p.

8. Тирская О.И., Молоков В.Д., Васильева Л.С. Оценка эффективности введения антибиотиков методом трансмембранного диализа при лечении пародонтита // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2003. – Т. 38, № 3. – С. 64–66.

Tirskaya O.I., Molokov V.D., Vasileva L.S. Estimation of efficiency of antibiotic introduction by the method of transmembranal dialysis at the treatment of parodontitis // Sibirskij medicinskij zhurnal (Irkutsk). – 2003. – Vol. 38, N 3. – P. 64–66.

9. Villar A., Gasco M.A., Algoraz M.J. et al. Hipolaetin-8-glucoside, an anti-inflammatory flavonoid from *Sideritis mugronensis* // Planta med. – 1985. – N 1. – P. 70.

Информация об авторах

Дударь Марина Вячеславовна – аспирант кафедры терапевтической стоматологии Иркутского государственного медицинского университета (664003, г. Иркутск, ул. Красноармейская, 1; тел.: 8 (3952) 24-28-63; e-mail: dudareshka@mail.ru)

Васильева Людмила Сергеевна – доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии Иркутского государственного медицинского университета

Молоков Владислав Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой терапевтической стоматологии Иркутского государственного медицинского университета

Information about the authors

Dudar Marina Vyacheslavovna – Postgraduate of the Department of Therapeutic Odontology of Irkutsk State Medical University (664003, Irkutsk, ul. Krasnoarmeyskaya, 1; tel.: +7 (3952) 24-28-63; e-mail: dudareshka@mail.ru)

Vasilyeva Lyudmila Sergeevna – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Histology, Embryology and Cytology of Irkutsk State Medical University

Molokov Vladislav Dmitrievich – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Therapeutic Odontology of Irkutsk State Medical University

Л.И. Колесникова ¹, А.С. Попова ², Л.И. Крупицкая ³, А.И. Синицкий ³

АКТИВНОСТЬ АМИНОЛЕВУЛИНАТСИНТАЗЫ (АЛК-СИНТАЗЫ) КОСТНОГО МОЗГА И ПЕЧЕНИ КРЫС ЛИНИЙ АВГУСТ И ВИСТАР В ПЕРИОД НОВОРОЖДЕННОСТИ ПОСЛЕ ОСТРОЙ ПОСТНАТАЛЬНОЙ ГИПОКСИИ

¹ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (Иркутск)² Городская клиническая больница № 6 (Челябинск)³ Южно-Уральский государственный медицинский университет (Челябинск)

Новорожденных крысят линий Август и Вистар (по 20 на каждую группу эксперимента) подвергали острой постнатальной гипоксической гипоксии (смесь 95%-го азота и 5%-го кислорода). Определение активности аминотерминальной синтазы (АЛК-синтазы) костного мозга и печени проводили в контроле, на 1-е и 3-и сутки жизни (в печени – только на 3-и сутки). Крыс разных линий различали по индивидуальной реакции организма на гипоксическое воздействие, что подтверждает ее генетическую предопределенность. Активности АЛК-синтазы в костном мозге и печени были реципрокными как в норме, так и после перенесенной гипоксии.

Ключевые слова: аминотерминальная синтаза (АЛК-синтаза), гипоксия, новорожденные, крысы Август и Вистар

ACTIVITY OF AMINOLEVULINATE SYNTHASE OF BONE MARROW AND LIVER OF NEWBORN AUGUST AND WISTAR RATS AFTER ACUTE POSTNATAL HYPOXIA

L.I. Kolesnikova ¹, A.S. Popova ², L.I. Krupitskaya ³, A.I. Sinitskiy ³¹ Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS, Irkutsk² Municipal Clinical Hospital N 6, Chelyabinsk³ South-Ural State Medical University, Chelyabinsk

Newborn Wistar and August rats (20 rats in each experimental group) were exposed to acute postnatal hypoxic hypoxia (by the mixture of 95% nitrogen and 5% oxygen). Determination of activity of aminolevulinate synthase (ALA-synthase) in bone marrow and liver were in control group, and on the 1st and 3rd days of life (in liver – only on the 3rd day). Infant rats of various lines differed by the response of an organism to hypoxic exposure that confirms its genetic predetermination. Activities of ALA-synthase in bone marrow and liver were reciprocal both in normal development and after hypoxia.

Key words: aminolevulinate synthase (ALA-synthase), hypoxia, newborn, August and Wistar rats

Основным регуляторным ферментом синтеза гема является аминотерминальная синтаза (АЛК-синтаза). Активность АЛК-синтазы зависит от уровня эритропоэтина, ответственного за пролиферацию, дифференциацию и угнетение апоптоза в чувствительных к нему клетках кроветворной ткани [6]. В печени также основной детерминантой образования гема служит уровень АЛК-синтазы, повышение активности которой вызывают соединения, усиливающие работу митохондриальной системы окисления.

Некоторыми авторами показана разная экспрессия генома у двух разных линий крыс, которые различались по продолжительности жизни и способности генетических систем этих животных к адаптационным перестройкам. Обнаружено, что у непродолжительно живущих крыс линии Август снижение пролиферативной активности клеток, по сравнению с крысами Вистар, наблюдалось раньше. У одномесячных крыс Август скорость синтеза РНК была в 2,2 раза ниже таковой у крыс Вистар, а у трехмесячных – в 8 раз [1, 8].

Цель исследования: оценки изменений аминотерминальной синтазы (АЛК-синтаза) костного мозга и печени в период новорожденности в норме и после перенесенной острой гипоксической гипоксии у различных линий лабораторных крыс – Август и Вистар.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использована модель ранней постнатальной гипоксии на крысах двух линий Август и Вистар. Животных (по 20 в каждой экспериментальной группе) сразу после рождения помещали в камеру, содержащую 95 % азота и 5 % кислорода. Эта модель наиболее часто применяется в эксперименте [2, 9].

Животных выводили из эксперимента в соответствии с Хельсинкской декларацией. Активность АЛК-синтазы определяли по методу G. Kikuchi в модификации Y.C. Aoki et al. [8]. Активность данных ферментов определяли в костном мозге через 15–30 минут после рождения, на 1-е и 3-и сутки жизни; в печени – только на 3-и сутки после рождения, т. к. эритропоэтическая функция печени в норме выключается значительно раньше [4]. Параллельно определяли суточную продукцию эритроцитов [3].

Для анализа результатов использовали пакет прикладных программ Statistica 6.0 (Statsoft Inc., США). Данные обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики и выражали в виде среднеарифметической (М) и ее стандартной ошибки (m). Оценку значимости различий осуществляли с помощью непараметрических критериев. Для определения различий в средних тенденциях использовали

U-критерий Манна – Уитни, рассчитанный для независимых выборок, когда число наблюдений невелико ($n \leq 20$). Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Состояние эритропоэза в КМ представлено в таблице 1.

Таблица 1
Активность АЛК-синтазы костного мозга у крыс линий Август и Вистар в норме и после острой гипоксической гипоксии ($M \pm m$)

Группа		Показатели	
		Возраст, сут.	АЛК-синтаза, мкмоль/л/с
Контроль	Август ($n = 20$)	0	$3,86 \pm 0,105$
	Вистар ($n = 20$)		$3,78 \pm 0,093$
	Август ($n = 20$)	1	$3,51 \pm 0,112$
	Вистар ($n = 20$)		$3,49 \pm 0,089$
	Август ($n = 16$)	3	$2,99 \pm 0,109$
	Вистар ($n = 16$)		$3,27 \pm 0,084$
Гипоксия	Август ($n = 16$)	1	$1,80 \pm 0,052^*$
	Вистар ($n = 16$)		$1,81 \pm 0,045^*$
	Август ($n = 16$)	3	$0,96 \pm 0,086^*$
	Вистар ($n = 16$)		$0,91 \pm 0,073^*$

Примечание. * – статистически значимые отличия от соответствующего показателя контрольной группы при $p < 0,05$.

Перестройка эритропоэза у крысят связана с заменой циркулирующих эритроцитов. У животных линии Август суточная продукция статистически значимо постепенно нарастает. У животных линии Вистар этого не наблюдается. Параллельно постепенно снижается активность АЛК-синтазы КМ у обеих линий, что согласуется с данными С.Б. Назарова [6] об уменьшении интенсивности эритропоэза сразу после рождения и с литературными данными о снижении уровня эритропоэтина в первые трое суток практически в 5 раз [7]. У крысят линии Вистар падение активности фермента более выражено.

После перенесенной гипоксии суточная продукция эритроцитов у крыс обеих линий снижается в течение всего периода новорожденности, но в разной степени. У крыс линии Август она снижается в 1,3 раза, а у крыс линии Вистар – почти в 2 раза.

Острая гипоксия в этот период ассоциируется с резким снижением активности АЛК-синтазы. Актив-

ность АЛК-синтазы после перенесенной гипоксии у крыс обеих линий снижается в 4 раза.

Активность АЛК-синтазы печени представлена в таблице 2.

Активность АЛК-синтазы печени крыс линий Август и Вистар после перенесенной гипоксии снижается, однако не в одинаковой степени: у крыс Август активность всех ферментов снижается от 1,6 раза, а у крыс Вистар – всего в 1,2 раза.

Проведенные нами эксперименты подтверждают наличие генетической преддетерминированности к гипоксическому воздействию, а также реципрокные взаимоотношения по уровню активности АЛК-синтазы в КМ и печени как в норме, так и после перенесенной гипоксии.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Божков А.И., Климова Е.М. Эпигенетические механизмы формирования возраст-зависимых адаптационных проявлений // Генетика продолжительности жизни и старение: тез. докл. междунар. конф. – 2010. – С. 5–6.

Bozhkov A.I., Klimova E.M. Epigenetic mechanisms of formation of age-dependent adaptational manifestations // Genetika prodolzhitel'nosti zhizni i starenie. – 2010. – P. 5–6. (in Russian)

2. Гармашева Н.Л., Константинова Н.Н. Патофизиологические основы охраны внутриутробного развития человека. – М.: Медицина, 1985. – 159 с.

Garmysheva N.L., Konstantinova N.N. Pathophysiological basics of human prenatal development defense. – Moscow: Medicina, 1985. – 159 p.

3. Мосягина И. Эритроцитарное равновесие в норме и патологии. – М.: Медгиз, 1962. – 272 с.

Mosyagina I. Erythrocyte balance in normal and pathological conditions. – Moscow, 1962. – 272 p.

4. Назаров С.Б. Закономерности развития эритрона белых крыс в пренатальном и раннем постнатальном онтогенезе: автореф. дис. ... докт. мед. наук. – М., 1995. – 35 с.

Nazarov S.B. Peculiarities of development of white rats' erythron in prenatal and early postnatal ontogenesis: abstract of dissertation of Doctor of Medical Sciences. – Moscow, 1995. – 35 p.

5. Aoki Y., Urata G., Wada O. et al. Measurement of delta-aminolevulinic acid synthetase activity in human erythroblasts // J. Clin. Invest. – 1974. – Vol. 53 (5). – P. 1326–1334.

6. Claustres M., Sultan C. Stimulatory effects of androgens on normal children's bone marrow in cul-

Таблица 2
Активность гемсинтезирующих ферментов печени у крыс линий Август и Вистар в норме и после острой гипоксической гипоксии ($M \pm m$)

Показатели	Группа			
	Август		Вистар	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
АЛК-синтаза, нмоль/мг белка/мин	$0,15 \pm 0,007$	$0,09 \pm 0,002^*$	$0,24 \pm 0,004$	$0,19 \pm 0,009^*$

Примечание. * – статистически значимые отличия от соответствующего показателя контрольной группы при $p < 0,05$.

ture: Effects on BFU-E, CFU-E, and uroporphyrinogen I synthase activity // *Hormone Res.* – 1964. – Vol. 23. – P. 91–98.

7. Kling P.J., Schmidt R.L., Roberts R.A., Widness J.A. Serum erythropoietin levels during infancy: associations with erythropoiesis // *J. Pediatr.* – 1996. – Vol. 128. – P. 791–796.

8. Serman A., Vlahović M., Serman L. et al. DNA methylation as a regulatory mechanism for gene expression in mammals // *Coll. Antropol.* – 2006. – Vol. 30 (3). – P. 665–671.

9. Speiser Z., Korczyn A.D. Teplitzky-Gitter S. Hyperactivity in rats following postnatal anoxia // *Behav. Brain Res.* – 1983. – Vol. 7 (3). – P. 379–382.

Сведения об авторах

Колесникова Любовь Ильинична – член-корреспондент РАН, директор Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-76-36; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Попова Алла Симоновна – кандидат медицинских наук, заведующая отделением гинекологии № 2 Городской клинической больницы № 6 (454047, г. Челябинск, ул. Румянцева, 28; тел.: 8 (3517) 21-25-65; e-mail: biochem2009@yandex.ru)

Крупницкая Людмила Ионовна – кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры биохимии Южно-Уральского государственного медицинского университета

Синицкий Антон Иванович – доктор медицинских наук, доцент кафедры химии фармацевтического факультета Южно-Уральского государственного медицинского университета

Information about the authors

Kolesnikova Lyubov Iljinichna – Corresponding Member of RAS, director of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS (664003, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 16; tel.: +7 (3952) 20-76-36; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Popova Alla Simonovna – Candidate of Medical Sciences, Head of Gynecology Unit N 2 of Municipal Clinical Hospital N 6 (454047, Chelyabinsk, ul. Rumyansteva, 28; tel.: +7 (3517) 21-25-65; e-mail: biochem2009@yandex.ru)

Krupitskaya Lyudmila Ionovna – Candidate of Medical Sciences, Senior Lecturer of the Department of Biochemistry of South-Ural State Medical University

Sinitskiy Anton Ivanovich – Doctor of Medical Sciences, Assistant Professor of the Department of Chemistry of Pharmaceutical Faculty of South-Ural State Medical University

Е.А. Кунгурцева¹, Ю.П. Джюев^{1,2}, С.М. Попкова¹, О.Я. Лещенко¹, А.В. Загвозкина³ПАТОГЕННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ И ВЗАИМОВЛИЯНИЕ МИКРОФЛОРЫ СЛИЗИСТЫХ
ОБОЛОЧЕК ОТКРЫТЫХ ПОЛОСТЕЙ РАЗЛИЧНЫХ БИОТОПОВ У ЖЕНЩИН
КАК ВАЖНЫЕ ФАКТОРЫ ИХ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ¹ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН (Иркутск)² Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)³ Иркутский государственный университет (Иркутск)

Исследованиями последних лет установлена микрoэкологическая взаимосвязь кишечного, влагалищного и носоглоточного биоценозов в составе микробиома макроорганизма. В исследование были включены 44 женщины с воспалительными заболеваниями полового тракта и репродуктивными нарушениями и 28 здоровых женщин. Генотиповая структура энтерококков для каждого биотопа (кишечный, вагинальный, носоглоточный) имела оригинальные отличия с наиболее полным спектром видов в кишечном. По результатам исследований на наличие исследуемых генов патогенности замечен контраст между группами.

Ключевые слова: микробиом человека, условно-патогенная микрофлора, факторы патогенности, вагинальный, кишечный, носоглоточный микробиоценозы, женщины репродуктивного возраста, воспалительные заболевания репродуктивного тракта

PATHOGENIC POTENTIAL AND MUTUAL INTERACTION OF MICROFLORA
OF MUCOUS MEMBRANES OF OPEN CAVITIES OF DIFFERENT BIOTOPES IN WOMEN
AS IMPORTANT FACTORS OF THEIR REPRODUCTIVE HEALTHY.A. Kungurtseva¹, Yu.P. Dzhioev^{1,2}, S.M. Popkova¹, O.Ya. Leshchenko¹, A.V. Zagvozkina³¹ Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS, Irkutsk² Irkutsk State Medical University, Irkutsk³ Irkutsk State University, Irkutsk

Micro-ecological interrelation between intestinal, vaginal and nasopharyngeal biocoenoses as parts of microbiome of a macroorganism was determined by the latest researches. The research included 44 women with inflammatory diseases of genital tract and reproductive disorders and 28 healthy women. Genospecies structure of enterococcus for each biotope (intestinal, vaginal and nasopharyngeal) had original differences with the most full spectrum of species in intestinal biotope. The contrast between the groups is evident at the conclusion of the pathogenicity genes tests.

Key words: human microbiome, opportunistic pathogenic microflora, pathogenicity factors, vaginal, intestinal and nasopharyngeal microbiocenoses, women of reproductive age, inflammatory diseases of the reproductive tract

ВВЕДЕНИЕ

Микробиом человека, центральным органом которого являются пристеночные эпителиальные биопленки, несомненно, оказывает влияние на здоровье макроорганизма (человека) и является его самостоятельным органом [6]. В последнее время достаточно много внимания уделяется исследованиям микробиома, но детальное понимание биологии человека требует знаний не только о геноме человека, но также и о его метабеноме, определяемом как ансамбль геномов микроорганизмов, связанных с человеком. По итогам пятилетней работы в рамках проекта «Микробиом человека» («Human Microbiome Project»), целью которого было охарактеризовать все микроорганизмы человеческого организма, показано, что в организме человека сожительствуют более 10 тысяч видов различных микроорганизмов. Авторы исследования считают, что такое обилие микробов обеспечивает жизнедеятельность макроорганизма гораздо большим количеством генов, чем может предоставить сам по себе человеческий организм. Геном человека определяет 22 тысячи генов, кодирующих белки для обслуживания метаболизма, в то время как микробиом поставяет около 8 миллионов уникальных кодирующих генов.

Наше внимание направлено на исследование микроорганизмов кишечного, полового (репродуктивного) и носоглоточного биотопов, состав которых наиболее сложен, и они более всех выполняют сложные функции и играют важную роль в здоровье женщины. Инфекционно-воспалительные заболевания женских половых органов занимают особое место в структуре общей заболеваемости. Их значимость обусловлена, прежде всего, тем, что эти болезни затрагивают органы и ткани, относящиеся к репродуктивной системе, а следовательно, имеют непосредственное влияние на репродуктивную функцию и продолжение рода [3]. Микрофлора влагалища играет исключительно важную роль, и ее следует рассматривать как своеобразную экологическую систему, реагирующую на любые изменения состояния организма женщины. Клинически выраженные генитальные инфекции этиологически связаны с условно-патогенными микроорганизмами (УПИМ) в 20–60 % случаев [1, 11]. Многие исследователи считают, что практически все микроорганизмы (за исключением бифидо- и лактобактерий) могут принимать участие в воспалительном процессе. Бактерии рода *Enterococcus* интересны тем, что её представителей в норме обнаруживают во всех отделах пищеварительного тракта здоровых людей разного возраста. В

то же время они являются представителями группы УПМ, способными вызывать энтерококковые инфекции и аутоинфекцию, а при накоплении в окружающей среде – приводить к экзогенному инфицированию [2, 4, 5]. Энтерококки двух видов: *E. faecalis* и *E. faecium*, – при снижении резистентности организма нередко вызывают серьезные гнойно-воспалительные заболевания [8, 14, 15]. Ключевым критерием при дифференцировке полезных для человека *Enterococcus* от патогенных является наличие или отсутствие у штамма набора генов патогенности [16]. Поэтому для разграничения потенциально опасных и полезных штаммов необходим анализ их генетического профиля [2]. Чистые культуры энтерококков и другие представители УПМ (в общей пробе) в работе исследовались с помощью стандартного метода ПЦР на наличие двух медицински значимых видов – *E. faecium* и *E. faecalis*, а также определялись 4 гена патогенности (ГП): ген поверхностных белков, адгезинов (*asa1*) [7] и ген, кодирующий синтез факторов вирулентности – цитолизина (*cylA*) [17, 18], и две пары специфических праймеров (табл. 2), определяющие наличие генов, ассоциированных с «островами» патогенности: *stx1* и *stx2* (отвечающих за продукцию шига-подобных токсинов), иначе называемых веро-токсинами (Vero-toxin I и II, VT1 и VT2). Большинство исследователей полагают, что именно данные гены наиболее важны для развития инфекционного процесса [20].

В связи с этим **целью** настоящего исследования являлось определение геновидовой и генопатогенной структуры бактерий рода *Enterococcus*, а также выявление факторов патогенности у других представителей условно-патогенной микрофлоры в трех исследуемых биотопах – вагинальном, кишечном и носоглоточном – у женщин контрольной группы и группы женщин с неспецифическими воспалительными заболеваниями половых путей и репродуктивными нарушениями.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Микробиологическое обследование исследуемых биотопов (кишечного, вагинального и носоглоточ-

ного) у женщин контрольной группы и у женщин с воспалительными заболеваниями половых путей (опытная группа) проводилось на базе лаборатории микрoэкологии ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН. В статье приведены материалы, полученные с 2013 по 2014 гг. Контрольная группа – это здоровые женщины фертильного возраста (28 человек, средний возраст – 29,7 лет). Оценка категорий фертильности проводилась в соответствии со стандартизованным протоколом ВОЗ № 88093 (фертильные – женщины, имевшие беременность в течение текущего года или продолжающие сохранять беременность в данное время). Опытная группа – 44 женщины с воспалительными заболеваниями полового тракта и репродуктивными нарушениями (средний возраст – 30,8 лет). Характер выявленных гинекологических нарушений рублифицирован в соответствии с МКБ-10.

Материалом исследования явились копрологические пробы, мазок на микрофлору из влагалища (задний свод), шейки матки и мазки из носоглотки, взятые одновременно от каждой женщины. Также материалом исследования были индигенные аутоштаммы микроорганизмов, ДНК микроорганизмов и праймеры для индикации факторов патогенности. В работе исследовано 216 проб. У 28 здоровых женщин исследованы 15 проб из кишечного биотопа, 18 проб из вагинального биотопа и 19 проб из носоглотки. У 44 женщин с неспецифическими воспалительными заболеваниями половых путей и с нарушениями репродуктивной функции исследованы 29 проб из кишечного биотопа, 17 проб из вагинального биотопа и 37 проб из носоглотки. Из исследования были исключены женщины с урогенитальными инфекциями, передаваемыми половым путем.

Изучался состав УПМ и концентрация лактобактерий. Микробиологические исследования биотопа влагалища проводили, согласно [9, 12, 13]. Для сбора, транспортировки и хранения всех групп микроорганизмов использовали транспортную среду AMIES без угля (модификация среды STUART (HIMEDIA)). Родовую

Таблица 1

Характеристики праймеров, используемых в работе

Виды, гены		Последовательности ДНК праймеров (5'–3')	Размер ампликона (п. н.)
<i>Enterococcus faecium</i>	F	TTG AGG CAG ACC AGA TTG ACG	658
	R	TAT GAC AGC GAC TCC GAT TCC	
<i>Enterococcus faecalis</i>	F	TCA AGT ACA GTT AGT CTT TAT TAG	941
	R	ACG ATT CAA AGC TAA CTG AAT CAG T	
<i>asa1</i>	F	CCA GCC AAC TAT GGC GGA ATC	529
	R	CCT GTC GCA AGA TCG ACT GTA	
<i>cylA</i>	F	ACT CGG GGA TTG ATA GGC	688
	R	GCT GCT AAA GCT GCG CTT	
<i>stx1</i>	F	CGC TGA ATG TCA TTC GCT CTG C	302
	R	CGT GGT ATA GCT ACT GTC ACC	
<i>stx2</i>	F	CTT CGG TAT CCT ATT CCC GG	516
	R	CTG CTG TGA CAG TGA CAA AAC GC	

и видовую идентификацию культур осуществляли на основании морфологических, культуральных и биохимических свойств выделенных микроорганизмов. Культивирование микрофлоры вагинального отделяемого проводили в аэробных и микроаэрофильных условиях. Для выделения лактобактерий и представителей УПМ использовали мясо-пептонный агар с добавлением донорской крови. Грибы рода *Candida* выращивали на среде Сабуро. Инкубировали посеvy при 37 °C.

Бактериальную ДНК выделяли из суточной культуры, выращенной при 37 °C. Материал, полученный в результате нескольких касаний газона петлей, помещали в 200 мкл Tris-EDTA (TE) буфера в пробирки типа «Eppendorf» и ресуспендировали с помощью вортекса. Выделение ДНК из суспензии осуществляли с помощью комплекта набора реагентов «ДНК-сорб-АМ» (Россия), согласно протоколу производителя. Амплификацию проводили с использованием коммерческого набора AmpliSens-200-1 (Россия, ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора). Реакционную смесь доводили до объёма 15 мкл, которая включала: 3 мкл 5 × ПЦР буфера, 0,3 мкл dNTPmix, 1,5 мкл MgSO₄, 8,2 мкл H₂O MilliQ, по 1 мкл F- и R-праймеров, 0,05 мкл Taq-полимеразы. ПЦР проводили с 6 парами бактериальных праймеров: 2 пары – видовые на *E. faecium*, *E. faecalis*, 2 пары, позволяющие выявлять гены патогенности *Enterococcus* – ген поверхностных белков, адгезинов (*asa1*) и ген, кодирующий синтез факторов вирулентности – цитолизина (*cylA*), 2 пары специфических праймеров (табл. 1), определяющих наличие генов, ассоциированных с «островами» патогенности: *stx1* и *stx2*. Факторы патогенности *stx1* и *stx2* отвечают за продукцию шига-подобных токсинов, иначе называемых веро-токсинами (Vero-toxin I и II, VT1 и VT2). Характеристика и структура праймеров взята из литературных источников [19].

Термическая программа цикла амплификации с видовыми праймерами (*E. faecium* и *E. faecalis*) и праймерами на гены патогенности (*asa1*, *cylA*) проводилась на амплификаторе (Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler) и определялась методом подбора режимов реакции. После оптимизации режима амплификации ПЦР со всеми парами праймеров проводили в условиях: первоначальная денатурация 95 °C – 2 мин; далее 35 циклов в режимах 95 °C – 20 сек, 55 °C – 20 сек, 72 °C – 30 сек; финальная элонгация 72 °C – 5 мин, охлаждение до 4 °C. Режим амплификации с праймерами *stx1* и *stx2* был следующим: 94 °C – 2 мин; 35 циклов при 94 °C – 1 мин, 55 °C – 1 мин,

72 °C – 1 мин; финальная элонгация 72 °C – 3 мин; охлаждение до 4 °C. ПЦР-продукты амплификации визуализировали в 1%-м агарозном геле в 0,5 × ТА буфере (трис-ацетатный), содержащем 4 мкг/мл бромистого этидия, 5 мкг/мл маркера молекулярной массы (использовали O'RangeRuler 100 bp DNA Ladder или O'RangeRuler 200 bp DNA Ladder производства «Fermentas»), в качестве отрицательного контроля использовали реакционную смесь, не содержащую ДНК. Режим электрофореза: 120 В, 50 мА, 30–50 мин. Результаты визуализировали в ультрафиолетовом свете и документировали с помощью программы inVCR на трансиллюминаторе UVT 1 biokom.

Для статистической обработки результатов использовали пакет прикладных программ STATISTICA 6.0, Microsoft Excel 2003.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

В соответствии с характером репродуктивных нарушений у пациенток опытной группы были сформированы клинические группы (табл. 2). Группы разделены на основании особенностей патологического процесса и анатомо-этиологического принципа [10]. Мы исключили из исследования все абсцессы малого таза (дугласова пространства, околоматочные, межэпителиальные и др.) и острые состояния воспалительного процесса. Однако каждую из женщин нельзя было отнести в конкретную группу, так как у каждой второй клинические группы сочетались и были чаще всего отягощены хроническими лор-заболеваниями (хронический тонзиллит, гайморит, ангина) и другими соматическими заболеваниями, такими как гастрит, запоры, цистит, полипы желчного пузыря, хронический холецистит.

По результатам ПЦР-анализа идентифицированных ДНК фрагментов по всем исследуемым генам видов энтерококков и в контрольной, и в опытной группе присутствовал *E. faecium* (табл. 3). У здоровых женщин *E. faecium* встречался в вагинальном (5,6 %) и носоглоточном (15,8 %) биотопах, а в кишечном не был выделен. У женщин с патологией все с точностью наоборот – *E. faecium* был выделен только из кишечного биотопа (6,9 %). *E. faecalis* у здоровых женщин ни в одном из трех биотопов не был выделен, у женщин с патологией был выделен из вагинального (5,8 %) и кишечного (3,4 %) биотопов.

Анализируя полученные результаты на наличие генов патогенности (табл. 4), мы видим, что у женщин

Таблица 2

Виды воспалительных заболеваний у женщин (2013–2014 гг.)

Группа	Виды воспалительных заболеваний и группа с репродуктивными нарушениями	Нозологические формы (МКБ-10)
1	Цервицит (эрозия шейки матки)	72
	Кольпит	76
2	Хронический сальпингоофорит	70.1
	Хронический эндометрит	71
3	Бесплодие	97.9
	Невынашивание беременности	26.2

Таблица 3
Распределение частот встречаемости видов *E. faecium* и *E. faecalis* у обследованных женщин (2013–2014 гг.)

Биотоп		Контрольная группа (n = 28)			Опытная группа (n = 44)		
		Вагинальный (n = 18)	Кишечный (n = 15)	Носоглоточный (n = 19)	Вагинальный (n = 17)	Кишечный (n = 29)	Носоглоточный (n = 37)
Виды	<i>E. faecium</i>	1 / 5,6 %	–	3 / 15,8 %	–	2 / 6,9 %	–
	<i>E. faecalis</i>	–	–	–	1 / 5,8 %	1 / 3,4 %	–

Таблица 4
Распределение частот встречаемости генов патогенности в различных биотопах у обследованных женщин (2013–2014 гг.)

Биотоп		Контрольная группа (n = 28)			Опытная группа (n = 44)		
		Вагинальный (n = 18)	Кишечный (n = 15)	Носоглоточный (n = 19)	Вагинальный (n = 17)	Кишечный (n = 29)	Носоглоточный (n = 37)
Гены патогенности	asa1	2 / 11 %	–	–	–	2 / 6,9 %	4 / 10,8 %
	cyl A	1 / 5,6 %	–	2 / 10,5 %	–	3 / 10,3 %	–
	stx1	–	3 / 20 %	–	1 / 5,8 %	–	1 / 2,7 %
	stx2	–	–	2 / 10,5 %	–	1 / 3,4 %	2 / 5,4 %

с патологиями гены патогенности чаще всего были выявлены из кишечного биотопа – три из четырех исследуемых гена патогенности – asa1 (6,9 %), cylA (10,3 %) и stx2 (3,4 %). У здоровых женщин из кишечного биотопа в 20 % случаев был выделен только stx1, а stx2 был выделен только из носоглоточного биотопа в 10,5 % случаев. Фактор патогенности asa1 был выделен в 11 % случаев и только из вагинального биотопа, а cylA – в 5,6 % случаев. Также cylA был выделен и из носоглоточного биотопа в 10,5 % случаев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты говорят о том, что у женщин с различными неспецифическими воспалениями полового тракта и репродуктивными нарушениями во всех исследуемых биотопах подтверждается факт наличия резервуара потенциальной патогенности. У здоровых женщин имеются начальные признаки дисбиоза в исследуемых биотопах (в вагинальном и носоглоточном биотопе), а наличие веротоксина 1 в 20 % случаев (из кишечного биотопа) подтверждает это.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

- Афанасьев С.С., Онищенко Г.Г., Алешкин В.А., Афанасьев М.С. Интерфероновый статус, препараты интерферона в лечении и профилактике инфекционных заболеваний и реабилитации больных. – М.: Триада-Х, 2005.
- Afanasyev S.S., Onishchenko G.G., Alyoshkin V.A., Afanasyev M.S. Interferon status, interferon preparations in the treatment and prevention of infectious diseases and patients' rehabilitation. – Moscow, 2005. (in Russian)
- Билимова С.И. Характеристика факторов персистенции энтерококков // Микробиология. – 2000. – № 4. – С. 104–105.
- Bilimova S.I. Characteristics of enterococcus persistence factors // Mikrobiologiya. – 2000. – N 4. – P. 104–105. (in Russian)

- Бондаренко В.М., Рябиченко Е.В. Роль дисфункции кишечного барьера в поддержании хронического воспалительного процесса различной локализации // Журн. микробиол. – 2010. – № 1. – С. 92–100.

Bondarenko V.M., Ryabichenko E.V. Role of dysfunction of intestinal barrier in the maintaining of chronic inflammatory process of different localization // Zhurn. mikrobiol. – 2010. – N 1. – P. 92–100. (in Russian)

- Бондаренко В.М., Суворов А.Н. Симбиотические энтерококки и проблемы энтерококковой оппортунистической инфекции. – М., 2007. – 30 с.

Bondarenko V.M., Suvorov A.N. Symbiotic enterococcus and problems of enterococcus opportunistic infection. – Moscow, 2007. – 30 p. (in Russian)

- Вершинин А.Е. и др. Генетическая идентификация как способ выявления патогенных и симбиотических штаммов энтерококков // Журн. микроб. эпидем. иммунологии. – 2008. – № 5. – С. 83–87.

Vershinin A.E. et al. Genetic identification as a method of determination of pathogenic and symbiotic enterococcus strains // Zhurn. mikrob. jepidem. immunologii. – 2008. – N 5. – P. 83–87. (in Russian)

- Воронин К.В., Чуйко В.И., Сааданакла Б. Бактериальный вагиноз беременных: проблемы и решения. – 2011. – Вып. 16 (4). – С. 97–106.

Voronin K.V., Chuiko V.I., Saadanakhla B. Bacterial vaginosis of pregnant women: problems and solutions. – 2011. – Vol. 16 (4). – P. 97–106. (in Russian)

- Габриэлян И.Н. и др. Энтерококки как возбудители инфекционных послеоперационных осложнений // Микробиология. – 2007. – № 4. – С. 50–53.

Gabrielyan I.N. et al. Enterococcus as the agents of infectious postoperative diseases // Mikrobiologiya. – 2007. – N 4. – P. 50–53.

- Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз (клиника, диагностика, лечение): автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – СПб., 1995. – 22 с.

Kira E.F. Bacterial vaginosis (clinics, diagnostics, treatment): abstract of dissertation of Doctor of Medical Sciences. – St. Petersburg, 1995. – 22 p. (in Russian)

9. Клиника и диагностика бактериального вагиноза / Под ред. Е.Ф. Кира // Акушерство и гинекология. – 1994. – № 2. – С. 32–35.

Clinics and diagnostics of bacterial vaginosis / Ed. by E.F. Kira // Akusherstvo i ginekologija. – 1994. – N 2. – P. 32–35. (in Russian)

10. Леденева Л.И. Диагностические критерии проведения общей бактериальной терапии у беременных с наличием очага инфекции: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Барнаул, 1996. – 27 с.

Ledeneva L.I. Diagnostic criteria of general bacterial therapy in pregnant women with nidus of infection: abstract of dissertation of Candidate of Medical Sciences. – Barnaul, 1996. – 27 p. (in Russian)

11. Онищенко Г.Г., Алешкин В.А., Афанасьев С.С. Иммунологические препараты и перспективы их применения в инфектологии. – М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2002.

Onishchenko G.G., Alyoshkin V.A., Afanasjev S.S. Immunological preparations and prospect of their application in infectology. – Moscow, 2002. (in Russian)

12. Покровский В.И., Поздеев О.К. Медицинская микробиология. – М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1998. – 1200 с.

Pokrovskiy V.I., Pozdeev O.K. Medical microbiology. – Moscow, 1998. – 1200 p. (in Russian)

13. Приказ МЗ СССР № 535 от 22 апр. 1985 г. «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». – М., 1989.

Order of Public Health Ministry of USSR N 535 d.d. 22.04.1985 "To the standardization of microbiological (bacteriological) methods of research used in clinical-diagnostic laboratories of medical preventive institutions". – Moscow, 1989. (in Russian)

14. Сидоренко С.В. Клиническое значение антибиотикорезистентности грамположительных микроорганизмов // Инфекции и антимикробная терапия. – 2003. – № 5. – С. 3–15.

Sidorenko S.V. Clinical significance of antibiotic resistance of gram-positive microorganisms // Infekcii i antimikrobnaja terapija. – 2003. – N 5. – P. 3–15. (in Russian)

15. Сидоренко С.В., Яковлев С.В. Инфекции в интенсивной терапии. – М.: Бионика, 2003. – 208 с.

Sidorenko S.V., Yakovlev S.V. Infections in intensive care. – Moscow, 2003. – 208 p. (in Russian)

16. Шабанова Н.А., Бондаренко В.М. Различия по набору генов патогенности у штаммов *Escherichia coli*, продуцирующих шига-подобные токсины // Журн. микроб. эпидем. иммунологии. – 2009. – № 5. – С. 4–8.

Shabanova N.A., Bondarenko V.M. Differences in pathogenicity genetic composition in *Escherichia coli* strains producing shiga-like toxins // Zhurn. mikrob. jepidem. immunologii. – 2009. – N 5. – P. 4–8. (in Russian)

17. Щелкунов С.Н. Генетическая инженерия: 2-е изд. – Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2004. – С. 496.

Shchelkunov S.N. Genetic engineering: 2nd ed. – Novosibirsk, 2004. – P. 496. (in Russian)

18. Begley M., Gahan C.G., Hill C. The interaction between bacteria and bile // FEMS Microbiol. Rev. – 2005. – N 29. – P. 625–651.

19. Blanco M. et al. Serotypes, virulence genes, and intimin types of shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from healthy sheep in Spain // J. Clin. Microbiol. – 2003. – Vol. 41, N 4. – P. 1351–1356.

20. Cho S.-H. et al. A case of a shiga-toxin producing *Escherichia coli* // Yonsei Med. J. – 2011. – N 52 (6). – P. 1039–1043.

Сведения об авторах

Кунгурцева Екатерина Александровна – младший научный сотрудник лаборатории микрoэкологии Института эпидемиологии и микрoбиологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН (664025, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 3; тел.: 8 (3952) 33-34-41; e-mail: ekaterina_kozlova_84@bk.ru)

Джигоев Юрий Павлович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории молекулярной вирусологии и биотехнологии НИИ биомедицинских технологий Иркутского государственного медицинского университета; старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН

Лещенко Ольга Ярославна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории социально значимых инфекций в репродуктологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН

Попкова София Марковна – доктор биологических наук, руководитель лаборатории микрoэкологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН

Загвозкина Анастасия Васильевна – студентка 5 курса кафедры физико-химической биологии биолого-почвенного факультета Иркутского государственного университета

Information about the authors

Kungurtseva Yekaterina Aleksandrovna – Junior Research Officer of the Laboratory of Microecology of Institute of Epidemiology and Microbiology of Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS (664025, Irkutsk, ul. Karla Marksa, 3; tel.: +7 (3952) 33-34-41; e-mail: ekaterina_kozlova_84@bk.ru)

Dzhioev Yuri Pavlovich – Candidate of Medical Sciences, Leading Research Officer, Head of the Laboratory of Molecular Virusology and Biotechnology of Research Institute of Biomedical Technologies of Irkutsk State Medical University, Senior Research Officer of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Testing of Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS

Leshchenko Olga Yaroslavna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Socially Significant Infections in Reproductology of Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS

Popkova Sofia Markovna – Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Microecology of Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS

Zagvozkina Anastasia Vasiljevna – 5-year Student of the Department of Physico-Chemical Biology of the Faculty of Biology and Soil Science of Irkutsk State University

И.Г. Моторина ¹, Г.Г. Юшков ², Л.К. Куликов ¹, М.М. Расулов ³, О.Г. Щукина ², Н.А. Малышкина ²**ДИНАМИКА БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРОЛИКОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ СВЕТОЛЕЧЕНИЯ ПОСЛЕ ЛОКАЛЬНОГО ТЕРМИЧЕСКОГО ОЖОГА КОЖИ**¹ Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования (Иркутск)² Ангарская государственная техническая академия (Ангарск)³ Государственный научно-исследовательский институт химии и технологии элементоорганических соединений (Москва)

В статье приводятся данные о динамике некоторых биохимических показателей в сыворотке крови кроликов (общий белок, аланинаминотрансфераза, мочевины, креатинин, общий холестерин, глюкоза) в процессе светолечения локальной термической раны кожи с применением аппаратов «Биоптрон», «Рикта», «Азор», ОКН-11М, БОП-4 в срок от 5 до 15 суток от момента нанесения раны. Полученный материал свидетельствует о развитии ответной реакции организма на локальную рану в виде ряда метаболических процессов, направленных на поддержание постоянной среды организма, но выраженных в меньшей степени, чем при обширных ожогах. Проведенный курс светолечения достаточно эффективно, но без отчетливой дифференцировки по способам терапии оказывает положительное влияние на нормализацию биохимических показателей сыворотки крови.

Ключевые слова: локальный термический ожог, светолечение, биохимия крови, эксперимент

DYNAMICS OF BIOCHEMICAL INDICES OF BLOOD SERUM IN RABBITS UNDER THE INFLUENCE OF PHOTOTHERAPY AFTER LOCAL SKIN THERMAL BURNI.G. Motorina ¹, G.G. Yushkov ², L.K. Kulikov ¹, M.M. Rasulov ³, O.G. Shchukina ², N.A. Malyshkina ²¹ Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk² Angarsk State Technical Academy, Angarsk³ State Research Institute for Chemistry and Technology of Organoelement Compounds, Moscow

The article presents data on the dynamics of some biochemical indices in blood serum of rabbits (total protein, alanine aminotransferase, urea, creatinine, total cholesterol, glucose) during phototherapy of local skin thermal injury using "Bioptron", "Rikta", "Azor", OKN-11M, BOP-4 devices in 5–15 days after wounding. Obtained data testifies to the development of the response of an organism in the form of metabolic processes aimed at the maintenance of constant internal environment but expressed less than at vast burns. Course of phototherapy quite effectively but without distinct differentiation by the method of therapy has positive effect on the normalization of biochemical indices of blood serum.

Key words: local thermal burn, phototherapy, blood biochemistry, experiment

Постоянно возрастающее количество больных (50–60% от общего числа находящихся на стационарном лечении [6]) с локальными глубокими раневыми поражениями кожи, в том числе и с термическими ожогами, на фоне высоких требований к качеству жизни стимулирует совершенствование подходов к лечению этой категории пациентов [5]. В обстоятельном обзоре литературы О.А. Кудзоевым [7] освещены актуальные вопросы хирургического лечения больных с такого рода повреждениями, где совершенно не умаляется роль приемов физической реабилитации обожженных, а, более того, указывается на важность консервативных мероприятий [1, 12], что открывает возможности физических факторов в их влиянии на патогенетические звенья и клинические проявления в том числе и при ожоговой травме [9]. Однако консервативные мероприятия зачастую оказываются недостаточно эффективными, что, по-видимому, связано с трудностями выбора того или иного метода при их отчетливом многообразии и со сложностью оценочного понятия «эффективность» при малоэффективном практическом использовании клинко-лабораторных приемов диагностики, динамики заживления локальной ожоговой раны, не подпадающей под категорию «ожоговая болезнь». Невозможно допустить, чтобы такие исследования не проводились, особенно в условиях эксперименталь-

но-биологического моделирования, тем не менее в доступных источниках информации они освещены крайне скудно. В связи с этим целью данной работы является сравнительная оценка влияния различных приемов светолечения локальной термической травмы кожи на динамику ряда биохимических показателей в сыворотке крови подопытных животных.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программ Microsoft Office Excel 2007 и Biostat. Сравнение между группами по количественным признакам в условиях подчинения закону нормального распределения приводили с применением t-критерия. Различия между показателями считались значимыми при $p \leq 0,05$.

Исследования выполнены на 64 кроликах серой масти массой 3600 ± 150 г, выращенных в специализированном виварии НИИ биофизики АГТА (ветудостоверение 238 № 0018942) и находившихся в стандартных условиях содержания при свободном доступе к воде и корму. Рану наносили специальным прибором («Аппарат для ожога тепловым излучением» Е.В. Гублера и М.И. Кочетыгова [3]), температура обжигающей поверхности на выбриту кожу боковой поверхности тела – 800° , время контакта – 3 сек, размер раны – 24 см^2 , наркоз тиопенталовый (2–4 мл 0,1% раствора внутривенно). На выполнение работ получено согласие локального этического комитета.

Все работы проводились в полном соответствии с существующими требованиями [4, 10, 11].

Лечение начинали с пятого дня после нанесения раны по схеме (табл. 1). Одновременно был использован интактный и позитивный контроль. Каждая группа была представлена 8 животными. Образцы крови брали из краевой вены уха. Полученную сыворотку исследовали на содержание глюкозы глюкозооксидазным методом с использованием реактивов Diocan, мочевины – кинетическим уреазным методом, общего белка – биуретовым методом, холестерина – ферментным методом, креатинина – по Попперу [2].

Снятие показателей проводилось на пятые и пятнадцатые сутки от момента нанесения раны. Продолжительность физиотерапии с использованием любого из приемов – 10 дней (с 5 по 15-й день от момента нанесения раны).

В результате проведенных исследований установлено, что содержание глюкозы в сыворотке крови животных в течение первых 5 дней после нанесения раны статистически значимо снижалось, по сравнению с контролем и исходными величинами показателя. В ходе дальнейших наблюдений содержание глюкозы повышалось особенно в III и IV группах животных, в то время как во II, V и VI группах оно было незначительным. Группа I по этому показателю от животных, не получавших лечения, не отличалась (табл. 2).

Содержание общего белка в сыворотке крови животных оказалось менее динамичным: после статистически достоверного повышения до начала лечения в процессе терапии снижалось, не отличаясь существенно от группы, ее не получавшей, а также без отчетливых различий между группами с разными режимами лечения (табл. 3).

Таблица 1

Методические приемы физиолечения ран в условиях эксперимента

Группа	Тип аппарата	Оптический диапазон	Длина волны (Нм)	Режим	Мощность излучения	Расстояние от торца излучателя до раны (см)	Методики по 10 сеансов
1	Биоптрон Компакт	Поляризованный свет	480–3400	Непрерывный	20 Вт	5	1 – 5 мин 2 – 6 мин 3 – 7 мин 4 – 8 мин 5 – 9 мин 6–10 – 10 мин
2	Рикта 04/4	Инфракрасный спектр	890–960	Импульсный	40 Вт	1	Чередовать через день 1000 Гц – 5 мин Переменная частота – 5 мин
3	Рикта 04/4	Инфракрасный спектр	890–960	Импульсный	40 Вт	1	Переменная частота – 2 мин
	Азор-2К-02	Красный спектры	630	Непрерывный	30 мВт	1	Переменная частота – 2 мин
4	Азор-2К-02	Красный спектр	630	Непрерывный	30 мВт	1	Переменная частота – 2 мин
5	ОКН-11М Лампа ДРТ 240-1	Ультрафиолетовый спектр (В) средневолновой	240–320	Непрерывный	100 Вт	75	1 – 1/2 биодозы 2 – 1 биодоза 3 – 1 1/2 биодозы 4 – 2 биодозы 5–10 – 2 биодозы
6	БОП-4 Лампа ВРМ	Ультрафиолетовый спектр (С) коротковолновой	180–280	Непрерывный	140 Вт	12	Через день 1 – 4 биодозы 2 – 4 биодозы 3 – 4 биодозы 4 – 5 биодоз 5 – 6 биодоз

Таблица 2

Динамика содержания глюкозы в сыворотке крови кроликов в процессе заживления локального термического ожога кожи при использовании некоторых приемов светолечения

№	Прием светолечения	Исходная величина показателя (ммоль/л)	Через 5 дней после нанесения раны (до начала лечения)	Через 10 дней после нанесения раны (после курса лечения)
1	Контроль интактный	6,1 ± 0,1	6,2 ± 0,07	6,1 ± 0,04
2	Животные, не получавшие лечения	6,2 ± 0,04	5,0 ± 0,14	8,9 ± 0,38*
3	I	6,1 ± 0,08	5,2 ± 0,07	8,8 ± 0,3*
4	II	6,1 ± 0,09	4,8 ± 0,2	7,6 ± 0,45*
5	III	6,1 ± 0,08	4,8 ± 0,1	9,9 ± 0,5*
6	IV	6,2 ± 0,08	4,9 ± 0,1	6,7 ± 0,1*
7	V	6,2 ± 0,07	5,4 ± 0,1	7,7 ± 0,1*
8	VI	6,1 ± 0,08	5,3 ± 0,1	7,1 ± 0,06*

Примечание. * – отличия от контроля интактного и исходного значений значимы при $p \leq 0,05$.

Содержание мочевины в сыворотке крови животных во всех подопытных группах имело ту же тенденцию при достоверном отличии от интактного контроля, но без существенных различий между группами (табл. 4).

Содержание креатинина в сыворотке крови животных через 5 дней от момента нанесения термической травмы оказалось несколько повышенным, но в процессе лечения снизилось до контрольного уровня у животных всех сравниваемых групп (табл. 5).

Что касается содержания аланинаминотрансферазы в сыворотке крови, то через 5 дней оно повысилось почти в 2 раза и продолжало повышаться в течение всего периода лечения, за исключением группы II и IV, где отмечено снижение, не достигшее, однако, уровня контроля (табл. 6).

Некоторые особенности были отмечены при исследовании содержания общего холестерина в сыворотке крови кроликов: если первые 5 дней этот показатель ожидаемо возрастал, то в процессе светолечения существенно снижался, по сравнению с контролем и с группой животных, не получавших лечения (группы I, II, IV, V, VI) (табл. 7).

С точки зрения теории термического ожога с момента травмы в организме возникает ряд метаболи-

ческих процессов, направленных на поддержание соответствия между уровнем гликемии и повышенным энергопотреблением, источниками чего являются глюкоза и жирные кислоты [8] при обширном ожоге. Однако, учитывая полученные данные эксперимента с локальной травмой, можно предполагать, что и в данном случае запускается тот же механизм, хотя и выраженный в меньшей степени, о чем свидетельствует динамика глюкозы и холестерина в сыворотке крови животных. Способ физиолечения существенно на этот механизм не повлиял, за исключением общего холестерина, уровень которого в процессе лечения отчетливо, не только статистически достоверно, но и клинически значимо снизился, по-видимому за счет сбалансированного повышения глюкозы. Содержание же общего белка в сыворотке крови оказалось мало-выразительным и с диагностических позиций мало-перспективным. Незначительная и относительная гиперпротеинемия, по-видимому, связана с некоторой дегидратацией у животных, о чем свидетельствовало повышение содержания мочевины в сыворотке крови, равно как и в результате активированного синтеза мочевины. Снижение клубочковой фильтрации в связи с разрушением мышечных белков в течение первых 5 дней после термической травмы сопровождалось

Таблица 3
Динамика содержания общего белка в сыворотке крови кроликов в процессе заживления локального термического ожога кожи при использовании некоторых приемов светолечения

№	Прием светолечения	Исходная величина показателя (г/л)	Через 5 дней после нанесения раны (до начала лечения)	Через 10 дней после нанесения раны (после курса лечения)
1	Контроль интактный	67,0 ± 0,4	66,6 ± 0,4	66,9 ± 0,3
2	Животные, не получавшие лечения	66,4 ± 0,3	78,0 ± 1,4*	70,8 ± 0,6*
3	I	67,3 ± 0,4	76,0 ± 1,3*	70,9 ± 0,6*
4	II	66,7 ± 0,4	78,2 ± 1,0*	72,6 ± 1,2*
5	III	67,0 ± 0,4	79,5 ± 0,7 *	71,4 ± 0,4*
6	IV	66,2 ± 0,4	79,0 ± 0,8*	71,2 ± 1,1*
7	V	67,3 ± 0,7	77,3 ± 1,6*	70,8 ± 0,5*
8	VI	65,9 ± 0,5	78,3 ± 0,8*	69,0 ± 0,8*

Примечание. * – отличия от контроля интактного и исходного значений значимы при $p \leq 0,05$

Таблица 4
Динамика содержания мочевины в сыворотке крови кроликов в процессе заживления локального термического ожога кожи при использовании некоторых приемов светолечения

№	Прием светолечения	Исходная величина показателя (моль/л)	Через 5 дней после нанесения раны (до начала лечения)	Через 10 дней после нанесения раны (после курса лечения)
1	Контроль интактный	6,1 ± 0,04	6,2 ± 0,05	6,2 ± 0,04
2	Животные, не получавшие лечения	6,2 ± 0,06	7,5 ± 0,2*	8,1 ± 0,2*
3	I	6,2 ± 0,03	7,4 ± 0,1*	7,1 ± 0,09*: **
4	II	6,2 ± 0,06	7,5 ± 0,1*	6,8 ± 0,08*: **
5	III	6,2 ± 0,04	7,5 ± 0,09*	7,2 ± 0,04*: **
6	IV	6,2 ± 0,06	7,5 ± 0,06 *	7,0 ± 0,03*: **
7	V	6,2 ± 0,05	7,5 ± 0,06 *	7,3 ± 0,05*: **
8	VI	6,1 ± 0,05	7,3 ± 0,06*	7,2 ± 0,06*: **

Примечание. * – отличия от контроля интактного и исходного значения значимы при $p \leq 0,05$; ** – отличия от контроля позитивного значимы при $p \leq 0,05$.

Таблица 5

Динамика содержания креатинина в сыворотке крови кроликов в процессе заживления локального термического ожога кожи при использовании некоторых приемов светолечения

№	Прием светолечения	Исходная величина показателя (моль/л)	Через 5 дней после нанесения раны (до начала лечения)	Через 10 дней после нанесения раны (после курса лечения)
1	Контроль интактный	106,6 ± 0,5	107,0 ± 0,5	106,6 ± 0,4
2	Животные, не получавшие лечения	106,6 ± 0,5	118,6 ± 1,8*	112,8 ± 1,98*
3	I	106,5 ± 0,7	119,6 ± 0,65*	99,5 ± 1,6*
4	II	106,3 ± 0,6	118,6 ± 1,2*	94,2 ± 2,5*
5	III	106,2 ± 0,5	119,2 ± 0,9*	104,5 ± 3,5
6	IV	106,0 ± 0,38	119,8 ± 0,4*	103,8 ± 3,5
7	V	106,0 ± 0,4	118,5 ± 0,5*	98,4 ± 1,3*
8	VI	106,0 ± 0,4	117,1 ± 0,46*	85,7 ± 2,83*

Примечание. * – отличия от контроля интактного и исходного значения значимы при $p \leq 0,05$.

Таблица 6

Динамика содержания аланинаминотрансферазы в сыворотке крови кроликов в процессе заживления локального термического ожога кожи при использовании некоторых приемов светолечения

№	Прием светолечения	Исходная величина показателя (ед./л)	Через 5 дней после нанесения раны (до начала лечения)	Через 10 дней после нанесения раны (после курса лечения)
1	Контроль интактный	29,7 ± 0,5	30,0 ± 0,4	29,5 ± 0,4
2	Животные, не получавшие лечения	29,5 ± 0,3	57,5 ± 1,1*	63,1 ± 2,7*; **
3	I	29,5 ± 0,3	56,6 ± 1,9*	95,4 ± 5,6*; **
4	II	29,7 ± 0,4	58,8 ± 3,4*	46,6 ± 5,7*; **
5	III	29,5 ± 0,5	58,5 ± 1,9*	70,4 ± 7,4*; **
6	IV	28,8 ± 0,5	60,4 ± 2,8*	42,8 ± 4,6*; **
7	V	28,8 ± 0,6	59,6 ± 1,6*	84,8 ± 3,4*; **
8	VI	29,9 ± 0,6	58,0 ± 1,4*	74,7 ± 1,9*; **

Примечание. * – отличия от контроля интактного и исходного значений значимы при $p \leq 0,05$; ** – отличия от контроля позитивного значимы при $p \leq 0,05$.

Таблица 7

Динамика содержания общего холестерина в сыворотке крови кроликов в процессе заживления локального термического ожога кожи при использовании некоторых приемов светолечения

№	Прием светолечения	Исходная величина показателя (ед./л)	Через 5 дней после нанесения раны (до начала лечения)	Через 10 дней после нанесения раны (после курса лечения)
1	Контроль интактный	1,5 ± 0,04	1,5 ± 0,09	1,5 ± 0,1
2	Животные, не получавшие лечения	1,5 ± 0,04	1,8 ± 0,1*	1,4 ± 0,08*
3	I	1,5 ± 0,03	1,8 ± 0,06	0,9 ± 0,1*
4	II	1,5 ± 0,1	1,8 ± 0,05	1,3 ± 0,2*
5	III	1,5 ± 0,03	1,9 ± 0,05	0,9 ± 0,15*
6	IV	1,5 ± 0,05	1,8 ± 0,05	0,8 ± 0,07
7	V	1,5 ± 0,06	1,8 ± 0,06	0,8 ± 0,07*; **
8	VI	1,5 ± 0,04	1,8 ± 0,08	0,6 ± 0,08*; **

Примечание. * – отличия от исходного уровня и интактного контроля значимы при $p \leq 0,05$; ** – отличия от позитивного контроля значимы при $p \leq 0,05$.

повышением содержания в сыворотке крови креатинина, в процессе лечения вернувшись к контрольному уровню. И этот показатель в условиях данного эксперимента не обрел значения дифференциально-диагностического критерия в оценке эффективности того или иного способа светолечения: точнее, все они оказались достаточно эффективными.

Повышение содержания аланинаминотрансферазы в сыворотке крови, безусловно, не связано с повреждением клеток печени, а индуцировано за счет повышения уровня аланина в крови – постоянного спутника ожоговой травмы. Одним из подтверждающих признаков этого служит и повышение содержания глюкозы в сыворотке. По данному фермента-

тивному признаку эффективнее других оказались приемы светолечения в группах животных II и IV.

Таким образом, установлено, что при локальном термическом ожоге у животных проведенное фототерапевтическое лечение является эффективным. Однако отчетливо выраженного преимущества какого-либо лечебного приема в отдельности не выявлено.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Азолов В.В., Пономарева Н.А., Дмитриев Г.И. и др. Система реабилитации обожженных во всех периодах ожоговой болезни: метод. рек. № 2001/21. – Н. Новгород, 2001. – 28 с.

Azolov V.V., Ponomareva N.A., Dmitriev G.I. et al. System of rehabilitation of patients with burns in different periods of burn disease. – Nizhny Novgorod, 2001. – 28 p. (in Russian)

2. Анализы. Полный справочник / Под ред. Ю.Ю. Елисеева. – М.: Эксмо, 2009. – 768 с.

Analyses. Full manual / Ed. by Y.Y. Yeliseev. – Moscow, 2009. – 768 p. (in Russian)

3. Андреев С.В. Моделирование заболеваний. – М.: Медицина, 1973. – С. 65.

Andreev S.V. Disease simulation. – Moscow, 1973. – P. 65. (in Russian)

4. ГОСТ 53434-2009 от 02.12.2009. Принципы лабораторной практики GLP. – М., 2009.

GOST 53434-2009 d.d. 02.12.2009. Foundations of GLP laboratory practice. – Moscow, 2009. (in Russian)

5. Гусак В.К., Фисталь Э.Я., Баринов Э.Ф., Штутин А.А. Термические субфасциальные поражения. – Донецк, 2000. – 192 с.

Gusak V.K., Fistal E.Y., Barinov E.F., Shtutin A.A. Thermal subfascial injuries. – Donetsk, 2000. – 192 p. (in Russian)

6. Жегалов В.А., Перетягин С.П., Дмитриев Д.Г., Вилков С.А. Ошибки в стратегии и тактике лечения обожженных на этапах медицинской эвакуации // Комбустиология. – 2001. – № 7.

Zhegalov V.A., Peretyagin S.P., Dmitriev D.G., Vilkov S.A. Mistakes in the strategy and tactics of treatment of patients with burns during medical evacuation // Kombustologiya. – 2001. – N 7. (in Russian)

7. Кудзоев О.А. Актуальные вопросы хирургического лечения больных с локальными глубокими ожогами (обзор литературы) // Комбустиология. – 2003. – № 15.

Kudzoyev O.A. Actual problems of surgical treatment of patients with local deep burns // Kombustologiya. – 2003. – N 15. (in Russian)

8. Мусил Я. Основы биохимии патологических процессов; пер. с чешск. – М.: Медицина, 1985. – С. 229–232.

Musil Y. Basics of biochemistry of pathological processes. – Moscow: Medicina, 1985. – P. 229–232. (in Russian)

9. Пономаренко Г.Н. Применение полихроматического поляризованного некогерентного излучения аппаратов «Биоптрон» в комплексном лечении больных с ранами, трофическими язвами, ожогами и пролежнями // Физиотерапевт. – 2010. – № 7. – С. 48–59.

Ponomarenko G.N. Application of polychromatic polarized non-coherent irradiation of "Bioptron" preparations in complex treatment of patients with wounds, trophic ulcers, burns and bedsores // Fizioterapevt. – 2010. – N 7. – P. 48–59. (in Russian)

10. Приказ № 708н от 23.08.2010 г. МЗР «Об утверждении правил лабораторной практики». – М., 2010.

Order N 708n d.d. 23.08.2010 of Ministry of Health of Russia "To the confirmation of the rules of laboratory practice". – Moscow, 2010. (in Russian)

11. Приложение к приказу Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 г. «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных». – М., 1977.

Addendum to the order of Ministry of Health of USSR N 755 d.d. 12.08.1977 "Rules of performance of work using of experimental animals". – Moscow, 1977. (in Russian)

12. Young A. Rehabilitation of burn injuries // Phys. Med. Rehabil. Clin. N. Am. – 2002. – N 13 (1). – P. 85–108.

Сведения об авторах

Моторина Ирина Геннадьевна – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры физиотерапии и курортологии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования (664005, г. Иркутск, ул. 2-я Железнодорожная, 4; тел.: 8 (3952) 39-06-30)

Юшков Геннадий Георгиевич – кандидат медицинских наук, чл.-корр. Международной академии экологии и безопасности деятельности человека, профессор кафедры экологии и безопасности деятельности человека Ангарской государственной технической академии

Куликов Леонид Константинович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования

Расулов Максуд Мухамеджанович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом Государственного научно-исследовательского института химии и технологии элементоорганических соединений

Щукина Ольга Геннадьевна – исследователь отдела токсикологии и биофизики Ангарской государственной технической академии

Малышкина Наталья Александровна – старший преподаватель кафедры экологии и безопасности деятельности человека Ангарской государственной технической академии

Information about the authors

Motorina Irina Gennadjevna – Candidate of Medical Sciences, Assistant of the Department of Physiotherapy and Balneotherapy of Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education (664005, Irkutsk, ul. 2-ya Zheleznodorozhnaya, 4; tel.: +7 (3952) 39-06-30)

Yushkov Gennadiy Georgievich – Candidate of Medical Sciences, Corresponding Member of International Academy of Ecology and Vital Activity Security, Professor of the Department of Ecology and Vital Activity Security of Angarsk State Technical Academy

Kulikov Leonid Konstantinovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Surgery of Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education

Rasulov Maksud Mukhamedzhanovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of State Research Institute for Chemistry and Technology of Organoelement Compounds

Shchukina Olga Gennadjevna – Researcher of the Department of Toxicology and Biophysics of Angarsk State Technical Academy

Malyshkina Natalia Alexandrovna – Senior Teacher of the Department of Ecology and Vital Activity Security of Angarsk State Technical Academy

Я.Г. Разуваева^{1, 2}, А.А. Торопова¹, Н.С. Кухаренко³, С.М. Николаев^{1, 2, 4}, И.П. Убеева^{2, 4}**СТРЕСС-ПРОТЕКТИВНОЕ И АНТИОКСИДАНТНОЕ ВЛИЯНИЕ СУХОГО ЭКСТРАКТА ИЗ HUMULUS LUPULUS ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ЭМОЦИОНАЛЬНОМ СТРЕССЕ**¹ Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (Улан-Удэ)² Бурятский государственный университет (Улан-Удэ)³ Дальневосточный государственный аграрный университет (Благовещенск)⁴ Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования (Иркутск)

На белых крысах (Wistar) исследовали стресс-протективное и антиоксидантное влияние сухого экстракта из соплодий *Humulus lupulus* при длительном эмоциональном стрессе. Установлено, что экстракт *H. lupulus* оказывает выраженное стресс-протективное влияние на фоне длительного эмоционального стресса, уменьшая выраженность дегенеративных катаболических изменений во внутренних органах белых крыс. Реализация антистрессорного действия экстракта *H. lupulus* обусловлена его выраженной антиоксидантной активностью.

Ключевые слова: экстракт из соплодий *Humulus lupulus*, хмель обыкновенный, длительный эмоциональный стресс, стресс-протективное, антиоксидантное действие, ингибирование перекисного окисления липидов

STRESS-PROTECTIVE AND ANTIOXIDANT EFFECT OF HUMULUS LUPULUS DRY EXTRACT AT CHRONIC EMOTIONAL STRESSYa.G. Razuvaeva^{1, 2}, A.A. Toropova¹, N.S. Kukharensko³, S.M. Nikolaev^{1, 2, 4}, I.P. Ubeyeva^{2, 4}¹ Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude² Buryat State University, Ulan-Ude³ Far Eastern State Agrarian University, Blagoveshchensk⁴ Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk

Stress-protective and antioxidant effects of *Humulus lupulus* dry extract were studied in experiments on white Wistar rats at prolonged emotional stress. It has been established that the *H. lupulus* dry extract had stress-protective effect, reducing the manifestation of degenerative catabolic changes in the internal organs of white rats in chronic emotional stress. The antistress activity of *Humulus lupulus* dry extract is caused by the pronounced antioxidant activity. On the background of the test extract introduction the MDA content decreased and the activity of catalase, SOD and the GSH content in the blood increased.

Key words: *Humulus lupulus* dry extract, *Humulus lupulus*, steady emotional stress, stress-protective and antioxidant effect, inhibition of lipid peroxidation

Широкое распространение тревожных состояний в клинической практике определяет большой интерес к поиску эффективных препаратов для их лечения [1]. Известно, что в развитии тревоги участвуют нейробиохимический и нейроэндокринный уровни: нейромедиаторные системы, а также гормоны или пептиды, антиоксидантная система [5], что определяет значительный интерес к лекарственным средствам растительного происхождения. Так, благодаря разнообразию и значительному содержанию биологически активных веществ, в одном фитопрепарате могут быть реализованы все основные направления этиопатогенетической и симптоматической терапии тревожных расстройств [9]. Лекарственные растения наряду с высокой терапевтической эффективностью, как правило, не обладают побочными отрицательными воздействиями, за исключением отдельных случаев индивидуальной чувствительности [2].

К числу перспективных лекарственных средств следует отнести экстракт из соплодий хмеля обыкновенного (*Humulus lupulus* L.), обладающего выраженными анксиолитическими, ноотропными, антидепрессивными свойствами [6].

Цель работы: определение стресс-протективного и антиоксидантного влияния экстракта из соплодий хмеля обыкновенного (ЭСХО) при длительном эмоциональном стрессе у белых крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на 48 белых крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 180–200 г. Содержание животных соответствовало «Правилам лабораторной практики» (GLP) и Приказу МЗ РФ № 708Н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». Перед началом экспериментов животные, отвечающие критериям включения в эксперимент, распределялись на группы с учетом пола, возраста, массы и принципа рандомизации. Экспериментальную работу осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.77 г.), «Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных» (Страсбург, 1986).

Эмоциональный стресс моделировали помещением крыс в тесные пластиковые цилиндры с по-

следующим погружением их в воду до уровня шеи (20–22 °С) на 2 часа ежедневно в течение 4 суток [3]. ЭСХО в дозе 200 мг/кг вводили животным в течение 7 дней до моделирования эмоционального стресса и затем ежедневно за 1 час до помещения животных в пластиковые цилиндры. В качестве препарата сравнения использовали аптечный экстракт из валерианы (ЭВ) в изоэффективной дозе 120 мг/кг, который вводили животным по аналогичной схеме. Животные контрольной и интактной групп получали воду очищенную в соответствующем объеме.

На 4-е сутки животных декапитировали под эфирным наркозом и определяли «триаду Селье» (гипертрофию надпочечников, инволюцию тимуса и селезенки). Интенсивность процессов свободнорадикального окисления (СРО) биомакромолекул оценивали по накоплению малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови [8]. О состоянии антиоксидантной системы (АОС) судили по активности каталазы в сыворотке крови [4], супероксиддисмутазы (СОД) в эритроцитах [10] и содержанию восстановленного глутатиона (GSH) – в крови [11].

Значимость различий между указанными параметрами среди опытной и контрольной групп животных оценивали с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни. Различия считали существенными при $p \leq 0,05$ [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные в работе данные свидетельствуют о том, что длительный эмоциональный стресс приводит к гипертрофии надпочечников и инволюции тимуса и селезенки. Как видно из данных, представленных в таблице 1, на фоне эмоционального

стресса у животных контрольной группы масса надпочечников увеличивалась в 1,8 раза, массы тимуса и селезенки снижались, соответственно, на 52 % и 36 %, по сравнению с показателями интактных животных. Курсовое введение животным ЭСХО и ЭВ оказывало выраженное антистрессорное действие, о чем свидетельствовало снижение относительной массы надпочечников на 24 % и 21 % и увеличение относительных масс тимуса (в среднем в 1,4 раза) и селезенки (в 1,6 и 1,8 раза соответственно), по сравнению с аналогичными показателями животных контрольной группы.

Результаты исследований, представленные в таблице 2, свидетельствуют о том, что длительная иммобилизация животных вызывает повышение содержания МДА в сыворотке крови и гомогенате ГМ на 46 % и 36 % соответственно, по сравнению с контролем. Активность каталазы в сыворотке крови и в гомогенате ГМ снижается, соответственно, на 63 % и 41 %, активности СОД в эритроцитах – на 53 %, содержание GSH в крови – на 31 %, по сравнению с показателями животных интактной группы. Курсовое введение животным ЭСХО и ЭВ на фоне эмоционального стресса вызывало ингибирование ПОЛ и активацию антиоксидантной системы организма: содержание МДА в сыворотке крови животных опытных групп было ниже аналогичного показателя крыс контрольной группы в среднем на 36 %, активность каталазы, СОД и содержание GSH были выше в 1,3, 1,5 и 1,3 раза соответственно.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что ЭСХО в дозе 200 мг/кг оказывает выраженное стресс-протективное влияние, уменьшая выраженность дегенеративных катаболических

Таблица 1
Влияние ЭСХО и ЭВ на изменение массы (мг/100 г) тимуса, селезенки и надпочечников белых крыс при длительном эмоциональном стрессе

Группы животных	Тимус	Селезенка	Надпочечники
Интактная (H ₂ O) (n = 12)	145,0 ± 10,80	544,0 ± 30,64	18,5 ± 0,45
Контрольная (стресс + H ₂ O) (n = 12)	70,3 ± 4,52	345,7 ± 22,74	33,5 ± 1,12
Опытная (стресс + ЭСХО) (n = 12)	102,4 ± 9,44*	544,3 ± 20,13*	25,3 ± 1,67*
Опытная (стресс + ЭВ) (n = 12)	100,4 ± 14,31*	634,9 ± 108,20*	26,5 ± 0,97*

Примечание. * – здесь и далее различия статистически значимы между данными контрольной и опытной групп при $p \leq 0,05$; n – количество животных в группе.

Таблица 2
Влияние ЭСХО и ЭВ на показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантную активность организма белых крыс на фоне длительного эмоционального стресса

Показатели	Группы животных			
	Интактная (H ₂ O) (n = 6)	Контрольная (стресс + H ₂ O) (n = 6)	Опытная (стресс + ЭСХО) (n = 6)	Опытная (стресс + ЭВ) (n = 6)
МДА, мкмоль/л	2,6 ± 0,21	3,8 ± 0,29	2,4 ± 0,26*	2,5 ± 0,22*
Каталаза, мкат/л	1,9 ± 0,15	0,70 ± 0,050	0,91 ± 0,061*	0,89 ± 0,040*
СОД, усл. ед.	1,7 ± 0,20	0,8 ± 0,04	1,2 ± 0,06*	1,1 ± 0,05*
GSH, мкмоль/мл	1,05 ± 0,043	0,72 ± 0,035	0,94 ± 0,031*	0,97 ± 0,017*

изменений во внутренних органах белых крыс. Снижение на фоне введения животным ЭСХО содержания МДА и повышение активности каталазы, СОД и содержания GSH в биологических жидкостях свидетельствует о том, что стресс-протективное влияние исследуемого фитоэкстракта реализуется за счет его выраженного антиоксидантного действия, поскольку известно, что длительные стрессорные нагрузки приводят к чрезмерному усилению СРО, в результате чего происходит повреждение клеточных мембран и формирование патологического процесса [1]. Выраженное антиоксидантное действие исследуемого экстракта обусловлено представленным в нем комплексом биологически активных веществ: α - и β -кислот, халконов (ксантогумол, изоксантогумол, дезметилксантогумол), флавонов, процианидинов и других соединений. Установлено, что фенольные соединения хмеля обладают выраженными антиоксидантными свойствами. Ксантогумол, изоксантогумол и 8-пренилнارينгенин в микромолярных концентрациях угнетают индуцируемое сульфатом меди или анионом пероксинитрила окисление липопротеинов низкой плотности [12, 14]. Антиоксидантное действие ксантогумола выше, чем у α -токоферола [12]. Также установлено, что высокой антиоксидантной активностью в отношении липопротеинов низкой плотности обладают процианидины хмеля. При этом фенольные соединения и олигомерные процианидины хмеля рассматриваются как потенциальные средства для предотвращения таких заболеваний, как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, инсульт и атеросклероз [11]. Таким образом, ЭСХО, ограничивая процессы свободнорадикального окисления липидов и активируя ферменты антиоксидантной системы организма, оказывает выраженное стресс-протективное действие.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Александровский Ю.А. Роль транквилизаторов в лечении пограничных психических расстройств // Психиатрия и психофармакотерапия. – 2007. – № 3. – С. 94–96.
2. Вознесенская Т.Г. Эмоциональный стресс и профилактика его последствий // Международный неврологический журнал. – 2007. – Т. 2, Вып. 12. – С. 45–49.
3. Voznesenskaya T.G. Emotional stress and prevention of its consequences // Mezhdunarodnyj nevrologicheskij zhurnal. – 2007. – Vol. 2, Iss. 12. – P. 45–49. (in Russian)
4. Захарова И.А., Ветрилэ Л.А., Евсеев В.А. Влияние антител к глутамату и ГАМК на развитие стрессорных реакций у мышей C57 // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Т. 147, № 3. – С. 272–275.
5. Zakharova I.A., Vetrile L.A., Evseev V.A. Influence of antibodies to glutamate and GABA on the development of stress-reactions in C57 mice // Buletten' jeksperimental'noj biologii i mediciny. – 2009. – Vol. 147, N 3. – P. 272–275. (in Russian)
6. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. и др. Методы определения активности каталазы // Лабор. дело. – 1988. – № 6. – С. 16–19.
7. Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G. et al. Methods of determination of catalase activity // Labor. delo. – 1988. – N 6. – P. 16–19. (in Russian)
8. Курпатов В.И., Осипова С.А. Тревожные расстройства в общей медицинской практике // Terra medica. – 2006. – № 2. – С. 45–50.
9. Kurpatov V.I., Osipova S.A. Anxious disorders in general medical practice // Terra medica. – 2006. – N 2. – P. 45–50. (in Russian)
10. Разуваева Я.Г., Николаев С.М., Кабачук Н.В., Нагаслаева О.В. Психотропное действие экстракта соплодий *Humulus lupulus* L. // Вестник Бурятского государственного университета. – 2010. – Вып. 12: Медицина. – С. 41–45.
11. Razuvaeva Y.G., Nikolaev S.M., Kabachuk N.V., Nagaslayeva O.V. Psychoactive effect of *Humulus lupulus* L. stem extract // Vestnik Burjatskogo gosudarstvennogo universiteta. – 2010. – Vol. 12: Medicine. – P. 41–45. (in Russian)
12. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. – М., 2006. – 256 с.
13. Sergienko V.I., Bondareva I.B. Mathematical statistics in clinical trials. – Moscow, 2006. – 256 p. (in Russian)
14. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью ТБК // Современные методы в биохимии. – М., 1977. – С. 66–68.
15. Stalnaya I.D., Gariashvili T.G. Method of determination of malondialdehyde using thiobarbituric acid. – Moscow, 1977. – P. 66–68. (in Russian)
16. Турищев С.Н. Формирование вектора психического комфорта фитосредствами // Врач. – 2008. – № 3. – С. 43–45.
17. Turishchev S.N. Formation of vector of mental comfort by phyto remedies // Vrach. – 2008. – N 3. – P. 43–45. (in Russian)
18. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических матрицах // Лабораторное дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
19. Cheviri S., Chaba I., Sekey Y. Role of superoxide dismutase in oxidative processes in cell and method of its determination in biological matrices // Laboratornoe delo. – 1985. – N 11. – P. 678–681. (in Russian)
20. Anderson T. Omeprazole drug interaction studies // Clin. Pharmacokinet. – 1991. – Vol. 21, N 38. – P. 1603.
21. Miranda C.L., Aponso G.-L.M., Stevens J.F. Prenylated chalcones and flavanones as inducer of quinone reductase in mouse // Cancer Lett. – 2000. – N 149. – P. 21–29.
22. Stevens J.F., Miranda C.L., Wolters K.R. et al. Identification and in vitro biological activities of hop proantho-

cyani-dins: Inhibition of activity and scavenging of reactive nitrogen species // J. Agric. Food Chem. – 2002. – Vol. 50, N 12. – P. 3435–3443.

14. Stevens J.F., Page J.L. Xanthohumol and related prenylflavonoids from hops and beer to your good health // Phytochem. – 2004. – Vol. 65, N 10. – P. 1317–1330.

Сведения об авторах

Разуваева Янина Геннадьевна – доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; тел.: 8 (3012) 43-37-13; e-mail: tatur75@mail.ru)

Торопова Анюта Алексеевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (e-mail: anyuta-tor@mail.ru)

Кухаренко Наталья Степановна – доктор ветеринарных наук, профессор кафедры морфологии и патологии животных Дальневосточного государственного аграрного университета

Николаев Сергей Матвеевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделом биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (e-mail: smnikolaev@mail.ru)

Убеева Ираида Поликарповна – доктор медицинских наук, профессор медицинского института Бурятского государственного университета

Information about the authors

Razuvaeva Yanina Gennadjevna – Doctor of Biological Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Safety of Biologically Active Substances of Institute of General and Experimental Biology SB RAS (670047, Ulan-Ude, ul. Sakhjanovoy, 6; tel.: +7 (3012) 43-37-13; e-mail: tatur75@mail.ru)

Toropova Anyuta Alekseevna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer of the Laboratory of Safety of Biologically Active Substances of Institute of General and Experimental Biology SB RAS (e-mail: anyuta-tor@mail.ru)

Kukhareenko Nataliya Stepanovna – Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Animal Morphology and Pathology of Far Eastern State Agrarian University

Nikolaev Sergey Matveevich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Biologically Active Substances of Institute of General and Experimental Biology SB RAS (e-mail: smnikolaev@mail.ru)

Ubeeva Iraida Polikarpovna – Doctor of Medical Sciences, Professor of Medical Institute of Buryat State University

И.В. Свиридов, Я.Г. Разуваева, Л.Н. Шантанова

АНТИГИПОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СУХОГО ЭКСТРАКТА
ИЗ КОРНЕЙ *SERRATULA CENTAUROIDES*Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (Улан-Удэ)
Бурятский государственный университет (Улан-Удэ)

В экспериментах на белых крысах изучено влияние сухого экстракта из корней *Serratula centauroides* L. на устойчивость к гемической, гистотоксической и гиперкапнической гипоксии. Установлено, что курсовое введение испытуемого средства в дозах 50, 100 и 150 мг/кг повышает устойчивость крыс к гипоксиям различного генеза. Наиболее выраженной антигипоксической активностью *S. centauroides* обладает в дозе 150 мг/кг, увеличивая продолжительность жизни животных при гемической и нормобарической гипоксиях в среднем на 60 % ($p < 0,001$) и при гистотоксической гипоксии – на 50 % ($p < 0,001$).

Ключевые слова: серпуха васильковая, *Serratula centauroides*, гипоксические состояния, антигипоксическая активность

ANTIHYPoxic PROPERTIES OF THE DRY EXTRACT FROM *SERRATULA CENTAUROIDES*

I.V. Sviridov, Ya.G. Razuvaeva, L.N. Shantanova

Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude
Buryat State University, Ulan-Ude

The influence of the dry extract from *Serratula centauroides* roots on the resistance to the hemic, histotoxic and hypercapnic hypoxias was investigated in the experiments on white rats. It was established that the course administration of the remedy in the doses of 50, 100, 150 mg/kg increases the resistance of the experimental animals to hypoxias of different genesis. *S. centauroides* in the dose of 150 mg/kg has the most pronounced antihypoxic activity, increasing the lifespan of the animals with hemic and normobaric hypoxia on average by 60 % ($p < 0,001$) and with histotoxic hypoxia – by 50 % ($p < 0,001$).

Key words: *Serratula centauroides*, hypoxic states, antihypoxic action

Гипоксия органов и тканей возникает практически при любом патологическом процессе [1, 4]. Наиболее подвержены гипоксическому воздействию центральная нервная система, сердечно-сосудистая и мышечная системы [5]. В связи с широким распространением заболеваний нервной и сердечно-сосудистой систем поиск лекарственных средств, обладающих антигипоксическими свойствами, способствуя повышению резистентности клеток жизненно важных органов к гипоксии, является актуальным. Противогипоксические эффекты, характерные для синтетических препаратов, выявляются и у лекарственных средств растительного происхождения [2, 6].

Перспективным антигипоксантом является фитоэкдистероидсодержащее растение – серпуха васильковая (*Serratula centauroides* L.), произрастающее на территории Сибири и Дальнего Востока [7].

Цель работы: изучение влияния сухого экстракта из корней *S. centauroides* на устойчивость животных к гипоксии различного генеза.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на 72 белых крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 180–200 г. Содержание животных соответствовало «Правилам лабораторной практики» (GLP) и Приказу МЗ РФ № 708Н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». Перед началом экспериментов животные, отвечающие критериям включения в эксперимент, распределялись на группы с учетом пола, возраста, массы и принципа рандомизации.

Экспериментальную работу осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.77 г.), «Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986). Протокол исследования согласован с этическим комитетом ИОЭБ СО РАН (протокол № 2 от 05.09.2013 г.).

Животные были разделены на 4 группы. В каждую группу входило по 6 животных. Животным I–III опытных групп в течение 7 дней до проведения экспериментов внутрижелудочно вводили экстракт *S. centauroides* в дозах 50, 100 и 150 мг/кг соответственно. Крысы четвертой группы – контрольной – получали очищенную воду в эквивалентном объеме по аналогичной схеме.

Антигипоксическое действие экстракта *S. centauroides* исследовали на трех моделях: гемическая, гистотоксическая и нормобарическая гипоксия. Модель гемической гипоксии воспроизводили путем однократного внутрибрюшинного введения нитрита натрия в дозе DL_{100} (200 мг/кг); модель гистотоксической гипоксии – однократным введением нитропруссиды натрия в дозе DL_{100} (20 мг/кг); модель нормобарической гипоксии с гиперкапнией – помещением крыс в герметичные емкости объемом 1 л [3].

Значимость различий между указанными параметрами среди контрольной и опытных групп оценивали с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни. Различия считались существенными при $p \leq 0,05$ [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных экспериментальных работ было установлено (рис. 1), что введение животным экстракта из корней *S. centauroides* в дозах 50 и 100 мг/кг способствовало увеличению резервного времени жизни при острой гемической гипоксии в среднем на 38 %, по сравнению с показателем животных контрольной группы. Наиболее выраженное антигипоксическое влияние экстракт *S. centauroides* проявлял в дозе 150 мг/кг: продолжительность жизни животных повышалась на 60 %, по сравнению с контролем.

Данные, представленные на рисунке 2, показывают, что курсовое введение животным испытуемого экстракта в дозах 50 и 100 мг/кг увеличивало резервное время крыс при воссоздании острой тканевой гипоксии в среднем на 30 %, в дозе 150 мг/кг – в 1,7 раза, по сравнению с аналогичным показателем контрольных животных.

Наиболее выраженное антигипоксическое действие экстракта из корней *S. centauroides* установлено на фоне нормобарической гипоксии (рис. 3). В частности введение животным испытуемого экстракта в дозах 50 и 100 мг/кг повышало среднюю продолжительность жизни животных в 1,6 раза, в дозе 150 мг/кг – в 1,8 раза по отношению к показателю контрольных животных.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что сухой экстракт из корней *S. centauroides* обладает выраженными антигипоксическими свойствами, повышая устойчивость белых крыс к гипоксии разного генеза. Наиболее выраженные антигипоксические свойства испытуемое средство проявляет в дозе 150 мг/кг. Реализация антигипоксической активности экстракта из корней *S. centauroides* обусловлена комплексом биологически активных, входящих в его состав, в частности, значительным содержанием в его составе фитостероидов [7], обладающих выраженным антигипоксическим действием, повышая резистентность тканей и органов к острой гипоксической гипоксии и тотальной ишемии, а также снижая выраженности органных проявлений окислительного стресса в головном мозге, миокарде и печени крыс при гипоксических состояниях [9].

ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES

1. Гипоксия. Адаптация, патогенез, клиника / Под ред. Ю.Л. Шевченко. – СПб., 2000. – 384 с.
Hypoxia. Adaptation, pathogenesis, clinic / Ed. by Yu.L. Shevchenko. – Saint-Petersburg, 2000. – 384 p. (in Russian)

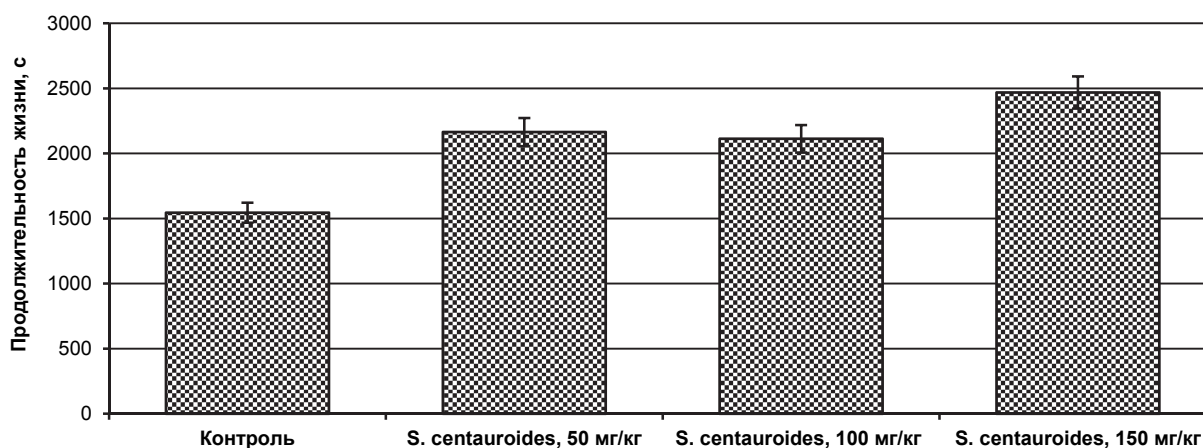


Рис. 1. Влияние экстракта из корней *S. centauroides* на продолжительность жизни животных при гемической гипоксии.

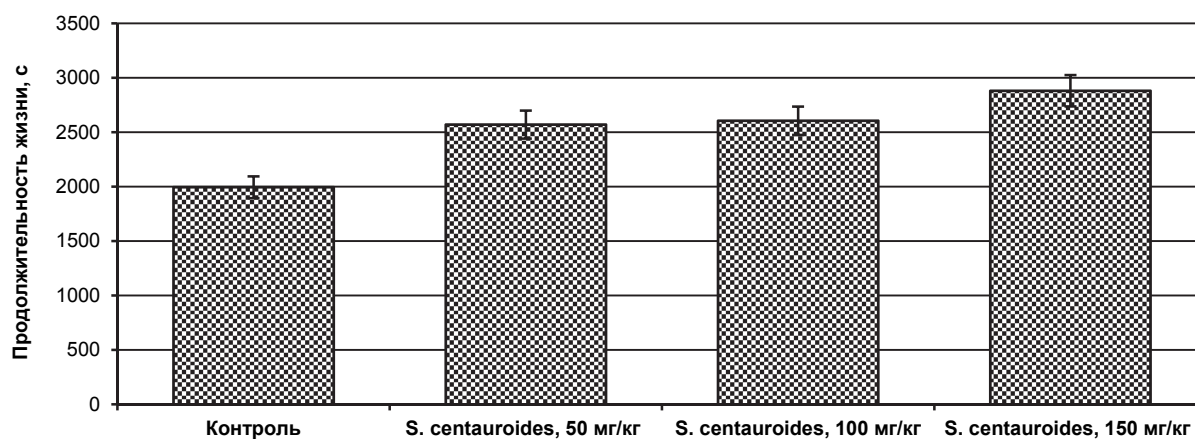


Рис. 2. Влияние экстракта из корней *S. centauroides* на продолжительность жизни животных при гистотоксической гипоксии.

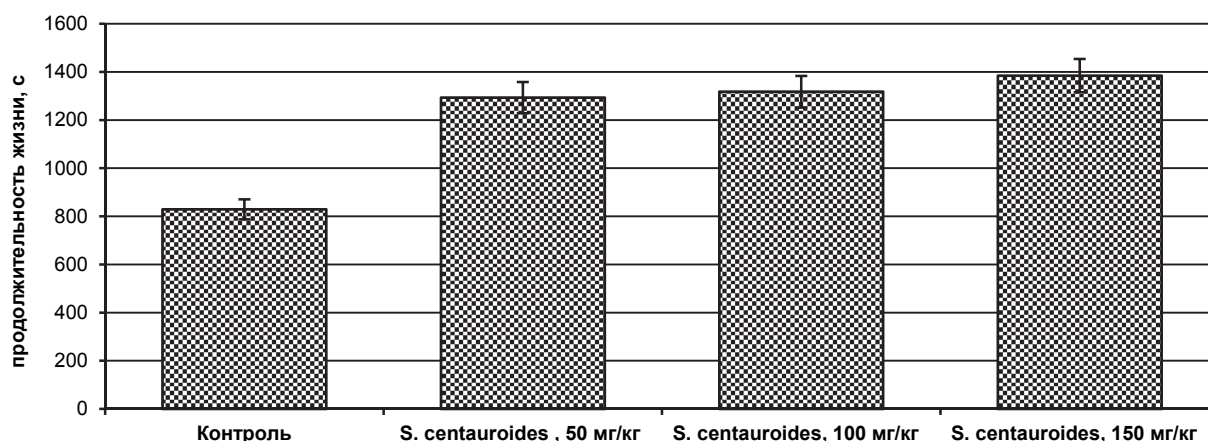


Рис. 3. Влияние экстракта из корней *S. centauroides* на продолжительность жизни животных при нормобарической гипоксии.

2. Куликов В.П., Чупикова И.А., Санаров Е.М., Волобой Н.Л. Увеличение резистентности к гипоксии под влиянием сбора из лекарственных растений Алтая // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2013. – № 2. – С. 37–40.

Kulikov V.P., Chupikova I.A., Sanarov E.M., Voloboy N.L. Increase of resistance to hypoxia under the influence of combination of Altay medicinal herbs // Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija. – 2013. – N 2. – P. 37–40. (in Russian)

3. Лукьянова Л.Д. Методические рекомендации по скринингу и доклиническому испытанию антигипоксических средств. – М., 1989. – 12 с.

Lukjanova L.D. Guidelines on the screening and pre-clinical tests of antihypoxic remedies. – Moscow, 1989. – 12 p. (in Russian)

4. Лукьянова Л.Д. Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2011. – № 1. – С. 3–19.

Lukjanova L.D. Modern problems of adaptation to hypoxia. Alarm mechanisms and their role in system regulation // Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija. – 2011. – N 1. – P. 3–19. (in Russian)

5. Новиков В.Е., Левченкова О.С. Новые направления поиска лекарственных средств с антигипоксической активностью и мишени для их действия // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. – Т. 76, № 5. – С. 37–47.

Novikov V.E., Levchenkova O.S. New directions of search of medicinal agents with antihypoxic activity and targets for their action // Jeksperimental'naja i klinicheskaja farmakologija. – 2013. – Vol. 76, N 5. – P. 37–47. (in Russian)

6. Пастушенков Л.В., Лесиовская Е.Е. Растения антигипоксиканты. – СПб., 1991. – 96 с.

Pastushenkov L.V., Lesiovskaya E.E. Antihypoxic herbs. – Saint-Petersburg, 1991. – 96 p. (in Russian)

7. Растительные ресурсы России: Дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность. – СПб. – М., 2013. – Т. 5, Ч. 2. – 312 с.

Plant resources of Russia: wild flowering plants, their composition and biological activity. – Saint-Petersburg – Moscow, 2013. – Vol. 5, Part 2. – 312 p. (in Russian)

8. Сергиенко В.И., Бондаренко И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. – М., 2006. – 256 с.

Sergienko V.I., Bondarenko I.B. Mathematical statistics in clinical trials. – Moscow, 2006. – 256 p. (in Russian)

9. Шулькин А.В., Давыдов В.В., Якушева Е.Н. и др. Изучение антигипоксического и антиишемического эффектов фитоэкдистерона // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2011. – № 3. – С. 30–36.

Shchulkin A.V., Davydov V.V., Yakusheva E.N. et al. Study of antihypoxic and anti-ischemic effect of phytoecdysterone // Rossijskij mediko-biologicheskij vestnik im. akad. I.P. Pavlova. – 2011. – N 3. – P. 30–36. (in Russian)

Сведения об авторах

Свиридов Иван Владимирович – аспирант лаборатории безопасности биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; тел.: 8 (3012) 43-37-13)

Разуваева Янина Геннадьевна – доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории безопасности биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН

Шантанова Лариса Николаевна – доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией безопасности биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН

Information about the authors

Sviridov Ivan Vladimirovich – Postgraduate of the Laboratory of Safety of Biologically Active Substances of the Institute of General and Experimental Biology SB RAS (670047, Ulan-Ude, ul. Sakhjanovoy, 6; tel.: +7 (3012) 43-37-13)

Razuvaeva Yanina Gennadjevna – Doctor of Biological Sciences, Professor, Senior Research Officer of the Laboratory of Safety of Biologically Active Substances of the Institute of General and Experimental Biology SB RAS

Shantanova Larisa Nikolaevna – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Safety of Biologically Active Substances of the Institute of General and Experimental Biology SB RAS

В.А. Чхенкели¹, А.В. Анисимова¹, Е.Д. Романова¹, А.Е. Калинович, М.В. Промтов²

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА ТРАМЕТИН ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САЛЬМОНЕЛЛЕЗЕ У ЛАБОРАТОРНЫХ И СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

¹ Иркутская государственная сельскохозяйственная академия (Иркутск)² Иркутский областной клинический консультативно-диагностический центр (Иркутск)

Как при экспериментальном сальмонеллезе у мышей, так и в производственных условиях у сельскохозяйственных животных (поросят) ветеринарный препарат траметин обладает высокой профилактической эффективностью, о чем свидетельствуют как клиническое наблюдение за животными, так и данные лабораторных исследований. При введении препарата в оптимальной дозе при моделировании темного стресса наблюдали увеличение привесов. Лабораторные исследования показали повышение содержания белка в сыворотке крови, повышение содержания фосфора и кальция, увеличение гемоглобина и эритроцитов. Фагоцитарная активность крови поросят в группе, которая получала траметин, увеличивалась на 25 % по отношению к контролю.

Ключевые слова: экспериментальный сальмонеллез, траметин, моделирование, грибы-ксилотрофы

EXPERIMENTAL ASSESSMENT OF THE EFFICIENCY OF THE TRAMETIN AT EXPERIMENTAL SALMONELLOSIS OF LABORATORY AND AGRICULTURAL ANIMALS

V.A. Chkhenskeli¹, A.V. Anisimova¹, E.D. Romanova¹, A.Ye. Kalinovich, M.V. Promtov²¹ Irkutsk State Agricultural Academy, Irkutsk² Irkutsk Regional Clinical Consultative Diagnostic Centre, Irkutsk

Both clinical observation of animals and data of laboratory researches testify to the fact that veterinary medicine Trametin has high prophylactic efficacy at experimental salmonellosis in mice and in on-the-farm conditions in pigs. At the introduction of the medicine in an optimal dose while modelling dark stress we observed an increase in weight gains. The results of laboratory studies showed an increase in the protein content in blood serum, an increase in the content of phosphorus and calcium, an increase in hemoglobin and red blood cells. Phagocytic activity of piglets' blood in the group that received Trametin increased by 25 % in comparison with control values.

Key words: experimental salmonellosis, Trametin, modelling, xylotrophe fungi

В настоящее время во всех странах мира наблюдается активизация условно-патогенных микроорганизмов (УПМ). Бактерии данной группы характеризуются выраженной неоднородностью, являясь, с одной стороны, представителями транзитной нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта, а с другой – возбудителями инфекционных заболеваний. В связи с этим проблеме инфекций, обусловленных УПМ, особенно представителями семейства *Enterobacteriaceae*, уделяется пристальное внимание [1]. Эпидемиологическая ситуация в России за последние годы характеризуется сохранением высокого уровня заболеваемости острыми кишечными инфекциями (ОКИ) [1, 4]. Следует отметить, что в целом проблема инфекционной патологии выходит далеко за рамки только проблем здравоохранения. Она напрямую связана с загрязнением патогенными микроорганизмами окружающей среды [4], пищевых продуктов и здоровья продуктивных животных. Доля ОКИ, вызванных условно-патогенными энтеробактериями, у людей в общей структуре ОКИ установленной этиологии, по данным разных авторов, варьирует от 12,8–21,2 % до 34,1 % [1]. Одно из ведущих мест среди кишечных инфекций бактериальной этиологии занимает сальмонеллез. До сих пор сальмонеллез является мировой проблемой. Лидирующий зооноз по пищевым инфекциям у людей широко распространен во многих странах, особенно с развитым животновод-

ством [8]. Всего известно более 2300 серовариантов [8, 9], из которых более 700 выделено от человека [9]. Большинство сальмонелл патогенны как для человека, так и для животных и птиц, но в эпидемиологическом отношении наиболее значимы для человека лишь несколько серотипов, которые обуславливают 85,0–91,0 % сальмонеллезов во всем мире. Клетки сальмонелл способны длительно сохранять жизнеспособность во внешней среде: воде, почве, мясе, молоке, кефире, тушках птиц, сливочном масле, сыре. Источником возбудителя инфекции, попадающего во внешнюю среду, являются сальмонеллоносители – больные и переболевшие животные. Источником инфекции могут быть и люди – больные и бактерионосители. Однако их роль в распространении сальмонеллеза меньше, чем роль сельскохозяйственных животных и птиц [8]. По данным лабораторного мониторинга за 2008–2013 гг., наиболее распространенными видами сальмонелл в Иркутской области, выделенными от патологического материала животных, являются *S. dublin*, *S. enteritidis*, *S. choleraesuis*, *S. typhimurium* [3, 11]. При ветеринарно-санитарном исследовании пищевых продуктов из говядины, свинины, мяса птицы, мясoproductов различной категории, выделены следующие виды сальмонелл: *S. dublin*, *S. enteritidis*, *S. choleraesuis*, *S. typhimurium*, а также встречались *S. lagos*, *S. mendoza*, *S. paratyphi*, *S. bradford* и другие [2].

Зачастую нерациональное использование антибактериальных средств способствует выработке резистентности к ним возбудителей и изменению антигенных свойств бактерий [1, 10]. При этом массовое распространение антибиоткорезистентных штаммов в популяциях условно-патогенных микроорганизмов стало важной проблемой в связи с их более высокими адаптационными возможностями, по сравнению с возбудителями классических инфекций [1].

В Иркутском филиале Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока Россельхозакадемии был разработан комплексный препарат траметин, получаемый на основе гриба-ксилотрофа рода *Trametes*, применяемый для лечения и профилактики желудочно-кишечных болезней сельскохозяйственных животных и включающий в себя компоненты, способные оказывать не только антимикробное действие на возбудителей семейства *Enterobacteriaceae*, но и иммуностимулирующий эффект. В более ранних работах показано, что препарат содержит биологически активные вещества (БАВ) различной природы. Так, тритерпены подавляют биосинтез пептидогликанов клеточной стенки бактерий, а хинолоны ингибируют биосинтез белка и РНК [12]. Установлено, что гриб *T. pubescens* оказывает антимикробное действие на бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, полностью подавляя рост референтных и клинических штаммов родов *Escherichia*, *Salmonella*, *Enterobacter* [5].

Цель работы: изучение профилактической эффективности препарата траметин при экспериментальном сальмонеллезе у лабораторных животных и в производственных условиях у поросят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследований является новый ветеринарный препарат траметин, получаемый на основе гриба *Trametes pubescens* (Shumach.: Fr.) Pilat., штамм 0663 методом жидкофазной ферментации с последующей лиофилизацией [5].

Экспериментальные исследования выполнялись в лаборатории биотехнологии и болезней молодняка ИФ ГНУ ИЭВС и ДВ Россельхозакадемии.

Антимикробную активность траметина *in vivo* изучали на белых нелинейных мышах из вивария НИИ медицины труда и экологии человека Ангартского филиала Восточно-Сибирского научного центра экологии человека при моделировании сальмонеллезной инфекции на базе вивария кафедры анатомии, физиологии и микробиологии Иркутской государственной сельскохозяйственной академии. Экспериментальный сальмонеллез моделировали на 48 белых нелинейных мышах. При заражении вводили внутривентально 0,5 мл бактериальной суспензии патогенного штамма *Salmonella enteritidis* ТИ, выделенного и идентифицированного в бак. отделе ФГБУ «Иркутская межобластная ветеринарная лаборатория» (ИМВЛ) в дозе 1 млрд микробных тел на голову. Траметин задавали мышам через 3 сут. после заражения. Препарат вводили перорально в дозах 150, 250, 300 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовали тримеразин в дозе 300 мг/кг, согласно

инструкции по применению. 1 г тримеразина содержит 0,1 г сульфамеразина и 0,02 г триметоприма.

При моделировании экспериментального сальмонеллеза мыши были разделены на 6 групп по 8 особей: 1-я группа – контрольная, интактная; 2-я группа – контрольная, зараженная; 3-я группа – введение траметина в дозе 150 мг/кг в течение 7 сут.; 4-я группа – введение траметина в дозе 250 мг/кг в течение 7 сут.; 5-я группа – введение траметина в дозе 300 мг/кг в течение 7 сут.; 6-я группа – введение препарата тримеразин в дозе 300 мг/кг в течение 7 сут. За животными вели наблюдение, отмечали клиническую картину и фиксировали число погибших животных через 2 и 7 сут. после начала введения препаратов.

Изучение микрофлоры кишечника мышей проводили с использованием стандартных микробиологических методов выделения и учета микроорганизмов и микробиологических сред российского производства (НИЦФ, Санкт-Петербург, Махачкала, Оболенск).

Профилактическую эффективность препарата в сравнительном аспекте с препаратом иммунофлор в производственных условиях проводили на сельскохозяйственных животных на базе свинофермы п. Оек ООО «Академия».

У 2-месячных поросят помеси ландраса с крупной белой моделировали темновой стресс (10 % уровня производственной освещенности). На группу в течение эксперимента (10 дней) давали по 18 г траметина и по 10 г иммунофлора.

Поросят делили на 3 группы по принципу аналогов по 10 особей в каждой: 1-я группа – интактные животные; 2-я группа – животные, в качестве сравнения получавшие перорально иммунофлор; 3-я группа – животные, получавшие в течение всего подопытного периода траметин. Перед и после окончания опыта животных взвешивали, забирали кровь для определения биохимических, иммунологических и гематологических показателей.

Кровь забирали из ушной вены. Биохимические показатели исследовали на базе лаборатории ИМВЛ. Для исследований использовали общепринятые методы исследования [6]. Гематологические показатели исследовали на базе лаборатории Иркутской городской ветеринарной поликлиники с использованием ветеринарного автоматического гематологического анализатора VetAbc (Франция). Иммунологические показатели крови исследовали на базе ОГАУЗ «Иркутский областной клинический консультативно-диагностический центр» в соответствии с общепринятыми рекомендациями [7].

Статистическую обработку результатов экспериментов и оценку достоверности проводили по критерию Стьюдента для уровня вероятности не менее 95 % с использованием пакета программ Microsoft Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При моделировании экспериментального сальмонеллеза в ходе проведения эксперимента отмечали падеж животных во второй группе: на 3-й день после заражения пало 4 мыши, на 4-й день – еще 2 мыши.

При вскрытии животных обнаружили воспаление кишечника, множественные внутренние кровоизлияния, дистрофию печени, увеличение селезенки. У мышей 3-й и 6-й групп при вскрытии отмечали увеличение печени и селезенки.

Анализ динамики кишечного микробиоценоза при использовании траметина и тримеразина свидетельствует о том, что при использовании траметина в дозах от 150 до 300 мг/кг (от 2 до 7 сут.) грубых изменений нормальной микрофлоры (молочнокислых бактерий, бифидобактерий, *B. subtilis*) не происходит, количество бактерий группы кишечной палочки (БГКП) сокращается на 11,5–22,5 %, сальмонелл – на 98,5–100,0 %.

При использовании тримеразина в дозе 3 г/кг (от 2 до 7 сут.) количественно изменяется вся микрофлора: сокращается как количество нормальной микрофлоры, так и патогенных бактерий, возрастает количество дрожжей и грибов.

При профилактическом использовании препаратов траметин и иммунофлор на свиньях наблюдали повышение привесов, по сравнению с группой контроля. Так, после применения препаратов в течение 10 дней в контрольной группе привесы составили в среднем 350–400 г в сутки, в группе с препаратом траметин – 600–650 г (на 17,6 % выше контроля) в сутки, в группе с препаратом иммунофлор – 550–600 г в сутки (на 15,4 % выше контроля). Сохранность поголовья поросят при этом составила в группах 2 и 3 – 100,0 %, в группе 1 – 80,0 %.

Наблюдали изменение биохимических, гематологических, иммунологических показателей крови поросят. Так, по результатам биохимических исследований сыворотки крови содержание белка увеличилось на 16,0 % у животных в группе 3, в группе 2 изменение белка не превышало контроль, содержание фосфора в сыворотке крови в опытных группах превышало содержание элементов на 32,0 и 28,0 % соответственно, содержание кальция увеличилось на 20,0 % в обеих подопытных группах. По результатам гематологических исследований наблюдали незначительное уменьшение содержания лейкоцитов, при этом содержание эритроцитов увеличилось на 6,6 % в группе 3, содержание гемоглобина увеличилось на 9,4 и 7,7 % в группах 3 и 2 соответственно. При иммунологических исследованиях крови были получены следующие результаты: фагоцитарная активность крови поросят в группе 3 увеличилась на 20,5 %, в группе 2 – на 20,7 % по отношению к контролю. Наблюдали повышение фагоцитарного индекса на 28,0 и 22,0 %, фагоцитарного числа на – 43,0 и 39,0 % соответственно.

Установлено, что как при экспериментальном сальмонеллезе у мышей, так и в производственных условиях у сельскохозяйственных животных (поросят) ветеринарный препарат траметин обладает высокой профилактической эффективностью, о чем свидетельствуют как клиническое наблюдение за животными, так и результаты гематологических, биохимических, иммунологических и бактериологических исследований. В производственных условиях при введении препарат в оптимальной дозе (18 г на

10 животных) при моделировании темного стресса наблюдали увеличение привесов на 600–650 г выше контроля. По результатам лабораторных исследований отмечали повышение содержание белка на 16,0 % в сыворотке крови, повышение содержание фосфора и кальция на 32,0 и 20,0 % соответственно, увеличение гемоглобина на 9,4 %, эритроцитов – на 6,6 %. Фагоцитарная активность крови поросят в группе поросят, которая получала траметин, увеличивалась на 25,0 % по отношению к контролю.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Аганова Е.В. Условно-патогенные энтеробактерии: доминирующие популяции, биологические свойства, медико-экологическая значимость: автореф. дис. ... докт. биол. наук. – Иркутск, 2012. – 46 с.
Anganova E.V. Opportunistic enterobacteria: dominant populations, biological properties, medico-ecological significance: abstract of dissertation of Doctor of Biological Sciences. – Irkutsk, 2012. – 46 p. (in Russian)
2. Анисимова А.В., Чхенкели В.А., Дзюба Н.Ф. К вопросу мониторинга ветеринарно-санитарных исследований пищевых продуктов на сальмонеллез // Матер. междунаро. Науч.-практ. конф. «Климат, экология, сельское хозяйство Евразии», 28–30 мая 2013. – Иркутск, 2013. – С. 339–341.
Anisimova A.V., Chkhenkeli V.A., Dzyuba N.F. To the problem of monitoring of veterinary-sanitary salmonellosis examination of nutrition products // Mater. mezh-dunarod. Nauch.-prakt. konf. «Klimat, jekologija, sel'skoe hozjajstvo Evrazii» (28–30 May 2013). – Irkutsk, 2013. – P. 339–341. (in Russian)
3. Анисимова А.В., Чхенкели В.А., Дзюба Н.Ф. Эпизоотологический мониторинг по сальмонеллезу крупного рогатого скота и птицы в Иркутской области // Журнал инфекционной патологии – 2014. – Т. 21, № 1-2. – С. 20–22.
Anisimova A.V., Chkhenkeli V.A., Dzyuba N.F. Epizootic monitoring of salmonellosis in cattle and fowl in Irkutsk Region // Zhurnal infekcionnoj patologii – 2014. – Vol. 21, N 1–2. – P. 20–22. (in Russian)
4. Астафьев В.А. Заболеваемость острыми кишечными инфекциями и биологическое загрязнение окружающей среды в Сибири: автореф. дис. ... докт. мед. наук. – Иркутск, 2007. – 39 с.
Astafjev V.A. Acute enteric infection morbidity and biological pollution in Siberia: abstract of dissertation of Doctor of Medical Sciences. – Irkutsk, 2007. – 39 p. (in Russian)
5. Калинович А.Е. Эколого-биологическое обоснование применения лечебно-профилактического ветеринарного препарата на основе гриба-ксилотрофа *Trametes pubescens* (Shumach.:Fr.) Pilat в отношении энтерогеморрагической кишечной палочки: дис. ... канд. биол. наук. – Иркутск, 2013. – 161 с.
Kalinovich A.E. Ecological-biological grounding of using medical and preventive veterinary drug associated with xylotrophe fungi *Trametes pubescens* (Shumach.: Fr.) Pilat against enterohemorrhagic *Escherichia coli*: dissertation of Candidate of Biological Sciences. – Irkutsk, 2013. – 161 p. (in Russian)

6. Методические указания по применению унифицированных и биохимических методов исследования крови, мочи и молока в ветеринарных лабораториях. – М.: МСХ СССР, 1981. – 42 с.

Guidelines on the using unitized and biochemical methods of blood, urine and milk analysis in veterinary laboratories. – Moscow, 1981. – 42 p. (in Russian)

7. Петров Р.В., Хайтов Р.М., Пинегин Б.В. и др. Оценка иммунного статуса человека при массовых обследованиях // Иммунология. – 1992. – № 6. – С. 51–56.

Petrov R.V., Khaitov R.M., Pinegin B.V. et al. Assessment of human immune status at screening programs // Immunologija. – 1992. – N 6. – P. 51–56. (in Russian)

8. Свириденко Г.М. Основной критерий безопасности молока-сырья – здоровье животных (сальмонеллез) // Молочная промышленность. – 2009. – № 2. – С. 44–46.

Sviridenko G.M. Basic criterion of safety of raw milk is animals' health (salmonellosis) // Molochnaja promyshlennost'. – 2009. – N 2. – P. 44–46. (in Russian)

9. Хурай Р.Я., Марченко Т.В., Глотова Е.В. Сальмонеллез // Ветеринария Кубани. – 2012. – Вып. 3. – С. 23–24.

Khurai R.Ya., Marchenko T.V., Glotova E.V. Salmonellosis // Veterinarija Kubani. – 2012. – Vol. 3. – P. 23–24. (in Russian)

10. Чхенкели В.А. Препараты последнего поколения на основе грибов-ксилотрофов рода *Trametes*:

обнаруженные эффекты, механизмы действия и применение: Монография. – М.: Перо, 2014. – 255 с.

Chkhenkeli V.A. Latest-generation preparations based on the *Trametes xyloporae* fungi: found effects, mechanisms of action and using. – Moscow: Pero, 2014. – 255 p. (in Russian)

11. Чхенкели В.А., Анисимова А.В., Мельцов И.В. Ретроспективный анализ по желудочно-кишечным заболеваниям сельскохозяйственных животных в Иркутской области // Матер. III международной науч.-практ. конф. «Климат, экология, сельское хозяйство Евразии», посв. 80-летию образования ИРГСХА, 27–29 мая 2014. – Иркутск, 2014. – Ч. 2. – С. 218–226.

Chkhenkeli V.A., Anisimova A.V., Meltsov I.V. Retrospective analysis on the gastrointestinal diseases of farm animals in Irkutsk region // Mater. III mezhdunarodnoj nauch.-prakt. konf. «Klimat, jekologija, sel'skoe hozjajstvo Evrazii», posv. 80-letiju obrazovanija IrGSHA (27–29 May 2014). – Irkutsk, 2014. – Part 2. – P. 218–226. (in Russian)

12. Chkhenkeli V.A., Likhoshvay E.V., Malova T.N., Kalinovich A.E. et al. On the question of studying of the mechanism of antimicrobial action of veterinary preparation Trametin // VII International Research-to-Practice Conference «European Science and Technology» (23–24 April 2014). – Munich, Germany, 2014. – Vol. 1. – P. 19–27.

Сведения об авторах

Чхенкели Вера Александровна – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии, физиологии и микробиологии факультета биотехнологии и ветеринарной медицины Иркутской государственной сельскохозяйственной академии (664007, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 59; e-mail: chkhenkeli@rambler.ru)

Анисимова Анна Валерьевна – аспирант кафедры анатомии, физиологии и микробиологии факультета биотехнологии и ветеринарной медицины Иркутской государственной сельскохозяйственной академии (e-mail: azuka87@mail.ru)

Романова Екатерина Дмитриевна – аспирант кафедры анатомии, физиологии и микробиологии факультета биотехнологии и ветеринарной медицины Иркутской государственной сельскохозяйственной академии (e-mail: ekaterina_from_siberia@mail.ru)

Калинович Арсений Евгеньевич – кандидат биологических наук (e-mail: allever@mail.ru)

Промтов Максим Владимирович – заведующий лабораторией иммунологии, врачебной клинической лабораторной диагностики Иркутского областного клинического консультативно-диагностического центра (e-mail: promtov@dc.baikal.ru)

Information about the authors

Chkhenkeli Vera Aleksandrovna – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Anatomy, Physiology and Microbiology of the Faculty of Biotechnology and Veterinary Medicine of Irkutsk State Agricultural Academy (664007, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 59; e-mail: chkhenkeli@rambler.ru)

Anisimova Anna Valerjevna – Postgraduate of the Department of Anatomy, Physiology and Microbiology of the Faculty of Biotechnology and Veterinary Medicine of Irkutsk State Agricultural Academy (e-mail: azuka87@mail.ru)

Romanova Ekaterina Dmitrijevna – Postgraduate of the Department of Anatomy, Physiology and Microbiology of the Faculty of Biotechnology and Veterinary Medicine of Irkutsk State Agricultural Academy (e-mail: ekaterina_from_siberia@mail.ru)

Kalinovich Arseniy Yevgenyevich – Candidate of Biological Sciences (e-mail: allever@mail.ru)

Promtov Maksim Vladimirovich – Head of the Laboratory of Immunology, Medical Clinical Laboratory Diagnostics of Irkutsk Regional Clinical Consultative Diagnostic Centre (e-mail: promtov@dc.baikal.ru)

УДК 51.76, 578.2

Ю.С. Букин^{1, 2}, Ю.П. Джигоев^{3, 4}, И.В. Козлова³, Д. Ружек^{5, 6}, В.И. Злобин⁴

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ АМИНОКИСЛОТНЫХ ОСТАТКОВ, ВХОДЯЩИХ В РАЗЛИЧНЫЕ ВАРИАНТЫ ОБОЛОЧЕЧНОГО БЕЛКА Е ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

¹ Лимнологический институт СО РАН (Иркутск)

² Национальный исследовательский Иркутский государственный технический университет (Иркутск)

³ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека (Иркутск)

⁴ Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)

⁵ Институт паразитологии Биологического центра Академии наук Республики Чехия (Ческе-Будеевице, Республика Чехия)

⁶ Научно-исследовательский институт ветеринарии (Брно, Республика Чехия)

Рассматривается вариабельность основного антигенного белка Е различных штаммов вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) на уровне физико-химических свойств аминокислотных остатков. Оценивалось разнообразие свойств аминокислот белка, участвующих во взаимодействии «антиген – антитело». Было охарактеризовано 180 вариантов белка Е ВКЭ из базы NCBI, различающихся по физико-химическим свойствам аминокислотных остатков. Это означает, что среди природных вариантов ВКЭ могут потенциально обнаруживаться штаммы, ускользающие от иммунного ответа, вызванного стандартной вакциной.

Ключевые слова: ВКЭ, белок оболочки Е, вакцина противоклещевого энцефалита, протеомика

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF AMINO ACID RESIDUES WITHIN THE VARIOUS EMBODIMENTS OF THE ENVELOPE PROTEIN E TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS

Yu.S. Bukin^{1, 2}, Yu.P. Dzhigoev^{3, 4}, I.V. Kozlova³, D. Ruzek^{5, 6}, V.I. Zlobin⁴

¹ Limnological Institute SB RAS, Irkutsk

² National Research Irkutsk State Technical University, Irkutsk

³ Scientific Center of Family Health Problems and Human Reproduction, Irkutsk

⁴ Irkutsk State Medical University, Irkutsk

⁵ Institute of Parasitology, České Budějovice, Czech Republic

⁶ Veterinary Institute, Brno, Czech Republic

The article considers variability of antigen protein E of different tick-borne encephalitis (TBE) strains at the level of physicochemical properties of amino acid residues. The authors evaluated variety of properties of protein amino acids involved in antigen-antibody interaction. 180 variants of TBEV E protein in database NCBI were detected, differing in physical and chemical properties of amino acid residues. This implies that natural variants of TBEV strains can potentially be detected, that escaped from the immune response induced by standard vaccine.

Key words: tick-borne encephalitis virus, envelope protein E, TBE vaccine, proteomic

ВВЕДЕНИЕ

Клещевой энцефалит представляет собой одну из наиболее распространенных в России природно-очаговых нейроинфекций вирусной природы [4]. Основным методом профилактики данного заболевания является вакцинация населения [2, 4]. Оболочечный белок Е ВКЭ является основным антигеном, на который формируется иммунный ответ как при развитии инфекционного процесса в организме человека, так и при вакцинировании [4, 7]. При создании вакцины против ВКЭ используются инаktivированные частицы вируса, культивированные на культурах клеток куриного эмбриона. Находясь на поверхности инаktivированной вирусной частицы, белок Е служит антигеном (мишенью) для синтеза в организме антител.

Обычно для создания вакцины используется один из известных штаммов ВКЭ. Например, в отечественной вакцине, производимой ФГУП Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова используется штамм «Софьин» являющийся эталонным штаммом ВКЭ [9].

Признанными считаются три основных генотипа – дальневосточный, сибирский и западный, а два новых генетических вариантов ВКЭ (их прототипами являются штаммы 886-84 и 178-79) претендуют на статус новых генотипов [3, 4, 5]. Штамм «Софьин» относится к категории дальневосточного подтипа вируса. Все три подтипа вируса имеют различия в нуклеотидной последовательности генома вируса, кодирующей белок Е и первичной полипептидной

последовательности белка Е. Дальневосточный подтип вируса чаще всего вызывает тяжелые формы течения заболевания, но иногда встречаются больные, у которых тяжелое течение инфекции было вызвано сибирским или реже европейским типом вируса.

До недавнего времени считалось, что вакцина на основе дальневосточного подтипа вируса является эффективной против всех возможных штаммов ВКЭ. Но все чаще появляются сообщения, что люди, привитые стандартной вакциной, заболевают ВКЭ после контакта с инфицированными природными переносчиками вируса – клещами. Данная ситуация может быть связана с тем, что в процессе микроэволюции в природных очагах белок Е ВКЭ накопил ряд аминокислотных замен, препятствующих связыванию антигена – белка Е вируса с антителами, выработанными на белок Е штамма «Софьин» и других штаммов, используемых при изготовлении вакцины. Подобная ситуация наблюдается и для вакцин против других вирусов, опасных для человека. Например, известные штаммы вируса гепатита В «ускользающие» от иммунного ответа, выработанный на стандартный антиген, входящий в состав противовирусной вакцины [1]. В «ускользающих» от иммунного ответа штаммах вируса гепатита В были обнаружены мутации, приводящие к замене аминокислот в белке, входящим в состав оболочки вируса. Биоинформационные исследования различных вариантов антигена вируса гепатита В показали наличие большого числа замен, приводящих к значительному изменению физико-химических свойств аминокислотных остатков в определенных позициях антигенного белка [6]. Подобная ситуация может наблюдаться и для ВКЭ.

Можно предположить, что для создания наиболее эффективной вакцины против ВКЭ необходима комбинация из нескольких штаммов с различными вариантами белка оболочки Е. Перед решением подобной задачи необходимо исследование разнообразия имеющихся вариантов белка Е ВКЭ с помощью методов протеомики и биоинформатики, что будет способствовать решению этой задачи. В настоящее время многие исследователи работают над расшифровкой нуклеотидных последовательностей как полного генома штаммов ВКЭ, так и его частей, кодирующих поверхностный белок Е вируса. По нуклеотидным последовательностям поверхностного белка Е можно восстановить его первичную аминокислотную последовательность. База данных NCBI содержит около 250 полноразмерных аминокислотных последовательности белка Е ВКЭ. Эту информацию можно использовать для анализа аминокислотного разнообразия и вариабельности физико-химических свойств аминокислотных остатков в различных положениях полипептидной последовательности белка Е ВКЭ. В большей мере из всех физико-химических свойств аминокислотных остатков на характеристики полипептида как антигена оказывают влияние средний объем аминокислотного остатка в третичной структуре белка, количество доноров водородной связи аминокислотного остатка, заряд бокового радикала аминокислотного остатка и дипольный момент аминокислотного остатка.

В связи с вышесказанным, основной задачей, стоящей в ходе исследования является поиск в базе данных NCBI всех представленных вариантов аминокислотных последовательностей белка Е ВКЭ и сравнительный анализ с помощью статистических методов вариабельности свойств аминокислотных остатков, связанных антигенными свойствами штаммов вируса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Поиск аминокислотных последовательностей белка Е ВКЭ осуществляли с помощью дополнения BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). В качестве исходной последовательности для гомологичного поиска была взята аминокислотная последовательность штамма «Софьин» ВКЭ длиной 496 аминокислотных остатков. Полученные последовательности сохранялись в формате fasta для дальнейшей обработки. Весь массив данных в формате fasta проходил предварительную обработку с помощью средств языка программирования R применяемого для статистических расчетов и обработки данных молекулярно-биологических исследований. Для загрузки последовательностей в качестве массива данных из файла в формате fasta был использован пакет bios2mds [11], предназначенный для обработки полипептидных последовательностей на R. На языке программирования R, нами был написан скрипт, с помощью которого из массива данных был автоматизирован выбор последовательностей с длиной, соответствующей длине белка Е штамма «Софьин». Затем из всего набора данных были исключены последовательности, содержащие позиции с неустановленными аминокислотами, обозначаемыми как X. На следующем этапе из всего набора данных были удалены повторяющиеся (одинаковые последовательности), для анализа были выбраны только уникальные последовательности белка Е ВКЭ.

Физико-химические свойства аминокислотных остатков в составе полипептидных последовательностей были взяты из базы данных [10]. Рассматривались такие свойства аминокислотных остатков как средний объем аминокислотного остатка в третичной структуре белка, количество доноров водородной связи аминокислотного остатка, заряд бокового радикала аминокислотного остатка и дипольный момент аминокислотного остатка, влияющих на антигенные свойства полипептида. Выбранные свойства аминокислотных остатков были записаны в виде таблицы в файл формата csv, доступного для прочтения средствами языка программирования R. Рассматриваемые свойства аминокислотных остатков сильно различаются по своим числовым характеристикам, например, объем аминокислотного остатка в трехмерной структуре белка изменяется от 66 до 237 условных единицы, а дипольный момент от 5,5 до 12,3 условных единицы. Если данные цифры использовать в многомерной статистике напрямую, то на фоне изменения объема, изменение других параметров нивелируется. Для избежания этого, все свойства были пересчитаны в процентах изменения от максимального значения

до минимального (максимальное числовое значение свойства было принято за 100 %, минимальное значение – за 0 %).

С помощью стандартных средств языка программирования R с диска были считаны свойства аминокислотных остатков из файла csv и подготовленные аминокислотные последовательности белка Е ВКЭ из файла в формате fasta. Каждой аминокислоте в полипептидной последовательности из набора данных были сопоставлены четыре выбранных физико-химических свойства. В результате чего была получена таблица, состоящая из строк соответствующих аминокислотным последовательностям белка Е ВКЭ из набора данных. Столбцы в таблице располагаются четверками, каждая четверка характеризует четыре соответствующих свойства аминокислотных остатков в данной позиции последовательностей набора данных. Таким образом, всего в таблице находилось количество четверок столбцов, равное количеству аминокислот в последовательности белка Е ВКЭ. Каждая строка в таблице характеризовала все четыре выбранных физико-химических свойства каждого аминокислотного остатка в составе соответствующей последовательности набора.

Для исследования общей таблицы значений свойств аминокислотных остатков был применен метод многомерной статистики – многомерное шкалирование [11]. Суть метода заключается в том, что расстояния между векторами, характеризующими свойства объектов, проецируются в обозримое двух или трехмерное пространство таким образом, чтобы расстояние между векторами в двух или трехмерном пространстве максимально приближалось к расстоянию в многомерном пространстве. В нашем случае векторами являются строки таблицы, характеризующие свойства аминокислотных остатков в различных вариантах белка Е ВКЭ. В каждом векторе содержится количество координат, равное четырехкратному значению длины последовательности. Для шкалирования свойств было выбрано две координаты двухмерного пространства. В качестве меры расстояния была выбрана евклидова дистанция между векторами.

Скрипт на языке программирования R для статистической обработки аминокислотных последовательностей белка Е ВКЭ, многомерного шкалирования, набор последовательностей белка Е ВКЭ и csv файл со свойствами аминокислотных остатков и номера последовательностей из банка NCBI можно скачать по ссылке (<https://yadi.sk/d/iFQue4TocmybA>).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

В процессе поиска с помощью сервиса BLAST из базы данных NCBI было извлечено 350 последовательностей, идентифицированных под именем аминокислотная последовательность белка Е ВКЭ. Из всех 350 последовательностей после обработки набора данных на предмет удаления коротких последовательностей с длиной, меньшей чем 496 аминокислотных остатков и удаления последовательностей, содержащих неизвестные аминокислоты X, в наборе осталось 250 аминокислотных последовательностей. После удаления повторяющихся последовательно-

стей в наборе данных осталось 180 аминокислотных последовательностей белка Е ВКЭ, отличающихся хотя бы одной замененной аминокислотой. Таким образом, можно сделать вывод о том, что в настоящий момент времени база данных NCBI содержит 180 полноразмерных вариантов расшифрованных последовательностей поверхностного антигенного белка Е ВКЭ.

Исходный набор данных по информации из базы данных NCBI содержащий 250 аминокислотных последовательностей белка ВКЭ включал в себя: 48 последовательностей дальневосточного подтипа вируса, 77 последовательностей сибирского подтипа вируса и 95 последовательностей европейского подтипа вируса. Для остальных 30 последовательностей информации о принадлежности подтипу в базе NCBI не содержалось.

После проведения многомерного шкалирования на основе четырех физико-химических свойств аминокислотных остатков была получена картина распределения точек на плоскости, соответствующих дифференциации свойств аминокислот в каждом положении последовательностей. Каждая точка на плоскости соответствует определенной последовательности в наборе. Визуализация картины распределения точек на плоскости после многомерного шкалирования приведена на рисунке 1.

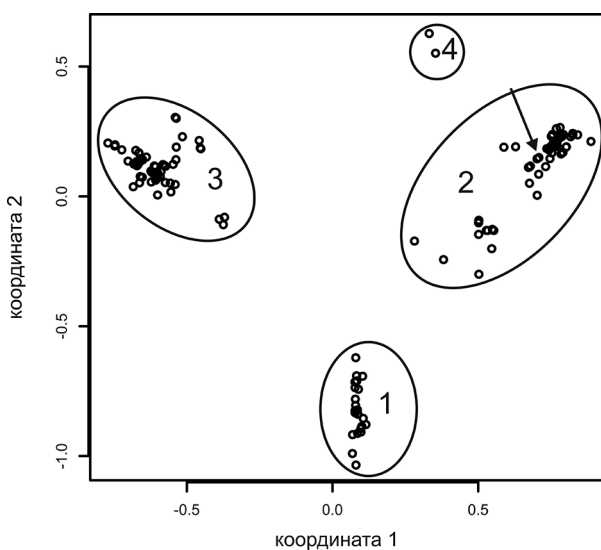


Рис. 1. Результат кластеризации аминокислотных последовательностей поверхностного антигенного белка Е ВКЭ в двухмерном пространстве после многомерного шкалирования набора данных, содержащих четыре свойства аминокислотных остатка каждой позиции. Цифрами и соответствующими овалами обозначены выделенные группы последовательностей. Стрелкой указано положение штамма «Софьин», используемого для вакцинации.

Анализ рисунка позволяет выделить на нем четыре группы последовательностей. В первой, второй и третьей группе последовательности объединились по принадлежности вируса определенному подтипу: дальневосточному, сибирскому или европейскому. Группа номер 1 объединяет преимущественно аминокислотные последовательности белка Е сибирского подтипа вируса, группа 2 – последовательности белка

Е дальневосточного подтипа вируса и группа 3 – последовательности белка Е европейского подтипа вируса. Штамм ВКЭ «Софьин» находится в центре второй выделенной группы последовательностей. В каждой из трех указанных групп находились последовательности, принадлежность которых к определенному подтипу вируса в базе NCBI указана не была. Можно предположить, что подтип вируса, к которым принадлежат эти последовательности, соответствует подтипу большинства последовательностей группы.

Из распределения точек на плоскости рисунка видно, что самая низкая вариабельность физико-химических свойств характерна для сибирского подтипа вируса (группа 1). Далее по уровню вариабельности идет европейский подтип вируса. Максимальная вариабельность физико-химических свойств аминокислотных остатков наблюдается у дальневосточного подтипа вируса. Если сравнивать вариабельность свойств аминокислотных остатков внутри и между подтипами вируса, то можно сказать, что различия по физико-химическим свойствам внутри дальневосточного подтипа вируса может превышать различия между штаммами сибирского и дальневосточного подтипа вируса. Количество последовательностей различных подтипов вируса, представленных в исходном наборе данных, было сопоставимо (48 последовательностей дальневосточного подтипа, 77 последовательностей сибирского подтипа и 95 последовательностей европейского подтипа). Это означает, что наблюдаемая вариабельность по физико-химическим свойствам аминокислотных последовательностей в сибирском подтипе вируса не связана с недостатком данных (расшифрованных последовательностей вируса в базе NCBI), а соответствует реально наблюдаемой природной картине. Из общих представлений эволюционной генетики известно, что вариабельность различий по аминокислотным остаткам в белке зависит от давления факторов естественного отбора. Если в данный момент времени по данному признаку (аминокислотной последовательности белка) ведется направленный отбор, то вариабельность аминокислотных последовательностей рассматриваемого белка в пределах популяции резко сокращается. В настоящее время вероятней всего это происходит с сибирским подтипом вируса. На популяцию сибирского подтипа ВКЭ действуют природные отбирающие факторы, проводящие направленную селекцию свойств белка оболочки Е.

Группа 4 на рисунке представлена двумя аминокислотными последовательностями белка оболочки Е ВКЭ. По данным базы NCBI одна из этих последовательностей была расшифрована у вируса, изолированного в Китае из мозга мыши. Принадлежность к определенному подтипу вируса указана не была. Но ближайший гомолог к этой последовательности с 99 % сходством был определен как дальневосточный подтип вируса. Можно предположить, что и рассматриваемая нами последовательность принадлежит дальневосточному подтипу ВКЭ. Вторая последовательность из группы 4 в базе NCBI была определена как штамм «Приморье-633», выделенный из мозга мыши и принадлежащий дальневосточному подтипу

ВКЭ. Таким образом, указанные последовательности белка оболочки Е вируса ВКЭ существенно увеличивают границы вариабельности физико-химических свойств дальневосточного подтипа вируса ВКЭ.

В работах, связанных с исследованием трехмерной структуры белка Е ВКЭ, отмечалось обстоятельство, что ряд штаммов вируса имеет замены в различных положениях аминокислотной последовательности, меняющие антигенные свойства белка [12]. Определенное моноклональное антитело имело различную степень сродства (связывалось с меньшей вероятностью) с вирусными частицами, имеющими замены в различных позициях белка Е, отличающие их от вирусных частиц, используемых в качестве антигена для выработки моноклонального антитела [12].

Большое варьирование физико-химических свойств белка Е ВКЭ дает основание предполагать, что для более эффективной вакцинации необходимо использовать несколько антигенов (вариантов вирусных частиц) в одной вакцине. Необходимо проведение экспериментального исследования по идентификации близости антигенных свойств, выделенных в базе NCBI 180 вариантов белка оболочки Е ВКЭ. На основании подобного исследования можно подобрать кандидатные штаммы для создания вакцин со множеством антигенных вариантов ВКЭ, обеспечивающих выработку поливариантных антител для перекрестной защиты от максимального количества вариантов вируса. Также необходимо периодически проводить ревизию информации из базы данных NCBI на предмет обнаружения штаммов ВКЭ, обладающих новыми вариантами замен в оболочечном белке Е. Новые варианты вируса, периодически появляющиеся в природе, за счет процесса накопления мутаций могут избегать иммунного ответа, вырабатываемого на стандартные антигены, входящие в состав вакцин.

На основании проведенного исследования можно сделать вывод о том, что в настоящий момент времени белок оболочки Е ВКЭ, являющийся основным антигеном при вакцинировании, в природной популяции обладает широкой вариабельностью физико-химических свойств, отвечающих за связывание антитела с антигеном. На это обстоятельство необходимо обратить внимание при оценке эффективности существующих вакцин против данной вирусной инфекции и решения вопросов, связанных с их усовершенствованием.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов:

- Программы фундаментальных исследований Президиума РАН № 1 по стратегическим направлениям развития науки на 2014 г. 43-п «Фундаментальные проблемы математического моделирования»;
- Российского научного фонда № 14-15-00615.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Баженов А.И., Эльгорт Д.А., Фельдшерова А.А. Выявление антител к мутантным формам HBSAG у лиц, иммунизированных против гепатита В вакцинами разных субтипов // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2011. – № 5. – С. 49–53.

Bazhenov A.I., Elgort D.A., Feldsherova A.A. Detection of antibodies to mutant forms HBSAG in individuals immunized against hepatitis B vaccines of different subtypes // *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. – 2011. – N 5. – P. 49–53. (in Russian)

2. Воробьева М.С., Расщепкина М.Н., Ладыженская И.П. Вакцины, иммуноглобулины и тест-системы для профилактики и диагностики клещевого энцефалита // *Вопросы вирусологии*. – 2007. – № 6. – P. 30–36.

Vorobyova M.S., Rasschepkina M.N., Ladyzhenskaya I.P. Vaccines, immunoglobulins and test systems for prevention and diagnosis of tick-borne encephalitis // *Voprosi virusologii*. – 2007. – N 6. – P. 30–36. (in Russian)

3. Демина Т.В., Джиоев Ю.П., Козлова И.В., Верховина М.М., и др. Генотипы 4 и 5 вируса клещевого энцефалита: особенности структуры геномов возможный сценарий их формирования // *Вопросы вирусологии*. – 2012. – № 4. – С. 13–19.

Demina T.V., Dzhioev Yu.P., Kozlova I.V., Verkhovina M.M. et al. Genotypes 4 and 5 encephalitis virus: structural features of the genomes of a possible scenario for their formation // *Voprosi virusologii*. – 2012. – N 4. – P. 13–19. (in Russian)

4. Злобин В.И. Клещевой энцефалит в Российской Федерации: современное состояние проблемы и стратегия профилактики // *Вопросы вирусологии*. – 2005. – № 3. – С. 26–31.

Zlobin V.I. Tick-borne encephalitis in the Russian Federation: the current state of the issue and prevention strategy // *Voprosi virusologii*. – 2005. – N 3. – P. 26–31. (in Russian)

5. Парамонов А.И., Козлова И.В., Верховина М.М., Джиоев Ю.П., и др. Генетическая и экологическая характеристика оригинального варианта вируса клещевого энцефалита («группа 886»), циркулирующего в Байкальском регионе // *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. – 2013. – № 2, Ч. 2. – С. 124–129.

Paramonov A.I., Kozlova I.V., Verkhovina M.M., Dzhioev Y.P. et al. Genetic and ecological characteristics of the original version of tick-borne encephalitis virus ("Group 886") circulating in the Baikal region // *Bull. VSNC SO RAMN*. – 2013. – N 2, Part 2. – P. 124–129. (in Russian)

6. Столбиков А.С., Букин Ю.С., Джиоев Ю.П., Злобин В.И. Биоинформационный поиск вариантов α-антигенной детерминанты белка S вируса гепатита В для создания поливалентной вакцины // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. – 2014. – № 3. – С. 94–104.

Stolbikov A.S., Bukin Yu.S., Dzhioev Yu.P., Zlobin V.I. Bioinformation search options α-S protein epitope of hepatitis B virus to create a multivalent vaccine // *Epidemiology and vaccine prevention*. – 2014. – N 3. – P. 94–104. (in Russian)

7. Goodman J.L., Dennis D.T., Sonenshine D.E. Tick-borne encephalitis. Tick-borne diseases of humans. – Washington, DC: ASM Press, 2005. – 151 p.

8. Demina T.V., Dzhioev Yu.P., Verkhovina M.M., Kozlova I.V. et al. Genetic variability research and genotyping of tick-borne encephalitis virus by means of desoxyoligonucleotide probes // *Journal of Medical Virology*. – 2010. – N 82. – P. 965–976.

9. Kovalev S.Y., Mukhacheva T.A., Kokorev V.S., Belyaeva I.V. Tick-borne encephalitis virus: reference strain Sofjin and problem of its authenticity // *Virus Genes*. – 2012. – N 2. – P. 217–224.

10. Mathura V.S., Kolippakkam D. APDbase: Amino acid physicochemical properties database // *Bioinformatics*. – 2005. – N 1. – P. 2–4.

11. Pele J., Jean-Michel Bécu J., Abdi H., Chabbert M. Bios2mds: an R package for comparing orthologous protein families by metric multidimensional scaling // *BMC Bioinformatics*. – 2012. – N 13. – P. 133.

12. Rey F.A., Heinz F.X., Mandl C., Kunz C., Harrison S.C. The envelope glycoprotein from tick-borne encephalitis virus at 2 Å resolution // *Nature*. – 1995. – N 375. – P. 291–298.

Сведения об авторах

Букин Юрий Сергеевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории геносистематики, ФГБУН «Лимнологический институт» Сибирского отделения РАН (664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3; тел.: 8 (3952) 42-29-23; e-mail: bukinyura@mail.ru)

Джиоев Юрий Павлович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории молекулярной вирусологии и биотехнологии НИИ биомедицинских технологий Иркутского государственного медицинского университета, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: alanir07@mail.ru)

Козлова Ирина Валерьевна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: diwerhoz@rambler.ru)

Ружек Даниел – доктор медицины Института ветеринарии, Институт паразитологии Биологического центра академии наук Республики Чехия (e-mail: ruzekd@paru.cas.cz)

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

Information about the authors

Bukin Yuriy Sergeevich – candidate of biological science, Senior Research Officer at the laboratory of molecular systematics, Limnological Institute RAS (664033, Irkutsk, ul. Ulan-Batorskaya, 3; tel.: +7 (3952) 42-29-23; e-mail: bukinyura@mail.ru)

Dzhioev Yuri Pavlovich – Candidate of Biological Sciences, Leading Research Officer, Head of the Laboratory of Molecular Virology and Biotechnology, Institute of Biomedical Technologies of Irkutsk State Medical University; Senior Research Officer at the Laboratory of Molecular epidemiology and genetic diagnosis of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: alanir07@mail.ru)

Kozlova Irina Valerievna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Molecular epidemiology and genetic diagnosis of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: diwerhoz@rambler.ru)

Ruzhek Daniel – M.D., Institute of Veterinary Medicine, Institute of Parasitology, Biology Centre of the Academy of Sciences of the Czech Republic (e-mail: ruzekd@paru.cas.cz)

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

Н.Г. Загоруйко ^{1, 2}, Ю.П. Джигоев ^{3, 4}, И.В. Козлова ^{3, 4}, С.Е. Ткачев ⁵, Ю.С. Букин ⁶,
А.И. Парамонов ⁴, А.Ю. Борисенко ³, И.А. Борисова ^{1, 2}, В.И. Злобин ⁴, О.А. Кутненко ^{1, 2}

ПРИМЕНЕНИЕ МАТЕМАТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ПРЕДСКАЗАНИЯ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ЗАКОНОМЕРНЫХ СВЯЗЕЙ МУТАЦИЙ В БЕЛКАХ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И ПРОЯВЛЕНИЙ ЕГО ФЕНОТИПИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ

¹ Институт математики им. С.Л. Соболева СО РАН (Новосибирск)

² Новосибирский государственный исследовательский университет (Новосибирск)

³ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека (Иркутск)

⁴ Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)

⁵ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск)

⁶ Лимнологический институт СО РАН (Иркутск)

Исследуются закономерные связи между аминокислотными последовательностями белков C, prM, E и NS1 штаммов вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) и их тремя фенотипическими признаками – нейроинвазивностью, термостабильностью и терморезистентностью. Интенсивность связи оценивается с помощью меры конкурентного сходства. Выбираются подмножества сечений штамма, по особенностям аминокислотного состава которых можно предсказывать значение интересующего фенотипического признака. Показана возможность предсказания пропущенных элементов в данных, как в аминокислотном составе, так и в целевых свойствах. Оценены зависимости между парами фенотипических признаков штаммов.

Ключевые слова: вирус клещевого энцефалита, нейроинвазивность, термостабильность, терморезистентность, математические методы предсказания

APPLICATION OF MATHEMATICAL METHOD PREDICTIONS FOR IDENTIFICATION OF PATTERNS RELATIONS MUTATIONS IN PROTEINS ENCEPHALITIS VIRUS AND A MANIFESTATION OF ITS PHENOTYPIC TRAITS

N.G. Zagoruyko ^{1, 2}, Yu.P. Dzhigoev ^{3, 4}, I.V. Kozlova ^{3, 4}, S.E. Tkachev ⁵, Yu.S. Bukin ⁶,
A.I. Paramonov ⁴, A.Yu. Borisenko ³, I.A. Borisova ^{1, 2}, V.I. Zlobin ⁴, O.A. Kutnenko ^{1, 2}

¹ S.L. Sobolev Institute of Mathematics SB RAS, Novosibirsk

² Novosibirsk State Research University, Novosibirsk

³ Scientific Center for Family Health Problems and Human Reproduction, Irkutsk

⁴ Irkutsk State Medical University, Irkutsk

⁵ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk

⁶ Limnological Institute SB RAS, Irkutsk

We studied the natural connections between the amino acid sequences of proteins C, prM, E and NS1 virus strains of tick-borne encephalitis (TBE) and their three phenotypic traits – neuroinvasiveness, thermal stability and thermoresistance. Coupling strength is assessed using measures of competitive sequence similarity of each strain with reference strains. For such purposes subsets of strain sections are chosen amino acid composition specifics of which can predict the value of a phenotypic trait of interest. The possibility to predict missing elements in data both in amino acid composition, and in target properties is demonstrated. The relationships between pairs of phenotypic traits of strains were evaluated.

Key words: TBE virus, neuroinvasiveness, thermal stability, thermoresistance, mathematical prediction methods

ВВЕДЕНИЕ

Клещевой энцефалит является одной из наиболее значимых трансмиссивных природно-очаговых вирусных инфекций лесной зоны Евразийского континента. Его возбудителем является вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), который относится к семейству *Flaviviridae* [10]. Геномная РНК ВКЭ содержит единую открытую рамку считывания, кодирующую 3 структурных и 7 неструктурных белков [12]. Основными считаются три генотипа ВКЭ – дальневосточный, сибирский и западный, но выявлена циркуляция представителей еще двух предполагаемых генотипов (с прототипными штаммами 886-84 и 178-79) в природных очагах Восточной Сибири [1, 6, 9]. Считается, что наблюдаемые различия в патогенности флавивирусов связаны с точечными мутациями в гликопротеине оболочечного белка Е, которые при-

водят к потере вирулентности (нейровирулентности или нейроинвазивности) и аттенуации флавивирусов [15]. Есть также данные, что мутации в белках NS1 [15], NS3 [8], М [11], NS4В [16] и С [14] могут быть вовлечены в процесс аттенуации вирусов и изменения их вирулентности. Также было продемонстрировано, что даже небольшие делеции в консервативной части 3'-концевой некодирующей области вызывают ослабление их инфекционности, а увеличение размеров таких делеций приводит к нежизнеспособности вирионов [13]. Тем не менее, несмотря на относительную изученность основных функций ряда вирусных белков, вопрос о связи нуклеотидной последовательности геномов ВКЭ (и, соответственно, аминокислотных последовательностей белков) с их биологическими свойствами до сих пор остается малоизученным. Большинство проводимых исследований в данной

области касаются только изучения точечных мутаций в определенных областях геномов, в то время как комплексных исследований последовательностей полноразмерных геномов ВКЭ и их связи с наблюдаемыми биологическими свойствами практически не проводится.

Цель данного этапа исследований состояла в том, чтобы показать применимость предлагаемых математических методов для предсказания связи фенотипических признаков – нейроинвазивности, термостабильности и терморезистентности штаммов ВКЭ с определенными мутациями в их белковых структурах, кодируемых структурными и неструктурными генами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исходные данные и решаемые задачи. Анализируемая коллекция состояла из 16 изолированных нами на территории Восточной Сибири штаммов ВКЭ, для каждого из которых были определены нуклеотидные последовательности фрагментов генома и выведены аминокислотные последовательности, соответствующие структурным белкам С, рМ, Е и

началу неструктурного белка NS1, и штамма 205, используемого для производства отечественной вакцины Энцевир (в базе данных GenBank) (табл. 1).

Для выбранных штаммов известны значения трех фенотипических признаков ВКЭ (целевых характеристик) (табл. 2):

а) X1: **Термостабильность** (T50) – разница lg титров вируса при заражении культуры клеток вирусосодержащей суспензией, прогретой в течение 20 мин. при температуре 50 °С и непрогретой вирусосодержащей суспензией, с дальнейшим культивированием при 37 °С.

б) X2: **Терморезистентность** (rct42) – это способность вируса к репродукции при супраоптимальной температуре (rct42). Оценивалась по разнице lg титров вируса при культивировании штаммов на культурах клеток при температуре 37 °С и 42 °С. Для определения rct 42 использовали метод титрования вируса на культуре клеток, описанный выше.

в) X3: **Нейроинвазивность** (NI) – разница в lg титров вируса при двух видах заражения мышей: церебральном (интрацеребральном титровании вирусосодержащей суспензии mNc) и подкожном (введении mNsc экстраневрально). Заражали беспло-

Таблица 1

Используемые штаммы вируса клещевого энцефалита

№	Наименование штамма	№ в GenBank	Источник изоляции	Район сбора материала
1	617-90	EU878283	<i>Ix. persulcatus</i>	РБ, Бичурский р-н
2	418-90	Не депон.	<i>I. persulcatus</i>	Читинская обл.
3	886-84	EF469662	Полевка красно-серая	ИО, Эхирит-Булагатский р-н
4	711-84	EU878281	Полевка красно-серая	РБ, Баргузинский р-н.
5	740-84	EU878282	Полевка красно-серая	РБ, Бичурский р-н
6	712-89	JN936350	<i>I. persulcatus</i>	Читинская обл.
7	210-79	JN936336	Сыворотка крови больного	Иркутская область
8	Луковка-3	JN936369	<i>I. persulcatus</i>	ИО, Эхирит-Булагатский р-н
9	Хим-Дым-6	JN936364	<i>I. persulcatus</i>	ИО, Эхирит-Булагатский р-н
10	769-90	JN936360	<i>I. persulcatus</i>	Читинская обл.
11	767-90	JN936359	<i>I. persulcatus</i>	Читинская обл.
12	761-90	JN936357	<i>I. persulcatus</i>	Читинская обл.
13	691-90	Не депон.	<i>I. persulcatus</i>	РБ, Бичурский р-н
14	757-90	JN936356	<i>I. persulcatus</i>	Читинская обл.
15	48-06	JN936330	Полевка-экономка	ИО, Иркутский р-н
Контрольная группа				
16	178-79	EF469661	<i>I. persulcatus</i>	ИО, Боханский р-н
17	205	DQ989336	<i>I. persulcatus</i>	Дальний Восток

Примечание. РБ – Республика Бурятия; ИО – Иркутская область.

Таблица 2

Биофизические свойства штаммов

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
X1 (T50)	2,33	1	3,78	2,36	0,23	1,77	0	1,27	1	0,28	1,33	1	1	2,5	1,67	0,7	0,6
X2 (rct42)	4,3	1,8	0,2	0,5	2,4	1,8	1,7	2,5	2,1	2,3	0,8	2,2	1,8	0,8	3,3	0,7	*
X3 (NI)	2,8	1,5	1,6	2,2	0,8	1,1	2,2	*	*	2,3	2,6	*	1,5	*	3	*	*

Примечание. * – нет данных.

родных белых мышей массой 5–7 г в мозг по 0,03 мл, наблюдали в течение 14 дней. В опытах титрования на животных титры вируса определяли также по методу Рида и Менча [7] и выражали в lg LD50/мл.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Часто в таблицах экспериментальных данных имеется избыточность в виде похожих друг на друга объектов (в нашем случае – штаммов), а также похожих друг на друга характеристик (в нашем случае – позиций штаммов). Пользуясь этими закономерными зависимостями можно по характеристикам одних объектов предсказать пропущенные характеристики других объектов. Для заполнения пробелов в таблицах с номинальными характеристиками использовался алгоритм WANGA-N [2]. Предварительно каждая позиция в аминокислотной последовательности оценивалась по ее информативности, которую можно определить

по энтропии символов, стоящих на этой позиции у разных штаммов. Чем больше разнообразие символов на данной позиции, тем выше энтропия и тем больший интерес она представляет для анализа. По этому критерию из рассмотрения были исключены позиции, на которых у всех штаммов данной выборки находится один и тот же аминокислотный символ. В результате, не вычеркнутыми остались 53 позиции, так что анализировалась таблица $\{x_{nm}\}$, $n = 1, \dots, N$, $m = 1, \dots, M$, из $M = 17$ объектов (штаммов) и $N = 53$ признаков (позиций). В результате предобработки в таблице аминокислот пустые клетки были заполнены при помощи алгоритма WANGA-N. После этого были выбраны наиболее информативные позиции, в которых не менее четырех штаммов имели аминокислоты, отличные от аминокислот остальных штаммов, то есть вероятность обнаружить любой символ в этой позиции была меньше 80 %. Таких позиций оказалось $N = 27$ (табл. 3).

Таблица 3

Наиболее информативные сечения штаммов ВКЭ

Штамм →	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Позиция ↓																	
J = 80	R	R	R	R	R	R	K	K	K	K	K	K	R	K	K	K	K
J = 91	K	K	K	K	K	K	R	R	R	R	R	R	K	R	H	R	R
J = 95	R	R	R	R	R	R	K	K	K	K	K	K	R	K	K	K	K
J = 98	V	V	V	V	V	V	T	T	T	T	T	T	V	T	T	T	T
J = 102	T	T	T	T	T	T	M	M	M	M	M	M	T	M	M	M	M
J = 103	S	S	S	S	S	S	G	G	G	G	G	G	S	G	G	G	G
J = 108	A	A	A	A	A	A	T	T	T	T	T	T	A	T	T	T	T
J = 109	I	I	I	I	I	I	V	V	V	V	V	V	G	I	V	V	V
J = 121	K	K	K	K	K	K	K	R	R	K	K	K	K	K	K	K	R
J = 123	R	R	R	R	R	R	G	G	G	G	G	G	R	G	G	G	G
J = 216	D	D	D	D	D	D	E	E	E	E	E	E	D	E	D	E	E
J = 246	L	L	V	V	V	V	L	L	L	L	L	L	L	L	M	L	L
J = 252	I	I	I	I	I	I	V	V	V	V	V	V	I	V	I	V	V
J = 254	I	I	I	I	I	I	V	V	V	V	V	V	I	V	V	V	V
J = 268	I	V	V	V	V	V	I	V	V	I	I	I	V	I	V	V	V
J = 270	A	A	A	A	A	V	V	V	V	V	V	V	A	V	V	V	V
J = 361	T	T	T	T	T	T	A	T	T	A	A	A	T	A	T	A	T
J = 399	A	A	A	A	A	A	V	A	A	A	V	V	A	V	A	V	A
J = 400	S	S	S	S	S	S	A	A	A	A	A	A	S	A	S	A	A
J = 514	N	N	N	N	N	N	Q	H	H	Q	Q	Q	N	Q	Q	Q	H
J = 593	T	T	T	T	T	T	A	A	A	A	A	A	T	A	A	A	A
J = 597	I	I	I	I	I	T	T	T	T	T	T	T	I	T	T	T	T
J = 611	A	A	A	A	A	A	T	T	T	T	T	T	A	T	T	T	T
J = 623	R	K	R	R	K	R	R	R	R	R	R	R	K	R	H	R	R
J = 688	R	R	R	R	R	R	K	K	K	K	K	K	R	K	K	K	K
J = 728	L	L	L	L	L	L	I	I	I	I	I	I	L	I	L	I	I
J = 735	I	I	I	I	I	I	L	L	L	L	L	L	I	L	L	L	L

По этой таблице требовалось оценить проявления закономерной связи между значением целевой характеристики X_i , $i \in \{1,2,3\}$, и аминокислотным составом каждого штамма. Для каждой целевой характеристики $X \equiv X_i$, $i \in \{1,2,3\}$, задача такого типа решалась отдельно. При этом применялся один и тот же метод решения. Метод обнаружения закономерной связи между фенотипическими свойствами штамма и его аминокислотной структурой состоит в следующем. Для заданной характеристики $X = \{x_m\}$, $m = 1, \dots, M$, выбирается два «эталонных» штамма: эталоном № 1 становится штамм с максимальным значением x_{\max} , эталоном № 2 – штамм с минимальным значением x_{\min} . Все остальные штаммы располагаются между ними в порядке убывания их значения от самого большого до самого малого. Будем считать расстоянием от m -го штамма до эталона № 1 величину $r_{1X} = x_{\max} - x_m$, а до эталона № 2 – величину $r_{2X} = x_m - x_{\min}$.

Каждый штамм описывается аминокислотами, стоящими в его столбце в таблице 3. По этим описаниям можно так же определить расстояния от m -го штамма до эталонов № 1 и № 2. Эти расстояния определяются по методу Хэмминга: если на n -й позиции у данных штаммов стоят одинаковые аминокислоты, то расстояние $r(n) = 0$, если стоят разные аминокислоты, то $r(n) = 1$. Зная $r(n)$ для всех N признаков (позиций), можно найти расстояние r_{1S} между любым штаммом и эталонным штаммом № 1:

$$r_{1S} = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N r(n) \quad (1).$$

Аналогично находится и расстояние r_{2S} от любого штамма до эталона № 2. Минимальное значение r равно 0 (при полном совпадении состава аминокислот на всех N позициях), максимальное значение r равно 1 (при несовпадении аминокислот по всем N позициям). В общем случае, зная расстояния r_1 и r_2 от m -го объекта до двух эталонов, можно вычислить меру сходства этого объекта с эталоном № 1 в конкуренции с эталоном № 2. Для этого используется функция конкурентного сходства (FRIS-функция [3, 4, 5]) следующего вида:

$$F(m, N \# 1 | N \# 2) = \frac{r_2 - r_1}{r_2 + r_1} \quad (2).$$

Значение функции конкурентного сходства меняется в пределах от 1 до -1: $F(m, N \# 1 | N \# 2) = 1$, если m -й объект совпадает с эталоном № 1. Если m -й объект совпадает с конкурирующим эталоном № 2, то $F(m, N \# 1 | N \# 2) = -1$. Если расстояния от m -го

объекта до эталонов одинаковы, то $F(m, N \# 1 | N \# 2) = F(m, N \# 1 | N \# 2) = 0$.

По расстояниям r_{1X} и r_{2X} можно для всех M штаммов найти значения $F_X(m, N \# 1 | N \# 2)$ сходства их с эталоном № 1 в конкуренции с эталоном № 2 по целевой характеристике X . Аналогично, по расстояниям r_{1S} и r_{2S} находятся значения функции $F_S(m, N \# 1 | N \# 2)$ сходства штаммов с эталоном № 1 в конкуренции с эталоном № 2 по аминокислотному составу.

Если из исходного множества N позиций штамма выбирать разные подмножества из n позиций ($n < N$), то значения расстояний r_{1S} и r_{2S} и, соответственно, функции F_S будут меняться в зависимости от n и от того, какие позиции входят в выбранное подмножество. С учетом сказанного, задача обнаружения закономерной связи между значением свойства X и аминокислотным составом штаммов состоит в следующем: требуется найти такое сочетание из n позиций ($n < N$), при котором достигается максимум корреляции между двумя рядами значений функций конкурентного сходства: по целевой характеристике $X (F_X)$ и по аминокислотному составу штаммов (F_S).

Известно, что задача выбора наиболее информативного подмножества признаков является NP-трудной задачей. Ее точное решение можно получить только методом полного перебора всех возможных комбинаций признаков. Трудоемкость этого метода неприемлема для решения большинства реальных задач, и по этой причине используются эвристические алгоритмы направленного перебора. В данной работе для нахождения F_S использовались все $N = 27$ признаков (позиций).

Связь между аминокислотной последовательностью белков штаммов и их термостабильностью (Т50). Значения свойства $X \equiv X_1$ (термостабильность) были известны для всех 17 штаммов (табл. 2). В качестве эталонов выбраны штаммы № 3 с $x_{\max} = 3,78$ и № 7 с $x_{\min} = 0$. Расстояния между штаммами по их аминокислотному составу вычислялись в метрике Хэмминга. Применение описанной методики к данным по целевому признаку и по структуре дало результаты, показанные в последних четырех строках таблицы 4. На полных данных зависимость между составом и свойством оказалась невысокой: корреляция $|r| = 0,417$. После цензурирования четырех штаммов с большими отклонениями от преобладающей закономерности (штаммов 14, 2, 13 и 5) корреляция поднялась до значения 0,855.

Связь между аминокислотным составом штамма и его терморезистентностью (rct42). В

Таблица 4

Сходство штаммов со штаммом № 3 в конкуренции со штаммом № 7 по свойству $X = X_1 (F_X)$ и структуре (F_S)

Штамм	3	14	4	1	6	15	11	8	2	9	12	13	16	17	10	5	7
X_1	3,8	2,5	2,4	2,3	1,8	1,7	1,3	1,3	1	1	1	1	0,7	0,6	0,3	0,2	0
F_S	1,00	-1,00	1,00	0,84	0,84	-0,31	-1,00	-0,64	0,85	-0,64	-0,92	0,85	-0,92	-0,64	-0,92	0,93	-1,00
F_X	1,00	0,32	0,26	0,21	-0,05	-0,11	-0,32	-0,32	-0,47	-0,47	-0,47	-0,47	-0,63	-0,68	-0,84	-0,89	-1,00
Коэф. $ r _{17} = 0,417$																	
Коэф. $ r _{13} = 0,855$																	

этой задаче проблемы возникли уже на этапе выбора эталонов. Штамм № 1, который имеет максимальное значение свойства, по составу почти не отличается от штамма № 3 с минимальным значением данного свойства. Ясно, что такие эталоны не в состоянии растянуть штаммы по оси значений свойства $X = X_2$. В качестве компромисса эталонами были выбраны штаммы № 15: $x_{\max} = 3,34$ и № 3: $x_{\min} = 0,18$. Сравнение значений функции конкурентного сходства F_x по свойству и значений функции конкурентного сходства F_s по структуре 16 штаммов показало наличие линейной зависимости между ними. Это позволяет заполнить пробел в значении свойства у штамма № 17. Поясним способ заполнения этого пробела. По аминокислотному составу находим Хэминговы расстояния r_{sm} от всех m -х штаммов до штамма № 17. Значением целевой функции свойства у штамма № 17 будем считать средневзвешенное значение этой функции у всех 16 штаммов:

$$x_{17} = \sum_{m=1}^{M-1} x_m \times V_m / \sum_{m=1}^{M-1} V_m \quad (3).$$

Здесь $V_m = (1 - r_{sm})$ – вес значения свойства у m -го штамма. В нашем случае предсказанное значение пропущенного элемента оказалось равным $x_{17} = 1,9$. Результаты совместного анализа свойства $X = X_2$ и аминокислотного состава штаммов представлены в таблице 5.

Как и ожидалось, результаты, полученные на всех $M = 17$ штаммах, оказались невысокими: корреляция между составом F_x и свойством F_s была положительной, но небольшой: $|r| = 0,258$. Если из выборки исключить 5 штаммов (1, 5, 11, 14, 16) с наиболее сильными отклонениями от закономерности значений F_s , то корреляция поднимается до величины 0,784. Так что такая зависимость правильно отражает связь между способностью к репродукции при 42 °C и аминокислотным составом на 71 % штаммов.

Связь между аминокислотным составом штамма и его нейроинвазивностью (NI). В таблице 2 нейроинвазивность представлена характеристикой $X = X_3$. Чем меньше значение данной характеристики, тем выше вирулентность штамма. Эталонными назначены штаммы № 15 и № 5. Значения свойства X были известны только у 11 штаммов. Пробелы заполнялись по описанному выше методу. Эталонами выбраны штаммы № 5 с $x_{\min} = 0,8$ и № 15 с $x_{\max} = 3,0$. Результаты совместного анализа данного свойства и аминокислотного состава штаммов представлены в таблице 6.

На всех $M = 17$ штаммах после заполнения пробелов в целевой характеристике корреляция оказалась равной $|r| = 0,620$. После исключения двух штаммов с большими отклонениями от преобладающей закономерности (штаммов 4 и 1) корреляция поднялась до значения 0,875. Если вывод подтвердится на большем количестве штаммов, то будет можно предсказать инвазивность штамма на качественном уровне, проанализировав состав его аминокислот в $N = 27$ указанных сечениях.

О зависимостях между целевыми фенотипическими признаками штаммов.

Было интересно исследовать зависимости между тремя изучаемыми целевыми свойствами штаммов. Если бы зависимости оказались сильными, то можно было бы предсказывать одни целевые характеристики по другим, не прибегая к анализу аминокислотного состава штаммов. Парные зависимости изучались на наиболее достоверных данных о целевых свойствах, т.е. на тех штаммах, у которых не наблюдалось больших расхождений между значениями функций F_x и F_s . По этой причине для каждой пары свойств выбирались свои подмножества штаммов. Коэффициенты корреляции между соответствующими парами целевых свойств оказались такими:

$$k(X_1, X_2) = -0.609; \quad k(X_1, X_3) = -0.201; \\ k(X_2, X_3) = 0.466.$$

Таблица 5
Сходство штаммов со штаммом № 15 в конкуренции со штаммом № 3 по свойству $X = X_2 (F_x)$ и структуре (F_s)

Штамм	1	17	15	8	5	10	12	9	2	6	1,3	7	11	14	16	4	3
X_2	4,30	1,90	3,30	2,50	2,40	2,30	2,20	2,10	1,80	1,80	1,80	1,70	0,80	0,80	0,70	0,50	0,20
F_s	-0,82	0,44	1,00	0,44	-0,90	0,45	0,39	0,44	-0,81	-0,79	-0,81	0,43	0,43	0,43	0,45	-1,00	-1,00
F_x	0,61	0,10	1,00	0,48	0,42	0,35	0,29	0,23	0,03	0,03	0,03	-0,03	-0,61	-0,61	-0,68	-0,81	-1,00
Коеф. $ r _{17} = 0,258$																	
Коеф. $ r _{12} = 0,784$																	

Таблица 6
Сходство штаммов со штаммом № 5 в конкуренции со штаммом № 15 по свойству $X = X_3 (F_x)$ и структуре (F_s)

Штамм	5	6	2	13	3	14	17	8	9	12	16	4	7	10	11	1	15
X_3	0,8	1,1	1,5	1,5	1,6	1,86	1,86	2,19	2,19	2,19	2,19	2,2	2,2	2,3	2,6	2,8	3
F_s	1,00	0,70	0,90	0,90	0,90	-0,44	-0,45	-0,45	-0,45	-0,41	-0,47	0,90	-0,44	-0,47	-0,44	0,74	-1,00
F_x	1,00	0,73	0,36	0,36	0,27	0,04	0,04	-0,26	-0,26	-0,26	-0,26	-0,27	-0,27	-0,36	-0,64	-0,82	-1,00
Коеф. $ r _{17} = 0,620$																	
Коеф. $ r _{15} = 0,875$																	

Можно сказать, что термостабильность и терморезистентность (способность к репродукции при 42 °С) штаммов связаны между собой довольно сильной обратной зависимостью. Но надежда на то, что по этим свойствам можно с высокой точностью предсказывать наиболее важное свойство X_3 – нейроинвазивность, не прибегая к анализу аминокислотного состава штаммов, не оправдалась.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На имеющихся данных обнаружены сечения в штаммах ВКЭ, по мутации аминокислотного состава которых можно с той или иной точностью предсказывать фенотипические признаки штаммов. Показана возможность предсказания пропущенных элементов в данных, как в аминокислотном составе, так и в целевых свойствах. Оценены зависимости между парами фенотипических признаков штаммов. Гипотеза о возможности предсказывать нейроинвазивность по термостабильности и терморезистентности не получила подтверждения. Подчеркнем, что эти результаты получены на очень малой выборке, пораженной помехами и пробелами. После увеличения выборки обнаруженные закономерности могут измениться: какие-то выводы подтвердятся, другие окажутся опровергнутыми. Цель данного этапа исследований состояла не в том, чтобы гарантированно точно обнаружить реальные закономерности, а в том, чтобы показать применимость предлагаемых математических методов для решения задач такого рода. Можно считать, что эта цель достигнута.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта в рамках Программы фундаментальных исследований Президиума РАН № 1 по стратегическим направлениям развития науки на 2014 г. «Фундаментальные проблемы математического моделирования».

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Верховина М.М., Злобин В.И., Козлова И.В., Беликов С.И. и др. Молекулярно-эпидемиологическая характеристика региональной популяции вируса клещевого энцефалита Восточной Сибири // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2002. – Т. 2, № 4. – С. 46–49.
2. Verkhovina M.M., Zlobin V.I., Kozlova I.V., Belikov S.I. et al. Molecular-epidemiological characteristics of regional population of tick-borne encephalitis in Eastern Siberia // Bujl. VSNC SO RAMN. – 2002. – Vol. 2, N 4. – P. 46–49. (in Russian)
3. Загоруйко Н.Г. Прикладные методы анализа данных и знаний. – Новосибирск: ИМ СО РАН, 1999. – С. 270.
4. Zaboruyko N.G. Applied methods of data and knowledge analysis. – Novosibirsk: IM SO RAN, 1999. – P. 270. (in Russian)
5. Загоруйко Н.Г., Кутненко О.А. Алгоритм GRAD для выбора признаков // Труды Межд. конференции «Применение многомерного статистического анализа в экономике и оценке качества». – М.: Изд-во МЭСИ, 2006. – С. 81–89.
6. Zaboruyko N.G., Kutnenko O.A. GRAD algorithm for choosing properties // Trudi Mezhd. konferentsii "Primenenie mnogomernogo statisticheskogo analiza v ekonomike i otsenke kachestva". – Moscow: Izd-vo MESI, 2006. – P. 81–89. (in Russian)
7. Загоруйко Н.Г. Интеллектуальный анализ данных, основанный на функции конкурентного сходства // Автотметрия. – 2008. – Т. 44, № 3. – С. 31–40.
8. Zaboruyko N.G. Intellectual data analysis, based in function of competitive similarity // Avtometriya. – 2008. – Vol. 44, N 3. – P. 31–40. (in Russian)
9. Загоруйко Н.Г. Когнитивный анализ данных. – Новосибирск: Академическое издательство ГЕО, 2013. – 186 с.
10. Zaboruyko N.G. Cognitive data analysis. – Novosibirsk: Akademicheskoye izdatelstvo GEO, 2013. – 186 p. (in Russian)
11. Злобин В.И., Мамаев Л.В., Джигоев Ю.П., Козлова И.В. Генетические типы вируса клещевого энцефалита // Журнал инфекционной патологии. – 1996. – Т. 3, № 4. – С. 13–17.
12. Zlobin V.I., Mamayev L.V., Dzioyev Yu.P., Kozlova I.V. Genetic types of tick-borne encephalitis // Zhurnal infektsionnoy patologii. – 1996. – Vol. 3, N 4. – P. 13–17. (in Russian)
13. Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. – М.: Медицина, 1975. – 295 с.
14. Urbakh V.Yu. Statistical analysis in biological and medical study. – Moscow: Meditsina, 1975. – 295 p. (in Russian)
15. Brault A.C., Huang C.Y., Langevin S.A., Kinney R.M. et al. A single positively selected West Nile viral mutation confers increased virogenesis in American crows // Nat. Genet. – 2007. – Vol. 39 (9). – P. 1162–1166.
16. Demina T.V., Dzhioev Y.P., Verkhozina M.M., Kozlova I.V. et al. Genotyping and characterization of geographical distribution of tick-borne encephalitis virus variants a set of molecular probes // Journal of Medical Virology. – 2010. – Vol. 82, N 6. – P. 965–976.
17. Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberger U. et al. Virus Taxonomy. – Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. – San Diego, London: Elsevier Academic Press, 2005. – 1162 p.
18. Maier C.C., Delagrave S., Zhang Z.X., Brown N. et al. A single M protein mutation affects the acid inactivation threshold and growth kinetics of a chimeric flavivirus // Virology. – 2007 Jun. – Vol. 362 (2). – P. 468–474.
19. Mandl C.W., Heinz F.X., Stöckl E., Kunz C. Genome sequence of tick-borne encephalitis virus (Western subtype) and comparative analysis of nonstructural proteins with other flaviviruses // Virology. – 1989. – Vol. 173 (1). – P. 291–301.
20. Mandl C.W., Holzmann H., Meixner T., Rauscher S. et al. Spontaneous and engineered deletions in the 3' noncoding region of tick-borne encephalitis virus: construction of highly attenuated mutants of a flavivirus // J. Virol. – 1998. – Vol. 72 (3). – P. 2132–2140.
21. Mandl C.W. Steps of the tick-borne encephalitis virus replication cycle that affect neuropathogenesis // Virus Res. – 2005. – Vol. 111 (2). – P. 161–174.

15. McMinn P.C. The molecular basis of virulence of the encephalitogenic flaviviruses // J. Gen. Virol. – 1997. – Vol. 78 (Pt. 11). – P. 2711–2722.

16. Wicker J.A., Whiteman M.C., Beasley D.W., Davis C.T. et al. A single amino acid substitution in the central portion of the West Nile virus NS4B protein confers a

highly attenuated phenotype in mice // Virology. – 2006. – Vol. 349 (2). – P. 245–253.

17. Zagoruiko N.G., Borisova I.A., Dyubanov V.V., Kutnenko O.A. Methods of Recognition Based on the Function of Rival Similarity // Pattern Recognition and Image Analysis. – 2008. – Vol. 18, N 1. – P. 1–6.

Сведения об авторах

Загоруйко Николай Григорьевич – доктор технических наук, профессор, зав. отделом информатики Института математики им. С.Л. Соболева (630090, г. Новосибирск, просп. им. академика Коптюга, 4; тел.: 8 (3832) 33-32-91; e-mail: zag@math.nsc.ru)

Джиоев Юрий Павлович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории молекулярной вирусологии и биотехнологии НИИ биомедицинских технологий Иркутского государственного медицинского университета, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (e-mail: alanir07@mail.ru)

Козлова Ирина Валерьевна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (e-mail: diwerhoz@rambler.ru)

Ткачев Сергей Евгеньевич – научный сотрудник лаборатории микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (e-mail: sergey.e.tkachev@mail.ru)

Букин Юрий Сергеевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории геносистематики Лимнологического института СО РАН (e-mail: bukinyura@mail.ru)

Парамонов Алексей Игоревич – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (e-mail: paramonov_a.i@mail.ru)

Борисенко Андрей Юрьевич – аспирант лаборатории молекулярной вирусологии и биотехнологии НИИ биомедицинских технологий Иркутского государственного медицинского университета (e-mail: 89500720225@mail.ru)

Борисова Ирина Артемовна – кандидат технических наук, старший научный сотрудник Института математики им. С.Л. Соболева (e-mail: biamia@mail.ru)

Злобин Владимир Игоревич – академик РАН, директор НИИ биомедицинских технологий, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Иркутского государственного медицинского университета (e-mail: vizlobin@mail.ru)

Кутненко Ольга Андреевна – кандидат технических наук, старший научный сотрудник Института математики им. С.Л. Соболева (e-mail: olga@math.nsc.ru)

Information about the authors

Zagoruyko Nikolay Grigoryevich – Doctor of Technical Sciences, Professor, Head of the Department of Computer Science of Institute of Mathematics named after S.L. Sobolev (630090, Novosibirsk, prospekt akadem. Koptuyuga, 4; tel.: +7 (3832) 33-32-91; e-mail: zag@math.nsc.ru)

Dzhioev Yuri Pavlovich – Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer, Head of the Laboratory of Molecular Virology and Biotechnology of Research Institute of Biomedical Technologies of Irkutsk State Medical University, Senior Research Officer at the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic diagnostics of Scientific Center of Family Health Problems and Human Reproduction (e-mail: alanir07@mail.ru)

Kozlova Irina Valeryevna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic diagnostics of Scientific Center for Family Health Problems and Human Reproduction (e-mail: diwerhoz@rambler.ru)

Tkachev Sergey Yevgenyevich – Research Officer of the Laboratory of Microbiology of Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS (e-mail: sergey.e.tkachev@mail.ru)

Bukin Yuri Sergeyevich – Candidate of Biological Science, Senior Research Officer of the Laboratory of Molecular Genosystematics of Limnological Institute RAS (e-mail: bukinyura@mail.ru)

Paramonov Alexey Igorevich – Junior Research Officer of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic diagnostics of Scientific Center of Family Health Problems and Human Reproduction (e-mail: paramonov_a.i@mail.ru)

Borisenko Andrew Yuryevich – Postgraduate of the Laboratory of Molecular Virology and Biotechnology of Research Institute of Biomedical Technology of Irkutsk State Medical University (e-mail: 89500720225@mail.ru)

Borisova Irina Artemovna – Doctor of Technical Sciences, Senior Research Officer of S.L. Sobolev Institute of Mathematics SB RAS (e-mail: biamia@mail.ru)

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

Kutnenko Olga Andreevna – Doctor of Technical Sciences, Senior Research Officer of S.L. Sobolev Institute of Mathematics SB RAS (e-mail: olga@math.nsc.ru)

С.Е. Ткачев¹, И.В. Козлова^{2,3}, Ю.П. Джигоев^{2,3}, М.М. Верхозина⁴, Е.К. Дорошенко²,
О.В. Лисак², О.В. Сунцова², В.И. Злобин³, А.И. Парамонов², А.Ю. Тикунов¹, А.В. Ляпунов²,
Н.В. Тикунова¹, Д. Ружек^{5,6}

КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА ЕВРОПЕЙСКОГО ГЕНОТИПА, ВЫЯВЛЕННЫХ В СИБИРСКОМ РЕГИОНЕ

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск)

² Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека (Иркутск)

³ Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)

⁴ Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области (Иркутск)

⁵ Институт паразитологии биологического центра Академии наук Республики Чехия (Ческе-Будеевице,
Республика Чехия)

⁶ Научно-исследовательский институт ветеринарии (Брно, Республика Чехия)

При молекулярно-генетическом анализе 13 штаммов ВКЭ европейского генотипа, выделенных на территории Западной и Восточной Сибири, были выявлены две группы, отличающиеся генетически друг от друга и имеющие высокий уровень гомологии последовательностей гена E внутри каждой группы. Тем не менее, для ряда штаммов наблюдалась гетерогенность биологических свойств внутри одной группы.

Ключевые слова: вирус клещевого энцефалита, западный генотип, Западная Сибирь, Восточная Сибирь

BRIEF CHARACTERISTIC OF EUROPEAN GENOTYPE TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS STRAINS IDENTIFIED IN SIBERIAN REGION

S.E. Tkachev¹, I.V. Kozlova^{2,3}, Y.P. Dzhigoev^{2,3}, M.M. Verkhovina⁴, E.K. Doroschenko²,
O.V. Lisak², O.V. Suntsova², V.I. Zlobin³, A.I. Paramonov², A.Y. Tikunov¹, A.V. Lyapunov²,
N.V. Tikunova¹, D. Ruzek^{5,6}

¹ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk

² Scientific Center for Family Health Problems and Human Reproduction, Irkutsk

³ Irkutsk State Medical University, Irkutsk

⁴ Center for Hygiene and Epidemiology in Irkutsk region, Irkutsk

⁵ Institute of Parasitology of Biological Center of Czech Republic Academy of Sciences, Ceske
Budejovice, Czech Republic

⁶ Institute of Veterinary, Brno, Czech Republic

The molecular-genetic analysis of 13 strains of Western genotype TBEV isolated in Western and Eastern Siberia demonstrated two groups of strains differed genetically from each other and had a high level of E gene sequences homology within each group. Nevertheless, the heterogeneity of biological properties for some strains within a group was observed.

Key words: tick-borne encephalitis virus, gene E genotype Western, Western Siberia, Eastern Siberia

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время выделяют три основных генотипа вируса клещевого энцефалита (ВКЭ): 1) дальневосточный, 2) европейский (или западный), 3) сибирский [8], а также показано, что в Байкальском регионе циркулируют представители еще двух предполагаемых генотипов, прототипами которых являются штаммы 886-84 и 178-79 [1, 2, 3, 4, 7]. Каждый из генотипов вируса обладает собственным ареалом, в пределах которого отмечается его доминирование. Тем не менее, было обнаружено, что ВКЭ европейского генотипа имеет обширнейший ареал – от Европы до Азии. Так, по всей видимости, восточной границей распространения данного генотипа является Южная Корея [9, 13, 14]. Однако высокая миграционная активность населения разных стран также становится одним из возможных путей распространения ВКЭ и в другие регионы мира, не эндемичные для этого вируса [6]. На территории России крайней восточной границей ареала этого генотипа является территория Восточной Сибири (Иркутская область) [4, 5, 7].

С помощью методов молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот и секвенирования фрагментов генома ВКЭ на территории Сибири было выявлено 13 штаммов европейского генотипа. Пять из них были изолированы на территории Западной Сибири (Алтайский край), восемь – на территории Восточной Сибири (Иркутская область) [5, 7].

Целью данной работы являлось сравнение генетических и биологических характеристик штаммов вируса клещевого энцефалита европейского генотипа, выявленных на территории Западной и Восточной Сибири.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали 13 штаммов из коллекции ФГБУ «НЦ ПЗСРЧ» СО РАМН, г. Иркутск, выделенных на территории Западной (5 штаммов) и Восточной Сибири (8 штаммов).

Образцы суммарных нуклеиновых кислот, выделенных из суспензий мозга зараженных ВКЭ белых мышей наборами «РИБО-преп» («Ампли-прайм, Мо-

Таблица 1

Характеристика исследуемых штаммов ВКЭ

Штамм	Год изоляции	Источник изоляции	Место сбора материала
Восточная Сибирь			
118-71	1971	Длиннохвостый суслик (<i>Spermophilus undulatus</i>)	Иркутская область
126-71	1971	<i>I. persulcatus</i>	Иркутская область
134-71	1971	Длиннохвостый суслик (<i>Spermophilus undulatus</i>)	Иркутская область
163-74	1974	<i>I. persulcatus</i>	Иркутская область
262-74	1974	<i>I. persulcatus</i>	Иркутская область
272-75	1975	Узкочерепная полевка (<i>Microtus gregalis</i>)	Иркутская область
898-84	1984	Красная полевка (<i>Myodes rutilus</i>)	Иркутская область
1G-98	1998	Кровь человека	Иркутская область
Западная Сибирь			
Змеиногорск-1	1986	<i>I. persulcatus</i>	Алтайский край
Змеиногорск-3	1986	<i>I. persulcatus</i>	Алтайский край
Змеиногорск-5	1986	<i>I. persulcatus</i>	Алтайский край
Змеиногорск-7	1986	<i>I. persulcatus</i>	Алтайский край
Змеиногорск-9	1986	<i>I. persulcatus</i>	Алтайский край

сква) использовали для получения кДНК наборами «РевертаL» («Ампли-Сенс», ЦНИИ Эпидемиологии МЗ РФ). ПЦР проводили с праймерами, соответствующими последовательности гена E ВКЭ западного генотипа. Определение последовательностей полученных продуктов ПЦР проводили с помощью наборов BigDye Terminators Cycle Sequencing Kit v.3.1 (Applied Biosystems, США) с применением автоматического анализатора ДНК модели ABI 3500 (Applied Biosystems, США). Молекулярно-генетический анализ последовательностей осуществляли с использованием программ BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>) и MEGA 5 [11].

Нейровирусность штаммов оценивали путем интрацеребрального титрования вирусосодержащей суспензии. При титровании на животных титры вируса определяли по методу Рида и Менча [10] и выражали в lg ЛД₅₀/мл. Для оценки титров вируса при подкожном введении мышей заражали экстра-неврално. Индекс инвазивности (ИИ) оценивали как разницу титров вируса при церебральном и подкожном заражении мышей, выраженную в lg ЛД₅₀/мл. Значение ИИ в пределах 1–2,5 свидетельствовало о высоких инвазивных свойствах штамма, способности преодолевать гематоэнцефалический барьер, достигать центральную нервную систему и размножаться в ней. Значение ИИ ≥ 3 соответствовало сниженной инвазивной активности штамма.

Для определения способности штаммов ВКЭ к репродукции при супраоптимальной температуре (rct42) использовали метод титрования вируса на культуре клеток почки эмбриона свиньи (СПЭВ), инкубированных при 37 °C или 42 °C, на 6 день после заражения. Определение lg ТЦД₅₀/мл проводили по методу Рида и Менча [10]. Rct42-признак определяли по разнице титров вируса при 37 °C и 42 °C; высокое

значение признака (+) соответствовало разнице титров вируса ≤ 2,0 lg; среднее значение (±) – от 2,1 до 3,0 lg; (–), соответственно, при ≥ 3,1 lg.

Изучение бляшкообразующей активности (S-признак) проводили путем заражения клеток СПЭВ штаммами ВКЭ, прошедшими не более четырех пассажей через мозг белых мышей. После трехкратного клонирования в культуре клеток СПЭВ наблюдалась деструкция клеток. Бляшки появлялись на 3–4-е сутки, учет проводили на 5-е сутки после заражения, когда бляшки увеличивались в размере и становились более отчетливыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ расшифрованных последовательностей гена E показал, что исследуемые штаммы ВКЭ разделяются на две группы, соответствующие ареалам их выделения, при этом внутри каждой из групп наблюдался высокий уровень гомологии последовательностей гена E (> 99 %). При построении филогенетического древа было также показано, что штаммы, выделенные на территории Западной и Восточной Сибири, формируют отдельные кластеры.

Группа штаммов из Западной Сибири показала высокий уровень гомологии (99 %) со штаммами Абсеттаров [GenBank KJ000002.1] (выделен в Карелии в 1951 г.), Kumlinge A52 [GU183380] (Финляндия, 1952), Kumlinge 25-03 [GU183379] (Финляндия, 2003), Est3476 [GU183383] (Эстония, 2000), Joutseno [GU183381] (Финляндия, 1960). Группа, содержащая штаммы из Восточной Сибири, демонстрировала высокий уровень гомологии (99 %) со штаммом 84.2 [HM120875], выделенным ранее на территории Алтая (Западная Сибирь), и 98 % гомологии с другими 17 штаммами ВКЭ, выделенными на территории Финляндии, Эстонии и других стран Европы.

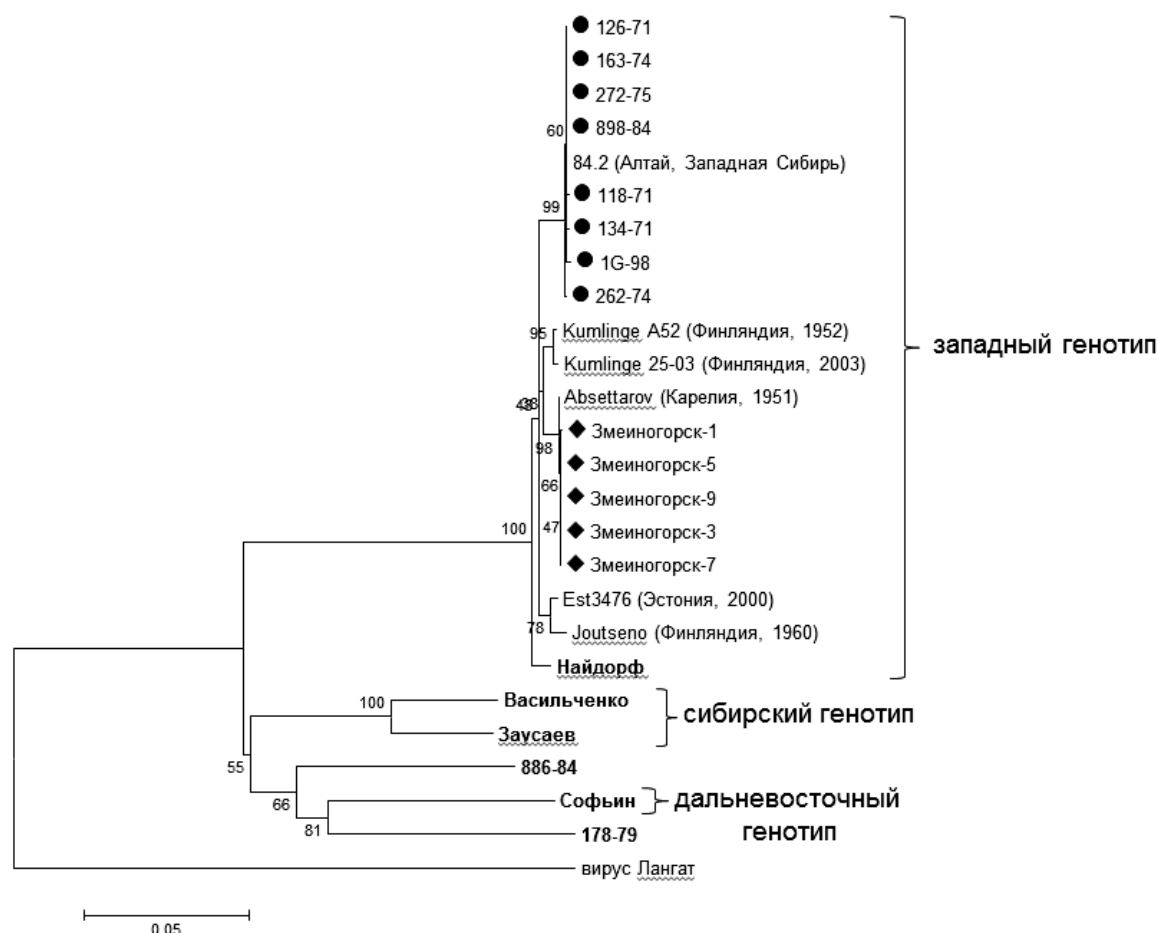


Рис. 1. Филогенетическое древо, построенное методом максимального правдоподобия (maximum likelihood) на основании последовательности гена Е ВКЭ. Жирным выделены прототипные штаммы разных генотипов; ● – штаммы, выделенные в Восточной Сибири; ◆ – штаммы, выделенные в Западной Сибири.

Была проведена оценка некоторых фенотипических свойств штаммов европейского генотипа ВКЭ, выявленных на территории Восточной Сибири. Штаммы 1G-98 и 898-84 обладали высокой церебральной и периферической активностью. Так, титры вируса при интрацеребральном заражении составили 8,72 и 9,32 lg ЛД₅₀/мл, а при подкожном – 6,35 и 6,9 lg ЛД₅₀/мл, что равнялось разнице 2,37 и 2,42 lg ЛД₅₀/мл, соответственно. Поэтому эти штаммы обладали хорошими инвазивными свойствами, что свидетельствует об их способности преодолевать гематоэнцефалический барьер. При заражении молодых белых мышей штаммами ВКЭ европейского генотипа в среднем процент летальности составил 95,9 %, средняя продолжительность жизни – 5,5 дней. Определение размера бляшек в культуре клеток СПЭВ показало гетерогенность изученных штаммов по данному маркеру. Штаммы 134-71 и 272-75 формировали мелкие и среднего размера (d = 1,5–2,0 мм) бляшки, в то время как штаммы 118-71 и 898-84 формировали крупные бляшки (d = 3,5–5,0 мм). Для пяти штаммов были определены генетические маркеры rct₃₇ и rct₄₂. Четыре из изученных штаммов хорошо размножались на культуре клеток СПЭВ как при температуре 37 °С, так при 42 °С, что свидетельствует об их хороших адаптивных способностях.

На сегодняшний день в базе данных GenBank депонированы нуклеотидные последовательности гена Е 181 штамма (или изолятов РНК) ВКЭ европейского генотипа, выделенных на территории 18 европейских стран, а также Южной Кореи. В нашей работе мы впервые определили последовательности гена Е 13 штаммов ВКЭ европейского генотипа, выделенных в Западной и Восточной Сибири, с последующим молекулярно-генетическим анализом.

Были выявлены две группы штаммов, кластеризующихся по месту выделения, причем внутри каждой из групп наблюдался высокий уровень гомологии (>99 %) нуклеотидных последовательностей, что, вероятно, свидетельствует о крайне высокой консервативности последовательности гена Е у ВКЭ европейского генотипа вне зависимости от источника выделения (клещи, мелкие млекопитающие, кровь человека). Полученные результаты хорошо согласуются с литературными данными. Так, при анализе последовательностей геномов штаммов ВКЭ, выделенных в Центральной Европе, была показана стабильность генома европейского генотипа [12]. Также, при сравнительном анализе кодирующей части полногеномных последовательностей ВКЭ из GenBank, было обнаружено, что штаммы европейского генотипа, по сравнению с представителями

дальневосточного и сибирского генотипов, характеризуются наиболее высокими уровнями гомологии как нуклеотидных, так и аминокислотных последовательностей внутри одного генотипа, т.е. наименьшим уровнем различий [2, 7, 14]. Более того, следует отметить, что представители каждой из выявленных групп исследуемых штаммов ВКЭ с территорий Западной или Восточной Сибири обладали высокой степенью гомологии со штаммами, выделенными на территории Западной Европы, что также может служить доказательством высокой консервативности последовательности гена Е.

ВКЭ европейского генотипа имеет обширный ареал и циркулирует в экосистемах, значительно различающихся, в том числе, и основными переносчиками и резервуарными хозяевами. Основным переносчиком европейского генотипа ВКЭ считались клещи *I. ricinus*, но, по всей видимости, в Азиатской части России его переносчиком может служить и *I. persulcatus*. Ранее, на территории Европы ВКЭ европейского генотипа был изолирован из *Myodes glareolus*, *Apodemus sylvaticus*, *Sciurus vulgaris*, а на территории Южной Кореи выделен из *Apodemus agrarius*. В нашей работе, на территории Восточной Сибири штаммы ВКЭ европейского генотипа были впервые изолированы из *Spermophilus undulatus*, *Microtus gregalis* и *Myodes rutilus*.

Тем не менее, несмотря на высокий уровень гомологии последовательностей гена Е, наблюдается гетерогенность биологических свойств для ряда штаммов даже внутри одной группы, которые, вероятно, связаны с различиями в других областях генома. В связи с этим, большой научный интерес представляет сравнительный анализ генетических и биологических свойств штаммов ВКЭ европейского субтипа, изолированных в удаленных друг от друга точках ареала, существенно отличающихся биоцено-тической структурой природных очагов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда №14-15-00615.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Демина Т.В., Джиоев Ю.П., Козлова И.В., Верхозина М.М. и др. Генотипы 4 и 5 вируса клещевого энцефалита: особенности структуры геномов возможный сценарий их формирования // Вопросы вирусологии. – 2012. – № 4. – С. 13–19.
2. Demina T.V., Dzhioev Yu.P., Kozlova I.V., Verkhozina M.M. et al. Genotypes 4 and 5 of encephalitis virus: structural features of genomes and possible scenario of their formation // Voprosi Virusologii. – 2012. – N 4. – P. 13–19. (in Russian)
3. Злобин В.И., Шаманин В.А., Дрокин Д.А., Джиоев Ю.П., и др. Географическое распространение генетических вариантов вируса клещевого энцефалита // Вопросы вирусологии. – 1992. – № 5–6. – С. 252–256.
4. Zlobin V.I., Shamanin V.A., Drokin D.A., Dzhioev Yu.P. et al. Geographic distribution of genetic variants of tick-borne encephalitis virus // Voprosi Virusologii. – 1992. – N 5–6. – P. 252–256. (in Russian)

5. Злобин В.И., Мамаев Л.В., Джиоев Ю.П., Козлова И.В. Генетические типы вируса клещевого энцефалита // Журнал инфекционной патологии. – 1996. – Т. 3, № 4. – С. 13–17.
6. Zlobin V.I., Mamaev L.V., Dzhioev Yu.P., Kozlova I.V. Genetic types of tick-borne encephalitis virus // Zhurnal Infektsionnoy Patologii. – 1996. – Vol. 3, N 4. – P. 13–17. (in Russian)
7. Козлова И.В., Верхозина М.М., Дорощенко Е.К., Лисак О.В., и др. Результаты генотипирования штаммов и изолятов РНК вируса клещевого энцефалита, выделенных от больных людей в Иркутской области и Республики Бурятия // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 5, Ч. 1. – С. 231–235.
8. Kozlova I.V., Verkhozina M.M., Doroshchenko E.K., Lisak O. et al. Results of genotyping strains and isolates of encephalitis virus RNA isolated from human patients in Irkutsk region and Republic of Buryatia // Bull. VSNC SO RAMN. – 2012. – № 5, Part 1. – P. 231–235. (in Russian)
9. Козлова И.В., Дорощенко Е.К., Лисак О.В., Джиоев Ю.П. и др. Видовое и генетическое разнообразие возбудителей клещевых инфекций на территории Восточной Сибири // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 2, Ч. 2. – С. 75–83.
10. Kozlova I.V., Doroshchenko E.K., Lisak O.V., Dzhioev Yu.P. et al. Species and genetic diversity of pathogens tick-borne infections in Eastern Siberia // Bull. VSNC SO RAMN. – 2012. – N 2, Part 2. – P. 75–83. (in Russian)
11. Chaudhuri A.I., Růžek D. First documented case of imported tick-borne encephalitis in Australia // Intern. Med. J. – 2013. – Vol. 43 (1). – P. 93–96.
12. Demina T.V., Dzhioev Yu.P., Verkhozina M.M., Kozlova I.V. et al. Genotyping and characterization of the geographical distribution of tick-borne encephalitis virus variants with a set of molecular probes // Journal of Medical Virology. – 2010. – Vol. 82. – P. 965–976.
13. Ecker M., Allison S.L., Meixner T., Heinz F.X. Sequence analysis and genetic classification of TBEV from Europe and Asia // J. Gen. Virol. – 1999. – Vol. 80. – P. 179–185.
14. Kim S.Y., Yun S.M., Han M.G., Lee I.Y. et al. Isolation of tick-borne encephalitis viruses from wild rodents, South Korea // Vector Borne Zoonotic Dis. – 2008. – Vol. 8, N 1. – P. 7–13.
15. Reed L., Muench H.A. A simple method of estimating fifty per cent endpoints // Am. J. Hyg. – 1938. – N 27. – P. 493–497.
16. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G. et al. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. Molecular Biology and Evolution // Mol. Biol. Evol. – 2011. – Vol. 28, N 10. – P. 2731–2739.
17. Weidmann M., Frey S., Freire C.C., Essbauer S. et al. Molecular phylogeography of tick-borne encephalitis virus in central Europe // J. Gen. Virol. – 2013. – Vol. 94. – P. 2129–2139.
18. Yun S.M., Kim S.Y., Han M.G. et al. Analysis of the envelope (E) protein gene of tick-borne encephalitis viruses isolated in South Korea // Vector Borne Zoonotic Dis. – 2009. – Vol. 9, N 3. – P. 287–293.

14. Yun S.M., Song B.G., Choi W., Park W.I. et al. Prevalence of tick-borne encephalitis virus in ixodid ticks

collected from the republic of Korea during 2011–2012 // Osong Public Health Res. Perspect. – 2012 Dec. – Vol. 3 (4). – P. 213–221.

Сведения об авторах

Ткачев Сергей Евгеньевич – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (630090, г. Новосибирск, проспект Лаврентьева, 8; тел.: 8 (383) 363-51-37; e-mail: tkachev@niboch.nsc.ru)

Козлова Ирина Валерьевна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Иркутского государственного медицинского университета (e-mail: diwerhoz@rambler.ru)

Джиоев Юрий Павлович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории научно-исследовательского института биомедицинских технологий Иркутского государственного медицинского университета Минздрава России, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (e-mail: alanir07@mail.ru)

Верхозина Марина Михайловна – кандидат биологических наук, биолог микробиологической лаборатории вирусологического отделения ПЦР-лаборатории Центра гигиены и эпидемиологии в Иркутской области (e-mail: diwerhoz@rambler.ru)

Дорощенко Елена Константиновна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (e-mail: doroshchenko-virus@mail.ru)

Лисак Оксана Васильевна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (e-mail: lisak.liza@rambler.ru)

Сунцова Ольга Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (e-mail: olga_syntsova@list.ru)

Злобин Владимир Игоревич – академик РАН, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Минздрава России, директор Научно-исследовательского института биомедицинских технологий Иркутского государственного медицинского университета (e-mail: vizlobin@mail.ru)

Парамонов Алексей Игоревич – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (e-mail: paramonov_a.i@mail.ru)

Тикунов Артем Юрьевич – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

Ляпунов Александр Валерьевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (e-mail: liapunov.asp@mail.ru)

Тикунова Нина Викторовна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией молекулярной микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

Ружек Даниел – доктор медицины Института ветеринарии (CZ-63100, Республика Чехия, г. Брно, ул. Худкова, 70), Института паразитологии Биологического центра академии наук Республики Чехия (CZ-37005, ул. Бранисовска, 31; e-mail: ruzekd@paru.cas.cz)

Information about the authors

Tkachev Sergey Evgenievich – Junior Research Officer, Laboratory of Molecular Microbiology, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk (630090, prospekt Lavrentieva, 8; tel.: (383) 363-51-37; e-mail: tkachev@niboch.nsc.ru)

Kozlova Irina Valerievna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnosis of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: diwerhoz@rambler.ru)

Dzhioev Yuriy Pavlovich – Candidate of Biological Sciences, Leading Research Officer, Head of the Laboratory of Molecular Virology and Biotechnology of Institute of Biomedical Technologies of Irkutsk State Medical University, Senior Research Officer of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnosis of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: alanir07@mail.ru)

Verkhovzina Marina Mihailovna – Candidate of Biological Sciences, Biologist of Microbiology Laboratory of Virology Department of the PCR Laboratory of the Center for Hygiene and Epidemiology in Irkutsk Region (e-mail: diwerhoz@rambler.ru)

Doroshchenko Elena Konstantinovna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

Lisak Oksana Vasilyevna – Junior Research Officer of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

Suntsova Olga Vladimirovna – Candidate of Biological Sciences of Research Officer of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

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

Paramonov Alexey Igorevich – Junior Research Officer, Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: paramonov_a.i@mail.ru)

Tikunov Artyom Yuryevich – Candidate of Biological Sciences, Junior Research Officer, Laboratory of Molecular Microbiology Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS

Lyapunov Alexander Valeryevich – Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer, Laboratory of Transmissible Infections of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: liapunov.asp@mail.ru)

Tikunova Nina Viktorovna – Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Molecular Microbiology of Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS

Ruzek Daniel – M.D., Institute of Veterinary Medicine (CZ-63100, Czech Republic, Brno, Hudkova str., 70), Institute of Parasitology, Biology Centre of the Academy of Sciences of the Czech Republic (CZ-37005, Branisovska str., 31; e-mail: ruzekd@paru.cas.cz)

О.О. Федулina ¹, О.В. Сунцова ¹, В.А. Рар ², И.В. Мельцов ³, И.В. Козлова ¹, О.В. Лисак ¹,
В.В. Чекушкина ⁴

ВЫЯВЛЕНИЕ *THEILERIA EQUI* В КРОВИ ЛОШАДЕЙ НА ТЕРРИТОРИИ ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ

¹ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека (Иркутск)

² Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск)

³ Иркутская государственная сельскохозяйственная академия (Иркутск)

⁴ ЗАО «Иркут» (Иркутск)

Работа посвящена выявлению в крови лошадей ДНК представителей отряда Piroplasmida. Проведено исследование 166 проб крови лошадей из пяти районов Иркутской области. Отмечена высокая инфицированность лошадей пироплазмидами (69 %). У шести положительных образцов определены нуклеотидные последовательности. Сравнение определенных нуклеотидных последовательностей гена 18S рРНК с ранее опубликованными показало, что все обнаруженные образцы ДНК пироплазм относятся к *Theileria equi*. Приведены данные о случае падежа лошадей от пироплазмоза, зафиксированного в Иркутской области в 2008 г.

Ключевые слова: тейлерии, тейлериоз, лошадиный пироплазмоз, иксодовые клещи

IDENTIFICATION OF *THEILERIA EQUI* IN HORSE BLOOD IN THE IRKUTSK REGION

О.О. Fedulina ¹, О.В. Suntsova ¹, V.A. Rar ², I.V. Meltsov ³, I.V. Kozlova ¹, O.V. Lisak ¹,
V.V. Chekushkina ⁴

¹ Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk

² Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk

³ Irkutsk State Agricultural Academy, Irkutsk

⁴ ZAO Irkut, Irkutsk

This paper describes the detection of Piroplasmida DNA in the blood of horses. 166 blood samples of horses from five districts of the Irkutsk region were studied. The high piroplasms infection rate in horses (69 %) was found. For six positive samples nucleotide sequences were determined. The comparison of determined 18S rRNA gene sequences with previously published sequences showed that all revealed piroplasms DNA samples are *Theileria equi*. The data are presented on the lethal cases of equine piroplasmosis in the Irkutsk region in 2008.

Key words: *Theileria*, theileriosis, equine piroplasmosis, ixodid ticks

Иксодовые клещи могут быть переносчиками не только возбудителей вирусных и бактериальных инфекций, но и простейших гемопаразитов из отряда Piroplasmida, тип Споровики (Apicomplexa). В состав отряда Piroplasmida входят представители двух семейств – Babesiidae и Theileriidae, состоящие из родов *Babesia*, *Theileria* и *Cytauxzoon*. Бабезии являются паразитами как беспозвоночных, так и позвоночных хозяев. Этиологическим агентом бабезиоза человека в США чаще всего является *Babesia microti*, а в Европе – *B. divergens*/*B. venatorum*.

Тейлериоз – заболевание животных, которое вызывается гемопаразитами рода *Theileria*. Тейлериоз являются облигатными внутриклеточными паразитами, принадлежат к семейству Theileriidae.

Theileria annulata и *T. parva* являются этиологическими агентами тейлериоза крупного рогатого скота, *T. equi* – вызывает заболевания у лошадей, мулов, ослов и зебр.

В настоящее время *T. equi* считается угрозой для конной индустрии во всем мире [4, 5, 14]. *T. equi* встречается в Южной Европе, Азии, странах СНГ, Африке, Кубе, Южной и Центральной Америке, США, Австралии [3, 13]. Наличие антител к данному возбудителю обнаружено у лошадей в Саудовской Аравии, Иордании, Мексике, Бразилии, Нидерландах,

Венесуэле, Египте и в Республике Корея [9]. С помощью ПЦР *T. equi* выявлена в Израиле [12], Северо-Восточной Монголии [11] и в Польше [2]. Однако на территории России этот возбудитель остается недостаточно изученным.

Как и все пироплазмиды, *T. equi* является паразитом как беспозвоночных, так и позвоночных хозяев. Ее жизненный цикл достаточно сложен, он включает чередование бесполого размножения (шизогонии), полового процесса и спорогонии. Половое развитие *T. equi* протекает в слюнных железах нимф и имаго клещей и завершается формированием спорозоитов. Со слюной клещей на 1–5-й день их питания в лимфу и кровь животных инокулируются спорозоиты размером от 1 до 2–3 мкм. В организме животного паразиты внедряются в лимфоидные клетки, растут в них и размножаются путем шизогонии. Сначала в результате последовательного деления ядер образуются макрошизонты, а затем при множественном почковании – микрошизонты. Сформированные в микрошизонтах мерозоиты внедряются в эритроциты животных и превращаются в трофозоиты, которые растут и размножаются путем простого деления, образуя грушеподобные тетрады («Мальтийский крест») [3]. В эритроцитарной фазе *T. equi* заглатывается личинками и нимфами клещей с кровью больных

или переболевших животных – тейлерионосителей, и цикл развития в клещах повторяется. Трансовариальная передача у *T. equi* отсутствует [3].

Основными переносчиками *T. equi* являются клещи семейства Ixodidae (*Dermacentor*, *Rhipicephalus*, *Hyalomma*) [3]. Передача возбудителя также возможна через механические векторы, например, через загрязненные инфицированной кровью иглы [3].

Инкубационный период при пироплазмозе лошадей, ассоциированном с *T. equi* составляет от 12 до 19 дней. Клинические симптомы тейлериоза неспецифичны и его можно спутать с другими заболеваниями, протекающими с лихорадкой, анемией и желтухой.

Заболевание может протекать в острой, подострой и хронической формах [3]. Острая форма характеризуется лихорадкой до 40 °С, потерей аппетита, недомоганием, учащенным дыханием и пульсом, отеком слизистых оболочек, появлением темно-красной мочи, желтухой и анемией. Подострая форма подобна острой форме, но сопровождается потерей веса пораженных животных и перемежающейся лихорадкой. Цвет слизистых оболочек варьирует от бледно-розового до розового, или от бледно-желтого до ярко-желтого, на них могут появляться петехии. При хронической инфекции, как правило, присутствуют неспецифические клинические признаки, такие как снижение аппетита, массы тела. Отмечается бледность или иктеричность слизистых оболочек, кровь становится водянистой. При вскрытии трупа: печень раздутая оранжево-коричневой или бледной окраски; селезенка увеличена, рыхлая, темная с кровоизлияниями; почки бледнее или темнее чем обычно, с точечными кровоизлияниями; на ткани сердца могут быть субэпикардальные и субэндокардиальные кровоизлияния.

Смертность лошадей при данной инфекции варьирует от 10 до 50 % [3]. Однако в эндемичных областях большинство лошадей, перенесших тейлериоз, выживают.

В Иркутской области в 2008 г. в Усть-Удинском районе были зафиксированы случаи падежа лошадей. Для установления этиологии эпизоотии в район выехали специалисты противоэпизоотического отдела Службы ветеринарии. При осмотре трупа 2-годовалого мерина видимые слизистые оболочки были желтого цвета, при вскрытии – вся подкожная клетчатка, селезенка, почки, сердце с кровоизлияниями, печень глинистого цвета. В результате осмотра ветеринарными врачами в табунах были выявлены еще две кобылы с признаками инфекции. При осмотре заболевших животных: слизистые оболочки желтого цвета, дыхание затруднено, температура тела 40 °С, из половых органов выделение кровавистой мочи. Из крови и капилляров уха были приготовлены мазки, которые затем окрашены по Романовскому-Гимзе. При просмотре мазков под иммерсионным увеличением микроскопа выявлены пироплазмиды грушевидной формы. Для лечения и профилактики пироплазмоза всем лошадям табуна однократно был введен препарат «Верибен». От повторного введения препарата владелец табуна

отказался. Через 40 дней падеж в табуне повторился. Через неделю заболело еще две кобылы. При исследовании мазков крови от данных животных выявлено наличие пироплазмид.

В связи с отсутствием на вооружении ветеринарной службы Иркутской области методов видовой идентификации пироплазмид, более детальная этиологическая расшифровка эпизоотии не проводилась.

Приведенный случай является свидетельством в пользу актуальности проведения на территории Иркутской области исследований, направленных на выявление инфицированности лошадей представителями отряда Piroplasmida.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На наличие ДНК тейлерий было исследовано 166 образцов крови лошадей из шести районов Иркутской области.

Кровь животных по 1 мл отбирали в стандартные пробирки (erpendorf 1,5 мл) с добавлением 100 мкл 0,5М ЭДТА.

Суммарные нуклеиновые кислоты экстрагировали из образцов с помощью набора «Рибо-преп» («Амплипрайм», Москва). ДНК тейлерий выявляли методом двухраундовой ПЦР в присутствии родоспецифичных праймеров из области гена 18S рРНК, как описано в [8]. У шести положительных образцов были определены нуклеотидные последовательности гена 18S рРНК длиной 300 н.о. Сравнение нуклеотидных последовательностей с ранее опубликованными проведено с использованием программы BLASTN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>), анализ полученных последовательностей выполнен методом ClustalW (<http://www.ebi.ac.uk/clustal/index.html>).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Нами проведено исследование 166 проб крови лошадей из Эхирит-Булагатского, Осинского, Баяндаевского, Боханского, Усть-Удинского и Иркутского районов Иркутской области.

Боханский, Осинский, Баяндаевский и Эхирит-Булагатский районы входят в состав Усть-Ордынского Бурятского округа (УОБО), расположенного на юге Иркутской области. По физико-географическому районированию территория УОБО относится к Иркутско-Черемховской провинции и области островной лесостепи Средне-Сибирской страны, характеризуется умеренно теплым и недостаточно влажным климатом.

На территории Эхирит-Булагатского района встречаются клещи *I. persulcatus*, *D. silvarum*, *D. nuttalli* и *H. concinna*. Фауна характеризуется своеобразным набором биоценологических группировок, свойственных таежному, подтаежному, лесостепному и степному ландшафтам.

Для Осинского, Боханского и Баяндаевского районов наиболее характерными типами населения иксодовых клещей являются – лесостепной и степной. Для обоих типов характерно доминирующее положение клеща *D. nuttalli* и приуроченность к территории, максимально освоенным сельским хозяйством.

Численность клещей, как правило, низкая. Но на участках, используемых под выпас скота и заселенных длиннохвостым сусликом, а также вокруг населенных пунктов обилие клещей резко возрастает.

Агроклиматические условия Усть-Ордынского Бурятского округа благоприятны для сельскохозяйственного производства, в том числе для развития коневодства.

Нами было обследовано 20 проб крови лошадей из Эхирит-Булагатского района. ДНК представителей отряда *Piroplasmida* была выявлена в одной пробе (5 %).

На территории Боханского, Осинского и Баяндаевского районов инфицированность лошадей пироплазмами была очень высокой и составила 45 %, 90 % и 95 % соответственно.

Наибольший интерес для исследования представлял Усть-Удинский район, где ранее были зафиксированы случаи падежа лошадей от пироплазмоза. Район расположен в Среднем Приангарье, на правом берегу Ангары и Братского водохранилища, в верхнем течении Илима.

Доминирующим видом на данной территории являются клещи *I. persulcatus*, а их прокормителями – представители таежных фаунистических группировок. В лесостепных участках района к ним присоединяется *D. silvarum* и степные виды животных.

Было исследовано 60 проб крови лошадей из Усть-Удинского района. В 51 (85 %) из них обнаружена ДНК представителей отряда *Piroplasmida*.

В данную работу также были включены 26 проб крови лошадей, содержащихся на одном из ипподромов Иркутского района. Инфицированность лошадей представителями отряда *Piroplasmida* здесь была высокой – 61,5 %. У шести положительных образцов были определены нуклеотидные последовательности гена 18S рРНК длиной 300 н.о. Результаты секвенирования показали, что все исследованные образцы были одинаковыми и полностью идентичными последовательностям *T. equi*, обнаруженным ранее в крови лошадей из Швейцарии [№ доступа GenBank - KM 046921], Венгрии [KM 046921] и др.

На территории Иркутской области отмечается высокая инфицированность лошадей пироплазмами (69 %) в сравнении с другими странами. Так, например, в Иордании зараженность жеребцов и кобыл *T. equi* и *B. caballi* составила 37 и 23,5 %, соответственно [7]. Инфицированность мулов была более высокой – в среднем 75 % [7]. В Египте *T. equi* выявлена у 41,61 % исследованных лошадей [9]. Для получения более объективных данных об инфицированности лошадей пироплазмами на территории Иркутской области необходимо проведение мониторинга на постоянной основе с использованием более репрезентативной выборки. Остается нерешенным вопрос о переносчиках *T. equi* на территории Иркутской области. Проведенные нами ранее рекогносцировочные исследования позволили выявить в иксовых клещах несколько видов представителей отряда *Piroplasmida* – *Babesia microti* US-type, *B. venatorum*, а также пироплазм, филогенетически схожих

с *B. crassa* и *B. motasi* [1]. ДНК *T. equi* в клещах на настоящий момент не выявлена.

Отсутствие симптомов инфекции у большинства обследованных лошадей, по всей видимости, свидетельствует о наличии у них низкого уровня паразитемии. Однако инфицированные *T. equi* носители могут служить резервуарами инфекции, способствующими дальнейшему распространению этого паразита на территории Иркутской области.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ проекта №14-04-32375 мол_а.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Федулина О.О., Рар В.А., Сунцова О.В., Козлова И.В. Результаты рекогносцировочных исследований по обнаружению очагов babesиоза на территории Иркутской области // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН, 2013. – № 2–2 (90). – P. 130–133.
2. Fedulina O.O., Rar V.A., Suntsova O.V., Kozlova I.V. Results of reconnaissance studies on detection of babesiosis foci the Irkusk region // Bull. VSNC SO RAMN. – 2013. – N 2–2 (90). – P. 130–133. (in Russian)
3. Adaszek L., Gorna M., Krzysiak M., Garbal M., Winiarczyk S. Identification of the piroplasms isolated from horses with clinical piroplasmosis in Poland // Wiad. Parazytol. – 2011. – Vol. 57 (1). – P. 21–26.
4. Equine piroplasmosis. – <http://www.cfsph.iastate.edu>.
5. Hall C.M., Busch J.D., Scoles G.A., Palma-Cagle K.A., Ueti M.W., Kappmeyer L.S., Wagner D.M. Genetic characterization of *Theileria equi* infecting horses in North America: evidence for a limited source of U.S. introduction // Parasites & Vectors. – 2013. – Vol. 6. – P. 35.
6. Knowles D.P. Jr., Kappmeyer L.S., Stiller D., Hengnager S.G., Perryman L.E. Antibody to a recombinant merozoite protein epitope identifies horses infected with *Babesia equi* // J. Clin. Microbiol. – 1992. – N 30. – P. 3122–3126.
7. Lazarev V.V. Piroplasmoses of ruminant animals // Veterinary of the Kuban. – 2008. – N 2. – P. 29–31.
8. Qablan M.A., Obornik M., Petrzelkova K.J., Sloboda M., Shudiefat M.F., Horin P., Lukes J., Modry D. Infections by *Babesia caballi* and *Theileria equi* in Jordanian equids: epidemiology and genetic diversity // Parasitology, Cambridge University Press. – 2013. – P. 1–8.
9. Rar V.A., Epikhina T.I., Livanova N.N., Panov V.V. Genetic diversity of *Babesia* in *Ixodes persulcatus* and small mammals from North Ural and West Siberia, Russia // Parasitology. – 2011. – Vol. 138. – P. 175–182.
10. Salib F.A., Youssef R.R., Said S.F. Epidemiology, diagnosis and therapy of *Theileria equi* infection in Giza, Egypt // Vet. World. – 2013. – Vol. 6 (2). – P. 76–82.
11. Seo M.G., Yun S.H., Choi S.K., Cho G.J., Park Y.S., Kwon O.D., Cho K.H., Kim T.H., Jeong K.S., Park S.J., Kwon Y.S., Kwak D. Seroprevalence of equine piroplasms in the Republic of Korea // Vet. Parasitol. – 2012. – Vol. 179 (1–3). – P. 224–226.
12. Sloboda M., Jirku M., Lukesova D., Qablan M., Bat-sukh Z., Fiala I., Horin P., Modry D., Lukes J. A survey for piroplasmids in horses and Bactrian camels in North-East-

ern Mongolia // Vet. Parasitol. – 2011. – Vol. 179 (1–3). – P. 246–249.

12. Steinman A., Zimmerman T., Klement E., Lensky I.M., Berlin D., Gottlieb Y., Baneth G. Demographic and environmental risk factors for infection by *Theileria equi* in 590 horses in Israel // Vet. Parasitol. – 2012. – Vol. 187 (304). – P. 558–562.

13. Stiller D., Goff W.L., Johnson L.W., Knowles D.P. *Dermacentor variabilis* and *Boophilus microplus* (Acari:

Ixodidae): experimental vectors of babesia equi to equids // J. Med. Entomol. – 2002. – Vol. 39 (4). – P. 667–670.

14. Ueti M.W., Palmer G.H., Kappmeyer L.S., Statfield M., Scoles G.A., Knowles D.P. Ability of the vector tick *Boophilus microplus* to acquire and transmit *Babesia equi* following feeding on chronically infected horses with low-level parasitemia // J. Clin. Microbiol. – 2005. – Vol. 43 (8). – P. 3755–3759.

Сведения об авторах

Федулина Ольга Олеговна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел./факс: 8 (3952) 33-39-51; e-mail: bookslina@mail.ru)

Сунцова Ольга Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Рар Вера Александровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микробиологии института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАМН

Мельцов Иван Владимирович – кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры «Инновационные технологии в земледелии, животноводстве и ветеринарной медицине» института дополнительного профессионального образования Иркутской государственной сельскохозяйственной академии, начальник отдела организации противоэпизоотических мероприятий, лечебной и лабораторной работы – государственный ветеринарный инспектор Службы ветеринарии Иркутской области (e-mail: ivanmeltsov@mail.ru)

Козлова Ирина Валерьевна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Лисак Оксана Васильевна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генетической диагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Чекушкина Вера Валерьевна – специалист в общем отделе ЗАО «Иркут»

Information about the authors

Fedulina Olga Olegovna – Junior Research Officer of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic Diagnostics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (664003, Irkutsk, Timiryazeva str., 16; tel./fax: (3952) 33-39-51; e-mail: bookslina@mail.ru)

Suntsova Olga Vladimirovna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer, Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic diagnostics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

Rar Vera Alexandrovna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer of the Laboratory of Microbiology of Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine

Meltsov Ivan Vladimirovich – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the department of Innovative Technologies in Agriculture, Animal Husbandry and Veterinary Medicine of Institute of Continuing Professional Education of Irkutsk State Agricultural Academy, Head of the Department of Organization of Anti-epizootic Measures, Medical and Laboratory Work, State Veterinary Inspector of the Veterinary Service of the Irkutsk region (e-mail: ivanmeltsov@mail.ru)

Kozlova Irina Valerievna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic diagnostics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

Lisak Oksana Vasilievna – Junior Research Officer of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Genetic diagnostics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

Chekushkina Vera Valerievna – Specialist in the general department of ZAO Irkut

ГЕНОМИКА И ПРОТЕОМИКА

УДК 575.17(571.53)

Т.А. Байрова, С.А. Чурбанова, С.И. Колесников, О.В. Калюжная

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ПОЛИМОРФНОГО ЛОКУСА 681G>A ГЕНА CYP2C19
В РУССКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН (Иркутск)

Изучена распространенность генотипов и аллелей полиморфного локуса 681G>A гена CYP2C19 в русской популяции Восточной Сибири. Проведен сравнительный анализ частотных характеристик с ранее полученными данными в других популяциях мира. Генотипирование проводилось методом ПЦР. Статистическая обработка осуществлялась с помощью программ «Hardy – Weinberg equilibrium calculator», STATISTICA 8.0. Выявлены значимые различия распространенности аллелей изучаемого полиморфного локуса между исследуемой популяцией и данными других исследователей мира.

Ключевые слова: CYP2C19, полиморфный локус, фармакогенетика, Восточная Сибирь

PREVALENCE OF POLYMORPHOUS LOCUS 681G>A OF CYP2C19 GENE
IN RUSSIAN POPULATION

T.A. Bairova, S.A. Churbanova, S.I. Kovesnikov, O.V. Kalyuzhnaya

Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS, Irkutsk

The prevalence of genotypes and alleles of polymorphous locus 681G>A of CYP2C19 gene in Russian population of Eastern Siberia. We conducted comparative analysis of response characteristics with previous data of other world's populations. Genotyping was conducted using PCR method. Statistical processing was performed using «Hardy – Weinberg equilibrium calculator» and STATISTICA 8.0. Significant differences of prevalence of alleles of studied polymorphous locus between researched population and data of other researchers were discovered.

Key words: CYP2C19, polymorphism, pharmacogenetics, Eastern Siberia

В связи с ростом фармацевтического рынка нежелательные эффекты лекарственных средств становятся все более серьезной проблемой здравоохранения и общества в целом. Так, нежелательные эффекты лекарственных средств (ЛС) занимают 4–6-е место среди причин смертности в США и приводят к летальному исходу у 100–200 тыс. пациентов ежегодно. Ряд стран тратят на устранение осложнений, связанных с приемом лекарств, от 5,5 % до 20 % своих расходов на здравоохранение. В России пока существует крайне ограниченная информация о характере и частоте побочных эффектов лекарств (<http://www.качество.рф/informatory/articles>). Вместе с тем, по данным скорой помощи, только за 2000 г. в Москве зарегистрировано 192 случая анафилактического шока на фоне приема лекарственных препаратов [2].

Одной из причин появления нежелательных лекарственных реакций является различия в механизмах лекарственных взаимодействий, опосредованных различными ферментами семейства цитохрома P-450 (CYP) [1, 3, 4, 5]. Описано около 11500 белков системы цитохрома, классифицированных на 18 семейств. К одному из семейств системы цитохрома P-450 относят CYP2C19, участвующий в биотрансформации таких ЛС, как клопидогрел, барбитураты, диазепам, лансопразол, нелфинавир, клоназепам, циклофосфамид, омепразол и др.) [9]. Из-

вестно 28 полиморфных аллельных вариантов гена CYP2C19. Носительство аллельного варианта CYP2C19*1 («дикий тип») определяет референсный уровень ферментативной активности CYP2C19, соответствующий нормальному уровню биотрансформации ЛС. Носителей «дикого типа» относят к так называемым «экстенсивным метаболитам». Описаны аллели, ассоциированные со снижением активности фермента («медленные» аллели). В частности, CYP2C19*2 (681G>A), который среди всех нефункциональных аллелей является наиболее значимым.

В связи с этим генотипирование пациентов по данному гену позволяет оптимизировать лекарственную терапию. Известно, что распространенность полиморфизмов генов-кандидатов патологических состояний варьирует в разных популяциях мира, в том числе в популяциях Сибири [10]. До настоящего времени отсутствуют данные о распространенности полиморфного локуса 681A>G гена CYP2C19 в русской популяции Восточной Сибири, что затрудняет прогнозирование лекарственных реакций у пациентов.

Цель работы: изучить распространенность генотипов и аллелей полиморфного локуса 681G>A гена CYP2C19 (rs4244285) в русской популяции Восточной Сибири, а также провести сравнительный анализ частотных характеристик с аналогичными данными в других популяциях мира.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследован 71 подросток I–II групп здоровья русской национальности, проживающих на территории Восточной Сибири, средний возраст которых составил $16,3 \pm 3,5$ лет.

При формировании выборки учитывалась этничность и проживание пробанда в конкретном географическом регионе не менее трех поколений. Все подростки и их родители родились и проживали на территории Иркутской области. В работе с группами подростков соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2000 ред.)).

Генотипирование полиморфного локуса $681G>A$ гена *CYP2C19* осуществляли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, предварительно выделив ДНК из образцов крови с помощью набора реагентов «ДНК сорб-Б» (ДНК-Технология).

Статистическую обработку результатов осуществляли методами непараметрической статистики с использованием программы STATISTICA 8.0. Оценка отклонения распределений генотипов изученного полиморфного локуса от распределения Харди – Вайнберга проводилась с использованием модифицированного критерия хи-квадрат Пирсона. Расчеты производились с помощью онлайн-программы «Hardy – Weinberg equilibrium calculator» (OEGE). Для проведения сравнительного анализа полученных данных с результатами других исследований использован Z-критерий Фишера. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты генотипирования полиморфного локуса $681G>A$ гена *CYP2C19* представлены в таблице 1.

Таблица 1
Частота генотипов и аллелей полиморфного локуса $681G>A$ гена *CYP2C19* в русской популяции Восточной Сибири

Генотипы и аллели	Частота (%)
GG	77,5
GA	22,5
AA	0
G	88,7
A	11,3

По результатам генотипирования полиморфного локуса $681G>A$ идентифицированы 2 генотипа – GG и GA. Наиболее распространенным генотипом является генотип GG, составивший 77,5 %. По данным литературы, у носителей данного генотипа активность фермента сохранена [6], в то время как у носителей гетерозиготного генотипа GA, составивших 22,5 % в нашем исследовании, регистрируется сниженная активность фермента [7]. Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного локуса $681G>A$ гена *CYP2C19* соответствовало равновесию Харди – Вайнберга ($\chi^2 = 1,14$; $p > 0,05$).

Следующим этапом нашей работы явилось проведение сравнительного анализа частот $681G>A$ гена *CYP2C19* популяции русских и других популяций мира, результаты которого представлены в таблице 2.

Как видно на представленной таблице, распространенность нефункциональной А-аллели широко варьирует в разных популяциях, от 13 % – у европеоидов и до 40 % – у монголоидов. Результаты собственного исследования указывают на наличие статистически значимого различия распространенности нефункциональной аллели в изучаемой выборке с популяциями японцев, якутов и филиппинцев.

Таким образом, впервые описаны частотные характеристики полиморфного локуса $681G>A$ гена *CYP2C19* в русской популяции Восточной Сибири: частота нефункциональной А-аллели составила 11,3 %, носители гомозиготного генотипа AA не выявлены. Также сравнительный анализ распространенности полиморфного локуса $681G>A$ гена *CYP2C19* с другими исследованиями показал наличие гетерогенности данного локуса в мире.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ НШ-5646.2014.7.

ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES

1. Колесникова Л.И. и др. Ген эндотелиальной синтазы окиси азота и эссенциальная артериальная гипертензия у подростков разных этнических групп, проживающих на территории Республики Бурятия // Бюлл. СО РАМН. – 2009. – № 6. – С. 109–115.

Kolesnikova L.I. et al. Gene of endothelial nitric oxide synthase and essential arterial hypertension in adolescents of different ethnic groups living in the Buryat Republic // Bjull. SO RAMN. – 2009. – N 6. – P. 109–115. (in Russian)

Таблица 2
Сравнительный анализ А-аллели полиморфного локуса $681G>A$ гена *CYP2C19* в различных популяциях мира

Популяция	Численность выборки (N)	Частота А-аллели (%)	p
Европеоиды (США) [8]	105	13	0,7243
Японцы [8]	186	29	0,0028
Якуты (Республика Саха (Якутия)) [11]	88	29	0,0502
Филиппинцы [8]	52	40	0,0003
Арабы [8]	97	15	0,4519
Русские (собственное исследование)	89	11,3	–

Примечание. p – вероятность достоверности различий.

2. Намазалова Л.С. Причины вызовов скорой медицинской помощи к больным с аллергическими заболеваниями в крупном мегаполисе // Неотложная терапия. – 2001. – № 2. – С. 39–43.

Namazalova L.S. Reasons of emergency calls to the patients with allergenic diseases in metropolitan city // Neotlozhnaja terapija. – 2001. – N 2. – P. 39–43. (in Russian)

3. Черняк Ю.И., Грассман Д.А., Колесников С.И. Влияние стойких органических загрязнителей на биотрансформацию ксенобиотиков. – Новосибирск: Наука, 2007. – 134 с.

Chernyak Yu.I., Grassman D.A., Kolesnikov S.I. Influence of persistent organic pollutants on biotransformation of xenobiotics. – Novosibirsk: Nauka, 2007. – 134 p. (in Russian)

4. Черняк Ю.И., Ицкович В.Б., Колесников С.И. Влияние генетических полиморфизмов гена *CYP1A2* на *CYP1A2*-зависимый метаболизм антипирин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2011. – Т. 151, № 4. – С. 427–430.

Chernyak Yu.I., Itskovich V.B., Kolesnikov S.I. Influence of genetic polymorphisms of *CYP1A2* gene on *CYP1A2*-dependent metabolism of antipyrine // Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny. – 2011. – Vol. 151, N 4. – P. 427–430. (in Russian)

5. Черняк Ю.И., Колесников С.И., Черняк Е.В. Цитохром P450: основные представления, методы исследования, значение для практической медицины: учеб.-метод. пособ. – Иркутск, Изд. ИГУ, 2014. – 43 с.

Chernyak Yu.I., Kolesnikov S.I., Chernyak E.V. Cytochrome P450: main conceptions, methods of research, significance for practical medicine: study guide. – Irkutsk: Izd. IGU, 2014. – 43 p. (in Russian)

6. Bonello L., Armero S., Ait Mokhtar O., Mancini J. et al. Clopidogrel loading dose adjustment according to platelet reactivity monitoring in patients carrying the 2C19*2 loss of function polymorphism // J. Am. Coll. Cardiol. – 2010. – Vol. 56 (20). – P. 1630–1636.

7. De Morais S., Wilkinson G.R., Blaisdell J., Nakamura K. et al. The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans // J. Biol. Chem. – 1994. – Vol. 269 (22). – P. 15419–15422.

8. Goldstein J.A., Ishizaki T., Chiba K., de Morais S.M.F. et al. Frequencies of the defective CYP2C19 alleles responsible for the mephenytoin poor metabolizer phenotype in various Oriental, Caucasian, Saudi Arabian and American black populations // Pharmacogenetics. – 1997. – Vol. 7 (1). – P. 59–64.

9. Goldstein J. Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C subfamily // Br. J. Clin. Pharmacol. – 2001. – Vol. 52. – P. 349–355.

10. Kubota T., Chiba K., Ishizaki T. Genotyping of S-mephenytoin 4'-hydroxylation in an extended Japanese population // Clin. Pharmacol. Ther. – 1996. – Vol. 60 (6). – P. 661–666.

11. Makeeva O., Stepanov V., Puzyrev V. et al. Global pharmacogenetics: genetic substructure of Eurasian populations and its effect on variants of drug-metabolizing enzymes // Pharmacogenomics. – 2008. – Vol. 9 (7). – P. 847–868.

Сведения об авторах

Баирова Татьяна Ананьевна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории клинической генетики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; e-mail: tbairova@mail.ru)

Чурбанова Софья Андреевна – врач-интерн Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН

Колесников Сергей Иванович – академик РАН

Калужная Ольга Викторовна – младший научный сотрудник лаборатории клинической генетики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН

Information about the authors

Bairova Tatyana Ananjevna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Clinical Genetics of Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS (664003, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 16; e-mail: tbairova@mail.ru)

Churbanova Sofia Andreevna – Resident Physician of Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS

Kolesnikov Sergey Ivanovich – Academician of RAS

Kalyuzhnaya Olga Viktorovna – Junior Research Officer of the Laboratory of Clinical Genetics of Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS

К.Д. Невлева, Т.А. Байрова, С.И. Колесников, О.В. Калюжная

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ПОЛИМОРФИЗМА 2756A>G ГЕНА МЕТИОНИНСИНТАЗЫ В ПОПУЛЯЦИЯХ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН (Иркутск)

Цель: исследовать частоты генотипов и аллелей полиморфизма 2756A>G гена метионинсинтазы (MTR) в русской и бурятской популяциях Восточной Сибири. Использовалась база ДНК крови детей и подростков русской и бурятской национальности. Генотипирование проводилось стандартным ПЦР-методом. Частота G-аллеля в русской популяции – 25,7 %, в бурятской – 13,2 %. Выявлены значимые различия распространенности генотипов и аллелей полиморфизма между исследуемыми группами ($p = 0,051$; $p = 0,032$)

Ключевые слова: гомоцистеин, метионинсинтаза (MTR), мультифакториальные заболевания, полиморфный локус 2756A>G, фолатный цикл

PREVALENCE OF 2756A>G POLYMORPHISM OF METHIONINE SYNTHASE GENE IN POPULATIONS OF EASTERN SIBERIA

K.D. Ievleva, T.A. Bairova, S.I. Kolesnikov, O.V. Kalyuzhnaya

Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS, Irkutsk

This aim of the study was to research the prevalence of genotypes and alleles of 2756A>G polymorphism of gene of methionine synthase (MTR) gene in Russian and Buryat populations of Eastern Siberia. We used DNA blood database of children and teenagers of the Russian and Buryat nationality living in Eastern Siberia. Genotyping was carried out using standard PCR method. Prevalence of minor G-allele in Russian population was 25,7 %, in Buryat population – 13,2 %. We revealed differences in prevalence of genotypes and alleles between studied groups ($p = 0,051$; $p = 0,032$).

Key words: homocysteine, methionine synthase (MTR), multifactorial pathology, 2756A>G polymorphism, folate cycle

Ген метионинсинтазы (MTR) является одним из генов фолатного цикла, детерминирующим метаболизм гомоцистеина. Повышение концентрации последнего в крови предрасполагает к развитию множества патологий: сердечно-сосудистые заболевания, невынашивание беременности, врожденные аномалии нервной трубки у плода и другие [1, 2, 4, 5, 9].

Метионинсинтаза катализирует восстановление гомоцистеина до метионина. Ферментативная активность метионинсинтазы определяется разновидностью полиморфного локуса, кодирующего MTR, для которого описано 2422 полиморфизмов [8]. Однако, по данным ряда исследований, установлено, что одним из клинически значимых является полиморфизм 2756A>G [4, 5, 11]. Данный полиморфный локус представляет собой замену гуанина на аденин в положении 2756, приводящую к замене аспарагиновой кислоты на глицин [5]. Данная замена приводит к повышению плазменной концентрации гомоцистеина в крови, что является предрасполагающим фактором к развитию сердечно-сосудистых заболеваний [10, 11].

Распространенность полиморфизмов генов-кандидатов патологических состояний варьирует в разных популяциях мира, в том числе в популяциях Сибири [3, 6]. До настоящего времени отсутствуют работы, касающиеся распространенности полиморфизма 2756A>G гена метионинсинтазы среди подростков разных этнических групп Сибири.

Цель работы: исследовать частоты распространенности генотипов и аллелей и полиморфизма 2756A>G гена MTR в русской и бурятской популяциях

Восточной Сибири, а также провести сравнительный анализ распространенности данных полиморфизмов с аналогичными данными других исследователей мира.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использована база крови и ДНК, включающая детей и подростков I и II групп здоровья, проживающих на территории Восточной Сибири, русской (71 человек) и бурятской национальности (72 человека). Средний возраст исследуемых составил $16,3 \pm 3,4$ лет. Материалом для исследования служили образцы выделенной ДНК, венозной крови и капли крови, высушенные на фильтровальной бумаге.

При формировании выборки учитывалась этническая и проживание пробанда в конкретном географическом регионе не менее трех поколений. В работе с группами подростков соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2000 ред.)).

Для генотипирования образцов использовался метод ПЦР-амплификации с детекцией в режиме реального времени, с предварительной экстракцией ДНК из образцов крови с помощью набора реагентов «ДНК сорб-Б» (ДНК-Технология).

Статистическая обработка результатов производилась с помощью онлайн-программы «Hardy – Weinberg equilibrium calculator» (OEGE). Расчеты для сравнительного анализа полученных данных с результатами других исследований производились с помощью программы «Statistica 8.0» с использованием нормальной аппроксимации и точного критерия Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам генотипирования выборки русской популяции по полиморфному локусу 2756A>G получены следующие результаты: частота гомозиготы AA составила 56,9 %; гетерозиготы AG – 34,7 %; гомозиготы GG – 8,3 %. Частотное распределение аллелей составило: 74,3% – А-аллель, 25,7% – минорная G-аллель.

По результатам генотипирования выборки бурятской популяции по изучаемому полиморфному локусу были получены следующие результаты: частота гомозиготы AA составила 75,0 %; гетерозиготы AG – 23,6 %; гомозиготы по минорной аллели GG – 1,4 %. Частотное распределение аллелей в популяции составило 86,8 % для аллели А и 13,2 % – для G-аллели (табл. 1).

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма 2756A>G гена MTR в популяционных выборках соответствовало равновесию Харди – Вайнберга как для русской ($\chi^2 = 0,59$; $p < 0,05$), так и для бурятской ($\chi^2 = 0,07$; $p < 0,05$) популяции.

Сравнительный анализ показал наличие значимых различий частот генотипов полиморфного

локуса 2756A>G между исследуемыми группами за счет увеличения носителей генотипа AA в бурятской выборке ($p = 0,024$). Также выявлены значимые различия частот распространенности аллелей данного полиморфизма между русской и бурятской популяциями за счет увеличения количества подростков-носителей минорного G-аллеля ($p = 0,051$). Результаты сравнительного анализа полученных частотных характеристик с аналогичными данными других исследователей мира представлены в таблице 2.

Для русской популяции были выявлены значимые различия распространенности минорной аллели полиморфного локуса 2756A>G с африканской ($p = 0,0081$) и корейской ($p = 0,0098$) популяциями [10]. Для бурятской популяции значимые различия были выявлены только в сравнении с русской ($p = 0,0348$) популяцией города Новосибирск [7].

Таким образом, сравнительный анализ распространенности полиморфного локуса 2756A>G гена MTR указывает на значимое превышение частоты минорной G-аллели в русской популяции подростков Восточной Сибири в сравнении с частотой данной аллели среди

Таблица 1
Частоты генотипов и аллелей полиморфного локуса 2756A>G гена MTR в изучаемых популяциях

Генотипы и аллели	Русские (n = 71)		Буряты (n = 72)	
	абс.	%	абс.	%
AA	41	56,9	54	75,0
AG	25	34,7	17	23,6
GG	6	8,3	1	1,4
A	107	74,3	125	87,8
G	37	25,7	19	13,2
Соответствие закону Харди – Вайнберга (χ^2)	Соответствует 0,59 ($p < 0,05$)		Соответствует 0,07 ($p < 0,05$)	

Примечание. n – численность выборки; p – значимость различий.

Таблица 2
Распространенность минорной G-аллели полиморфизма 2756A>G гена MTR в различных этнических популяциях мира и их сравнительный анализ с распространенностью данной аллели в исследуемых выборках

Популяция	Численность выборки (n)	Частоты аллелей (%)		p	
		аллель A	аллель G	русские	буряты
Африканцы (Мозамбик) [10]	60	92	8	0,0081	0,357
Корейцы [11]	106	89	11	0,0098	0,6854
Французы [10]	58	83	17	0,2203	0,5242
Монголы [11]	20	80	20	0,5834	0,4339
Итальянцы [11]	257	79	21	0,3668	0,129
Европеоиды (США) [11]	298	79	21	0,3584	0,1246
Японцы [11]	56	79	21	0,5112	0,2287
Америнды (североамериканские индейцы) [11]	26	73	27	0,9211	0,1043
Русские [7]	208	75	25	0,8671	0,0348
Эстонцы [11]	1952	80	20	0,1812	0,1641
Собственное исследование					
Русские	71	74	26	–	0,0509
Буряты	72	87	13	0,0509	–

Примечание. p – вероятность значимости различий.

подростков бурятской национальности. При этом распространённость полиморфизма 2756A>G соотносима с распространённостью данного полиморфизма в русской популяции Западной Сибири (Новосибирск).

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ НШ-5646.2014.7.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Баранова Е.И., Большакова О.О. Клиническое значение гомоцистеинемии (обзор литературы) // Артериальная гипертензия. – СПб., 2004. – № 10. – С. 12–15.

Baranova E.I., Bolshakova O.O. Clinical significance of homocysteinemia (literature review) // Arterial'naja gipertenzija. – Saint-Petersburg, 2004. – N 10. – S. 12–15. (in Russian)

2. Добролюбов А.С., Добрынина М.Л., Дюжев Ж.А., Липин М.А., Поляков А.В., Фетисова И.Н. Полиморфизмы генов фолатного обмена у женщин с привычной потерей беременности ранних сроков // Вестник новых медицинских технологий. – 2006 – Т. XIII, № 4. – С. 60.

Dobrolyubov A.S., Dobrynina M.L., Dyuzhev Zh.A., Lipin M.A., Polyakov A.V., Fetisova I.N. Polymorphisms of genes of folate exchange in women with customary interruption of early pregnancy // Vestnik novykh medicinskih tehnologij. – 2006 – Vol. XIII, N 4. – P. 60. (in Russian)

3. Колесникова Л.И., Долгих В.В., Баирова Т.А., Бимбаев А.Б. Ген эндотелиальной синтазы оксид азота и эссенциальная артериальная гипертензия у подростков разных этнических групп, проживающих на территории Республики Бурятия // Бюллетень СО РАМН. – 2009. – № 6. – С. 109–115.

Kolesnikova L.I., Dolgikh V.V., Bairova T.A., Bibmaev A.B. Gene of endothelial nitric oxide synthase and essential hypertension in adolescents of different ethnic groups living in the Buryat Republic // Bjulleten' SO RAMN. – 2009. – N 6. – P. 109–115. (in Russian)

4. Мирина Е.А., Коваленко К.А., Машкина Е.В., Шкурят Т.П. Исследование полиморфизма генов фолатного цикла и коагуляционных факторов крови у супружеских пар с бесплодием // Валеология. – 2011. – № 2. – С. 91–95.

Mirina E.A., Kovalenko K.A., Mashkina E.V., Shkurat T.P. Research of polymorphism of genes of folate cycle

and coagulation factors of blood in fertility-challenged couples // Valeologija. – 2011. – N 2. – P. 91–95. (in Russian)

5. Фетисова И.Н., Добролюбов А.С., Липин М.А., Поляков А.В. Полиморфизм генов фолатного обмена и болезни человека // Вестник новых медицинских технологий. – 2007. – № 1. – С. 44–48.

Fetisova I.N., Dobrolyubov A.S., Lipin M.A., Polyakov A.V. Polymorphism of genes of folate exchange and human's diseases // Vestnik novykh medicinskih tehnologij. – 2007. – N 1. – P. 44–48. (in Russian)

6. Шуматова Т.А., Приходченко Н.Г., Оденбах Л.А., Ефремова И.В. Роль метилирования ДНК и состояния фолатного обмена в развитии патологических процессов в организме человека // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2013. – № 4. – С. 39–43.

Shumatova T.A., Prikhodchenko N.G., Odenbach L.A., Efremova I.V. Role of DNA methylation and state of folate exchange in the development of pathological processes in human's organism // Tihookeanskij medicinskij zhurnal. – 2013. – N 4. – P. 39–43. (in Russian)

7. Щепотина Е.Г., Прасолова М.А., Иванов М.К. Новые наборы реагентов для выявления однонуклеотидных полиморфизмов генов фолатного цикла и системы свертывания крови // Новости «Вектор-Бест». – 2013. – № 2. – С. 7.

Shchepotina E.G., Prasolova M.A., Ivanov M.K. New sets of reagents for the determination of single nucleotide polymorphisms of genes of folate cycle and blood-clotting sequence // Novosti «Vektor-Best». – 2013. – N 2. – P. 7. (in Russian)

8. 5-Methyltetrahydrofolate-Homocysteine Methyltransferase // Gene Cards [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene>.

9. Botto N. Genetic polymorphisms in folate and homocysteine metabolisms risk factors for DNA damage // European Journal of Human Genetics. – 2003. – Vol. 11. – P. 671–678.

10. Li J.Z. Worldwide human relationships inferred from genome-wide patterns of variation // Science. – 2008. – N 319. – P. 1102.

11. Yu K. Methionine synthase 2756A>G polymorphism and cancer risk: a meta-analysis // European Journal of Human Genetics. – 2010. – N 18. – P. 372–373.

Сведения об авторах

Иевлева Ксения Дмитриевна – врач-интерн Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; e-mail: asiy91@mail.ru)

Баирова Татьяна Ананьевна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории клинической генетики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (e-mail: tbairova@mail.ru)

Колесников Сергей Иванович – академик РАН

Калужная Ольга Викторовна – младший научный сотрудник лаборатории клинической генетики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН (e-mail: kaluzhnayao@ya.ru)

Information about the authors

Ievleva Ksenia Dmitrievna – Resident of Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS (664003, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 16; e-mail: asiy91@mail.ru)

Bairova Tatiana Ananyevna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Clinical Genetics of Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS (e-mail: tbairova@mail.ru)

Kolesnikov Sergey Ivanovich – Academician of RAS

Kalyuzhnaya Olga Viktorovna – Junior Research Officer of the Laboratory of Clinical Genetics of Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS (e-mail: kaluzhnayao@ya.ru)

О.А. Первушина, Т.А. Байрова, Л.И. Колесникова

ПОЛИМОРФИЗМ ALA16VAL ГЕНА СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ 2 (SOD2) У ПОДРОСТКОВ-ЕВРОПЕОИДОВ С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ В ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН (Иркутск)

В работе проанализировано распределение аллелей и генотипов полиморфизма Ala16Val (rs4880) гена супероксиддисмутаза 2 у подростков-европеоидов с артериальной гипертензией ($n = 102$) и в популяционной выборке европеоидов ($n = 65$), проживающих на территории Восточной Сибири. Частоты аллелей среди популяционной выборки составили: Ala = 0,492 и Val = 0,508, генотипов – Ala/Ala = 0,277; Ala/Val = 0,431 и Val/Val = 0,292. В группе подростков с артериальной гипертензией аллели встречались с частотой Ala = 0,495 и Val = 0,505, генотипы Ala/Ala = 0,245; Ala/Val = 0,500 и Val/Val = 0,255. При сравнении данных значимый различий не обнаружено.

Ключевые слова: супероксиддисмутаза, эссенциальная артериальная гипертензия, окислительный стресс, европеоиды

ALA16VAL POLYMORPHISM OF SUPEROXIDEDISMUTASE 2 (SOD2) GENE IN CAUCASOID TEENAGERS WITH HYPERTENSION, LIVING IN THE EASTERN SIBERIA

O.A. Pervushina, T.A. Bairova, L.I. Kolesnikova

Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS, Irkutsk

The article presents the analysis of distribution of alleles and genotypes of Ala16Val polymorphism (rs4880) of superoxidizedismutase 2 (SOD2) gene in Caucasoid teenagers with hypertension ($n = 102$) and in Caucasoid population sampling ($n = 65$), living in the Eastern Siberia. Frequencies of alleles in population sampling were Ala = 0,492 and Val = 0,508, of genotypes – Ala/Ala = 0,277; Ala/Val = 0,431 and Val/Val = 0,292. In the group of teenagers with arterial hypertension the frequency of alleles was Ala = 0,495 and Val = 0,505, of genotypes – Ala/Ala = 0,245; Ala/Val = 0,500 and Val/Val = 0,255. There were no significant differences found at the comparison the data.

Key words: superoxide dismutase, essential arterial hypertension, oxidative stress, Caucasoids

ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания являются одной из причин заболеваемости, инвалидности и преждевременной смертности в мире. Одним из наиболее распространенных сердечно-сосудистых заболеваний является эссенциальная артериальная гипертензия, которая в России регистрируется у 40 % взрослого населения и у 2,4–18 % детей и подростков [5, 9]. Патогенетические механизмы эссенциальной артериальной гипертензии многообразны. В ряду нейрогенной, ренин-ангиотензиновой, мембранной и других концепций формирования артериальной гипертензии широкое признание получила теория окислительного стресса [8, 12]. Окислительный стресс – это нарушение в организме баланса между прооксидантами (перекисным окислением липидов) и компонентами системы антиоксидантной защиты [2, 3, 6, 7, 11, 13]. Перекисное окисление липидов носит общебиологический характер и является метаболическим звеном при формировании ряда таких патологических состояний, как артериальная гипертензия, ишемической болезни сердца, атеросклероза и других. Контроль над активностью перекисного окисления липидов осуществляет антиоксидантная система организма [2, 3, 6, 7, 11, 13]. В систему антиоксидантной защиты организма включены антиоксиданты природного (токоферол, фосфолипиды, витамин А, аскорбиновая кислота) и синтетического (ферменты: супероксиддисмутаза, каталаза, перок-

сидаза) происхождения. На структуру и функцию ферментов (белков), задействованных в регуляцию окислительного стресса, может оказывать значимое влияние генетический полиморфизм. Замены в различных доменах белка в зависимости от локализации могут изменять активность, сродство с субстратом и специфичность белка и таким образом оказывать влияние на уровень окислительного стресса организма [14].

К ферментам антиоксидантной защиты относится супероксиддисмутаза 2. В клетке супероксиддисмутаза 2 локализована в митохондриальном матриксе. Ген супероксиддисмутаза 2, кодирующий данный фермент, расположен на хромосоме 6q25.3 и состоит из 5 экзонов [15]. Установлено, что на активность супероксиддисмутаза 2 оказывает влияние полиморфизм Ala16Val (или +9T/C, rs4880). Полиморфизм Ala16Val, приводящий к замене аланина (Ala) на валин (Val), локализован в участке, отвечающем за связывание с митохондрией для транспортировки фермента в митохондриальный матрикс. В митохондриальном матриксе этот участок расщепляется, и супероксиддисмутаза переходит в активную форму [17, 18]. Отмечено, что фермент, содержащий в этой позиции Val, трансформируется в митохондриальный матрикс медленнее, чем белок, содержащий Ala. Соответственно, у носителей аллеля Val и генотипа Val/Val накапливается супероксид в матриксе, что приводит к большей выраженности окисленных повреждений мтДНК [16].

Фиксируются существенные этнические и расовые различия в частотах встречаемости аллелей и генотипов гена супероксиддисмутазы 2, что определяет актуальность исследования для каждой этнической и популяционной выборки.

Целью работы стало сравнение распространенности аллелей и генотипов полиморфизма *Ala16Val* гена супероксиддисмутазы 2 (или +9T/C, rs4880) в группе европеоидов с эссенциальной артериальной гипертензией и в популяционной выборке проживающих на территории Восточной Сибири.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Общую группу исследования составили 167 европеоидов (подростки русской национальности) из неродственных семей, возрастной диапазон – 14–17 лет (средний возраст – $15,24 \pm 0,86$ лет). При формировании выборки учитывались этничность и проживание пробаанда в конкретном географическом регионе в течение не менее трех поколений. Все подростки и их родители родились и проживали на территории Иркутской области. В работе с группами подростков соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2000 ред.)).

Для проведения исследования были сформированы две группы: основная – подростки с эссенциальной артериальной гипертензией и контрольная. Основную группу составили 102 подростка с эссенциальной артериальной гипертензией. Критерием включения в основную группу служило наличие артериальной гипертензии и отсутствие симптоматического характера повышения артериального давления. Эссенциальная артериальная гипертензия диагностировалась в соответствии с современной классификацией, разработанной экспертной группой Всероссийского научного общества кардиологов (ВНОК) и Ассоциацией детских кардиологов России, утвержденной ВНОК. В качестве нормальных принимались показатели САД и ДАД 10–90-го перцентиля, уровень САД и ДАД в пределах 90–94-го перцентиля оценивался как «высокое нормальное АД», высоким считались значения свыше 95-го перцентиля [1].

Контрольную группу составили 65 подростков русской национальности без наследственной отягощенности по эссенциальной артериальной гипертензии, с уровнем артериального давления, соответствующего 10–90 %, без острого или обо-

стренного хронического заболевания на момент обследования.

Образцы крови забирали из локтевой вены в пробирки с антикоагулянтом (6%-й раствор этилендиаминтетрауксусная кислота, ГОСТ 10652-73). Препараты ДНК получали с использованием наборов «ДНК-сорб-В» (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия). Полимеразная цепная реакции (ПЦР) проводилась в автоматическом термоциклере «Терцик». Амплификацию проводили наборами реагентов для идентификации полиморфных маркеров SNP-экспресс-кардиогенетика (НПФ «Литех», Россия). Детекцию продуктов амплификации осуществляли в 3%-м агарозном геле, результаты электрофореза в геле визуализировались на фильтрате трансиллюминатора и документировались фотографированием.

Для обработки полученных результатов применялись методы математической статистики, реализованные в лицензионном интегрированном статистическом пакете комплексной обработки данных STATISTICA 6.1 StatSoft Inc., США (правообладатель лицензии – ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» Сибирского отделения РАН). Для оценки соответствия распределений генотипов ожидаемым значениям при равновесии Харди – Вайнберга использовали критерий χ^2 Пирсона. Для сравнения частот аллелей и генотипов между анализируемыми группами использовали критерий χ^2 Пирсона с поправкой Йейтса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Проведен анализ распределения частот встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма *Ala16Val* гена супероксиддисмутазы 2 (или +9T/C, rs4880) в исследуемых выборках, результаты которого представлены в таблице 1.

В контрольной группе подростков частоты встречаемости генотипов *Ala/Ala*; *Ala/Val* и *Val/Val* составляют 0,277, 0,431 и 0,292. Частоты аллелей *Ala* – 0,492 и *Val* – 0,508. В группе исследования наблюдаемая гетерозиготность не отличалась от ожидаемой, что соответствует равновесному распределению Харди – Вайнберга.

Среди подростков с эссенциальной артериальной гипертензией частота встречаемости генотипов *Ala/Ala*; *Ala/Val* и *Val/Val* составила 0,245, 0,500 и 0,255 соответственно. Частота аллелей *Ala* – 0,495, *Val* – 0,505. Таким образом, при сравнении группы больных с контрольной группой статистически значимых различий

Таблица 1
Распределение частот аллелей и генотипов полиморфизма *Ala16Val* гена супероксиддисмутазы 2 (rs4880)

Группы	Частота генотипов			Частота аллелей	
	<i>Ala/Ala</i>	<i>Ala/Val</i>	<i>Val/Val</i>	<i>Ala</i>	<i>Val</i>
Русские, контроль ($n = 102$)	0,277 (28)	0,431 (44)	0,292 (30)	0,492	0,508
Русские, артериальная гипертензия ($n = 65$)	0,245 (16)	0,500 (32)	0,255 (17)	0,495	0,505
Критерий различий χ^2 (p)	0,595 (0,743)			0,006 (0,941)	

Примечание. p – уровень значимости; n – количество человек, носителей генотипа.

распределения аллелей и генотипов полиморфизма *Ala16Val* гена супероксиддисмутазы 2 (rs4880) не выявлено. Данное исследование указывает на отсутствие ассоциации полиморфизма *Ala16Val* гена супероксиддисмутазы 2 (rs4880) с эссенциальной артериальной гипертензией у подростков-европеоидов, проживающих в Восточной Сибири.

Данные литературы о роли изучаемого полиморфизма в реализации сердечно-сосудистых заболеваний малочисленны. Так, по данным Е.В. Майкоповой (2011), у пациентов, перенесших острый инфаркт миокарда, зарегистрировано статистически значимое увеличение частоты аллеля *Val* ($p = 0,008$), полиморфизма *Ala16Val* гена супероксиддисмутазы 2 (rs4880). При расчете показателей относительного риска выявлено, что пациенты с ишемической болезнью сердца, являющиеся носителями аллели *Val*, в 2 раза больше подвержены риску развития инфаркта миокарда (ОШ = 1,89; 95 %), чем носители аллели *Ala* [10]. Однако исследование проведено на смешанной выборке республики Татарстан, и оценить значимость данного генетического маркера в развитии индивидуального миокарда у представителей разных этнических выборок не представляется возможным.

Для расчета индивидуального прогноза необходимо учитывать особенности генетического профиля конкретной этнической выборки, определяющей спектр генов-кандидатов факторов риска заболеваний, в том числе сердечно-сосудистых [4]. В связи с этим поиск прогностической значимости генов кандидатов заболеваний является актуальной проблемой.

В целом результаты собственных исследований не показали различий частот встречаемости аллелей и генотипов полиморфизма *Ala16Val* гена супероксиддисмутазы 2 (rs4880) в группе контроля и пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией. Тем не менее, изучение связи данного полиморфизма с компонентами перекисного окисления липидов сможет определить роль данного полиморфизма в формировании эссенциальной артериальной гипертензии у подростков-европеоидов, проживающих в Восточной Сибири.

Работа выполнена при поддержке гранта президента РФ «Ведущей научной школы» НШ – 5646. 2014.7

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Автандилов А.Г. Диагностика, лечение и профилактика артериальной гипертензии у детей и подростков: Методические рекомендации. – М., 2003. – 30 с.
- Avtandilov A.G. Diagnostics, treatment and prophylaxis of arterial hypertension in children and adolescents: Guidelines. – Moscow, 2003. – 30 p. (in Russian)
2. Андреев Ю.А., Кушнарева Ю.Е., Старков А.А. Метаболизм активных форм кислорода в митохондриях // Биохимия. – 2005. – Т. 70, Вып. 2. – С. 246–264.
- Andreev Yu.A., Kushnareva Yu.E., Starkov A.A. Metabolism of active forms of oxygen in mitochondria

// Biohimija. – 2005. – Vol. 70, Iss. 2. – P. 246–264. (in Russian)

3. Воробьева Е.Н., Воробьев Р.И. Роль свободнорадикального окисления в патогенезе болезней системы кровообращения // Бюл. СО РАМН. – 2005. – № 4 (118). – С. 24–30.

Vorobyova E.N., Vorobyov R.I. Role of lipid peroxidation in the pathogenesis of circulatory system diseases // Bjul. SO RAMN. – 2005. – N 4 (118). – P. 24–30. (in Russian)

4. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / Под ред. В.С. Баранова. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. – 528 с.

Genetic passport – a basis of individual and predictive medicine / Ed. by V.S. Baranov. – Saint-Petersburg: Izd-vo N-L, 2009. – 528 p. (in Russian)

5. Долгих В.В., Колесникова Л.И. Патогенез эссенциальной артериальной гипертензии у детей. – Иркутск: Изд-во ВСНЦ СО РАМН, 1999. – 220 с.

Dolgikh V.V., Kolesnikova L.I. Pathogenesis of essential arterial hypertension in children. – Irkutsk: Izd-vo VSNC SO RAMN, 1999. – 220 p.

6. Колесникова Л.И., Баирова Т.А., Первушина О.А. Этногенетические маркеры антиоксидантной системы // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 4. – С. 166–171.

Kolesnikova L.I., Bairova T.A., Pervushina O.A. Ethnogenetic markers of antioxidant system // Bjul. VSNC SO RAMN. – 2013. – N 4. – P. 166–171. (in Russian)

7. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Долгих В.В. и др. Особенности процессов перекисного окисления липидов – антиоксидантной защиты в разных этнических группах Восточной Сибири // Экология человека. – 2010. – № 2. – С. 26–29.

Kolesnikova L.I., Darenskaya M.A., Dolgikh V.V. et al. Peculiarities of lipid peroxidation processes – antioxidant system in different ethnic groups of Eastern Siberia // Jekologija cheloveka. – 2010. – N 2. – P. 26–29. (in Russian)

8. Колесникова Л.И., Курашова Н.А. и др. Особенности антиоксидантной системы у подростков Восточной Сибири в зависимости от гендерной и этнической принадлежности // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 4 (92). – С. 136–140.

Kolesnikova L.I., Kurashova N.A. et al. Peculiarities of antioxidant system in adolescents of Eastern Siberia depending on the gender and ethnicity // Bjul. VSNC SO RAMN. – 2013. – N 4 (92). – P. 136–140. (in Russian)

9. Леонтьева И.В. Проблема артериальной гипертензии у детей и подростков // Рос. вест. перинатологии и педиатрии. – 2006. – № 5. – С. 7–18.

Leontyeva I.V. Problem of arterial hypertension in children and adolescents // Ros. vest. perinatologii i pediatrii. – 2006. – N 5. – P. 7–18. (in Russian)

10. Майкопова Е.В., Алимова Ф.К., Подольская А.А. и др. Ассоциация полиморфных вариантов генов супероксиддисмутаз с риском развития ишемической болезни сердца // Матер. VI Междунар. науч.-практ. конф. «Спецпроект: анализ научных исследований» (30–31 мая 2011).

Maykopova E.V., Alfimova F.K., Podolskaya A.A. et al. Association of polymorph variants of superoxide

dismutase genes with risk of development of ischemic heart disease // Mater. VI Mezhdunar. nauch.-prakt. konf. «Specproekt: analiz nauchnyh issledovaniy» (May 30–31, 2011). (in Russian)

11. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. Окислительный стресс. – М.: Слово, 2006. – 566 с.

Menshchikova E.B., Lankin V.Z., Zenkov N.K. Oxidative stress. – Moscow: Slovo, 2006. – 566 p. (in Russian)

12. Натяганова Л.В. Особенности окислительного стресса в патогенезе эссенциальной артериальной гипертензии у подростков: автореф. дис: ... канд. биол. наук: 14.03.03. – Иркутск, 2010. – 18 с.

Natyaganova L.V. Peculiarities of oxidative stress in pathogenesis of essential arterial hypertension in adolescents: abstract of dissertation of Candidate of Biological Sciences: 14.03.03. – Irkutsk, 2010. – 18 p. (in Russian)

13. Burton G.J., Jauniaux E. Oxidative stress // Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol. – 2011. – Vol. 25 (3). – P. 287–299.

14. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view // Nutr. Rev. – 2012. – Vol. 70 (5). – P. 257–265.

15. Landis G.N., Lemieux I., Pascot A., Couillard C. Superoxide dismutase evolution and life span regulation // Mech. Ageing Dev. – 2005. – Vol. 126 (3). – P. 365–379.

16. Rosenblum J.S., Gilula N.B., Lerner R.A. On signal sequence polymorphisms and diseases of distribution // Proc. Nat. Acad. Sci. – 1996. – Vol. 93, N 9. – P. 4471–4473.

17. Sobkowiak A., Lianeri M., Wudarski M. et al. Manganese superoxide dismutase Ala-9Val mitochondrial targeting sequence polymorphism in systemic lupus erythematosus in Poland // Clin. Rheumatol. – 2008. – Vol. 27. – P. 827–831.

18. Sutton A., Imbert A., Igoudjil A. et al. The manganese superoxide dismutase Ala16Val dimorphism modulates both mitochondrial import and mRNA stability // Pharmacogenet. Genomics. – 2005. – Vol. 15, N 5. – P. 311–319.

Сведения об авторах

Первушина Оксана Александровна – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории клинической генетики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-76-36, факс: 8 (3952) 20-73-67; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Баирова Татьяна Ананьевна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией клинической генетики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН

Колесникова Любовь Ильинична – член-корр. РАН, директор Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН

Information about the authors

Pervushina Oksana Aleksandrovna – Candidate of Biological Sciences, Junior Research Officer of the Laboratory of Clinical Genetics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS (664003, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 16; tel.: +7 (3952) 20-76-36, fax: +7 (3952) 20-73-67; e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru)

Bairova Tatyana Ananyevna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Clinical Genetics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS

Kolesnikova Lyubov Iljinichna – Corresponding Member of RAS, Director of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS

ОБЗОРЫ

УДК 612.821.7: 159.922.72

О.Н. Бердина

РОЛЬ СНА И ЕГО НАРУШЕНИЙ В ФОРМИРОВАНИИ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ В ДЕТСКОМ ВОЗРАСТЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН (Иркутск)

В статье представлены данные литературы, касающиеся современных представлений о сне как ключевом звене в формировании когнитивных функций у детей, описаны энцефалографические паттерны во сне в качестве маркеров интеллектуальных способностей. Снижение умственных способностей ребенка следует рассматривать как один из симптомов нарушений сна. Применение высокотехнологичных методов исследования сна, диагностики и лечения его нарушений позволит предотвратить формирование когнитивных нарушений и повысить интеллектуальный потенциал подрастающего поколения.

Ключевые слова: дети, сон, когнитивные функции, интеллект

THE ROLE OF SLEEP AND ITS DISORDERS IN FORMING OF COGNITIVE FUNCTIONS IN CHILDHOOD (LITERATURE REVIEW)

O.N. Berdina

Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS, Irkutsk

The article summarizes and analyzes scientific literature data concerning modern ideas about sleep as a key element in formation of cognitive functions in children, encephalographic patterns during the night as markers of intellectual abilities in healthy children are described. Decline in mental abilities of the child should be considered as one of the permanent symptoms in those or other sleep disorders. It is now known that about 90 % of sleep disorders is presented different types of respiratory disorders. Using of modern high-tech methods of sleep research, diagnosis and treatment of sleep disorders will prevent the formation of cognitive impairment and improve the overall intellectual potential of the younger generation.

Key words: children, sleep, cognitive function, intelligence

Сон – жизненно необходимое, периодически наступающее, естественное физиологическое состояние человека, характеризующееся цикличностью, периодичностью, существенным ограничением двигательной активности, снижением тонуса мышц опорно-двигательного аппарата и снижением реакции на стимулы [6]. Примерно треть своей жизни человек проводит во сне. Полноценный сон, наряду с бодрствованием, является звеном одной цепи в цикле человеческого существования – цикла «сон – бодрствование». Хорошо известно, что каждый человек в своей жизни стремится достигнуть активного и сверхактивного бодрствования. Для достижения этой цели он должен последовательно пройти определенные циклы существования, коими являются фазы сна, начиная от расслабленного бодрствования с постепенным переходом к состоянию дремоты, поверхностному, глубокому и быстрому сну. Все они имеют различные психовегетативные моторно-физиологические и поведенческие характеристики, что позволяет выделить и обозначить их как закономерно существующие функциональные состояния мозга и организма в целом. Полноцен-

ность сна определяет общий уровень здоровья и качества жизни, измеряемые в показателях социального, психического, эмоционального и физического благополучия [2, 7].

Открытие Е. Асерински и Н. Клеймана в 1953 г. фазы «быстрого», или «парадоксального», сна (ФБС), во время которой были обнаружены быстрые движения глазных яблок при закрытых веках и общей полной мышечной релаксации, послужило основанием для современных исследований физиологии сна. Оказалось, что сон представляет собой совокупность двух качественно разных фаз – «медленного» (или «ортодоксального») и «быстрого» (или «парадоксального») сна. Название этих фаз сна обусловлено характерными особенностями электроэнцефалограммы (ЭЭГ): во время фазы «медленного» сна (ФМС) регистрируются преимущественно медленные волны, а во время ФБС – быстрый бета-ритм, характерный для бодрствования человека, что дало основание называть эту фазу сна «парадоксальным» сном [10, 20]. Эти фазы сна чередуются с периодичностью 90–120 мин, что в целом составляет заверченный цикл сна. Ночной сон обычно состоит из 4–6 заверченных циклов,

каждый из которых начинается с первых стадий «медленного» сна и завершается «быстрым» сном. В первых двух циклах преобладает «медленный» сон, в последних – «быстрый», а дельта-сон резко сокращен и даже может отсутствовать. ФМС наиболее отчетливо выражена в начале ночи (первая треть или первая половина), а в дальнейшем ее продолжительность уменьшается. Напротив, эпизоды ФБС становятся более продолжительными и отчетливыми по мере прогрессирования сна, и самый длительный эпизод фазы быстрого сна наблюдается в ранние утренние часы [3].

Общепризнанным стандартом для регистрации сна и его нарушений является полисомнография (ПСГ) – одновременный мониторинг основных физиологических функций организма в течение всей физиологической ночи по стандартной методике. При проведении ПСГ-исследования регистрируются следующие параметры: ЭЭГ (C3, C4, O1, O2, A1 и A2); электроокулограмма; подбородочная миограмма; электромиограмма передних большеберцовых мышц; ороназальный воздушный поток; дыхательные движения грудной и брюшной стенки; насыщение крови кислородом (SaO_2); электрокардиограмма; эпизоды храпа. Качественная полисомнографическая запись позволяет провести полное и всестороннее изучение всех параметров спящего человека и сна как физиологического процесса. Кроме того, с помощью этого метода можно исследовать как влияние тех или иных заболеваний на сон, так и нарушений сна на различные нозологические формы [1].

В настоящее время сон в целом рассматривают как активное состояние, как сложный физиологический и психологический процесс. Наиболее важное функциональное значение имеют глубокие стадии сна и ФБС. ФМС – это период восстановления мозгового гомеостаза, при этом активизируются анаболические процессы в различных органах и тканях организма, например, синтез фосфатергических соединений («накопителей энергии»), гормона роста, белков и нуклеиновых кислот. В условиях медленного сна переработка информации мозгом не прекращается, а изменяется: от обработки экстероцептивных (внешних) мозг переходит к обработке интероцептивных (внутренних) импульсов. Вызывают интерес предположения, что «медленный» сон, особенно его стадии, сопровождающиеся дельта-ритмом, играют важную роль в процессах запоминания. Во время глубокого сна происходит упорядочивание и запоминание поступившей в период бодрствования информации. У испытуемых при лишении сна и дельта-сна значительно ухудшается память и снижается внимание [8]. Таким образом, функция медленного сна включает не только восстановительные процессы (гомеостаз мозговой ткани), но и оптимизацию управления внутренними органами. Основная функция ФБС – функция психической адаптации. Во время «быстрого» сна происходит восстановление объемов кратковременной памяти, эмоционального равновесия, нарушенной системы психологических защит [21].

Учитывая все сложности понимания функции сна, необходимо отметить, что сон не является отдельной от бодрствования частью жизнедеятельности, а наоборот, является немаловажной составной частью цикла «сон – бодрствование». Существуют особые взаимозависимые отношения между сном и бодрствованием, при которых особенности бодрствования оказывают влияние на структуру последующего сна, а особенности сна определяют качество последующего бодрствования. Все это способствует успешной адаптации в условиях постоянно меняющейся среды [4].

У детей полноценный сон важен для активного функционирования в дневное время и адекватного формирования нейрорегулятивных отношений. Доказано, что из различных параметров сна ключевую роль играют его непрерывность/фрагментация (например, частота переходов из стадии в стадию и время, проведенное в отдельных стадиях сна) [22]. Однако, несмотря на очевидность этой ассоциации, данные о корреляции между непрерывностью/фрагментацией сна и формированием когнитивных функций являются недостаточными и противоречивыми.

В последнее время внимание ученых сосредоточено на поиске альтернативных ассоциаций между сном и когнитивным функционированием [14]. Наиболее интересным объектом для изучения подобных взаимоотношений оказалась микроструктурная организация сна. Современным методом для оценки микроструктуры сна является анализ циклических альтернатив (ЦА) [31]. ЦА определяются как периодическая ЭЭГ активность во время ФМС, которая отражает процесс поддержания сна и способностью к возбуждению головного мозга, и характеризуется повторными спонтанными последовательностями переходных событий (фаза А) с некоторыми характерными чертами. Они включают в себя: четкий рисунок, который отличается от фонового ритма основной стадий сна; резкое изменение амплитуды; и паттерн, который повторяется с интервалом в 2 мин. Возвращение к фоновой ЭЭГ активности определяет интервал, разделяющий повторяющиеся элементы (например, фаза В). Чередование переходных событий и фоновой электрической активности, скорее всего, является выражением неустойчивости/стабильности возбуждения мозга во время сна. Относительные пропорции медленноволновой активности и быстрыми ЭЭГ ритмами позволяют разделить фазу А ЦА на A1, A2 и A3 подтипы. Подтип A1 характеризуется преобладанием высоковольтных медленных волн (синхронность ЭЭГ), в то время как в подтипе A3 преобладают быстрые низкоамплитудные ритмы (десинхронность ЭЭГ). Подтип A2 представляет собой сочетание медленного и быстрого ЭЭГ ритмов. A1 является самым распространенным подтипом ЦА, обычно занимающим большую часть фазы А во время нормального сна, и возникающим примерно 200–400 раз в течение ночи [31].

Было доказано, что у взрослых вариабельность ЦА связана с нейрорегулятивным функционированием. D. Arico и соавт. [9] выявили, что у 3 из 8 обследуемых

двум здоровых взрослых более высокая частота появления ЦА подтипа А1 коррелировала как с более беглой речью и лучшей оперативной памятью, так и с задержкой воспоминания и узнавания слов; в то время как более высокая частота появления ЦА подтипов А2 и А3 были ассоциированы с худшим визуальным/невербальным представлением. R. Ferri и соавт. [16] изучали влияние микрофрагментации сна на пространственное и избирательное внимание, зрительно-пространственную ориентацию и процессы возбуждения/торможения. Ученые сообщили о некоторых значимых взаимоотношениях, при этом тенденция к более высокой частоте появления ЦА подтипа А1 ассоциирована с лучшим когнитивным функционированием, а более высокая частота появления ЦА подтипа А3 и (в меньшей степени) подтипа А2 ассоциируется с худшим когнитивным функционированием.

У здоровых детей взаимосвязь между ЦА и когнитивным развитием является малоизученной. Между тем, исследования, посвященные поиску ассоциативных связей между особенностями микроструктуры сна и развитием когнитивных функций, позволят значительно расширить представления о значении сна для нейрокогнитивного развития в детском возрасте.

Итальянские ученые провели обследование здоровых детей в возрасте от 3 до 12 лет [14]. Было показано, что, например, способность к рассуждению имеет сильную положительную корреляционную взаимосвязь с ЦА подтипа А1, а подтип А2 положительно коррелировал с пространственным мышлением и оперативной памятью. При этом, сильная отрицательная корреляция была обнаружена между подтипом А3 и развитием речи. При сопоставлении оценок по шкалам нейрокогнитивного развития и стандартных параметров полисомнографии выявлено, что вербальные способности ребенка положительно коррелировали с процентом ФБС к общему времени сна, латенцией к ФБС и индексом реакций ЭЭГ-активаций, и отрицательно коррелировали с количеством пробуждений во время сна и частотой перехода из стадии в стадию. При этом, невербальные способности также положительно коррелировали с процентом ФБС к общему времени сна, латенцией к ФБС.

Учеными также проведен ряд исследований по изучению взаимосвязи уровня интеллекта (IQ) и подтипами ЦА у детей с нарушениями развития. Так, например, была обнаружена положительная корреляционная связь между IQ и ЦА подтипа А1 при синдроме Аспергера и дислексии [12, 13]. У детей с синдромом Мартина – Белл и синдромом Дауна, характеризующихся умственной отсталостью, наблюдалась более низкая частота появления подтипа А1 и высокая частота подтипов А2 и А3 по сравнению с контролем [28]. Также, снижение частоты появления ЦА было выявлено у детей с расстройствами аутистического спектра, преимущественно за счет подтипа А1 [27].

Исследованиями, проведенными в последние годы, была показана роль таких специфических

элементов сна как сонные веретена в консолидации памяти и поддержании некоторых когнитивных функций. Сонные веретена были впервые описаны в середине 30-х годов XX века [26] и являются одним из характерных признаков 2-й стадии ФМС. Как ЭЭГ-феномен, сонные веретена обычно определяются в качестве волн частотой 12–14 Гц и продолжительностью до 3 сек. [15, 32, 34]. Сонные веретена, по мнению ученых, являются маркерами таламокортикальной или гипоталамокортикальной активации и обеспечивают необходимые условия для адекватной работы синапсов и сбора информации для долговременного запоминания [29]. В результате, сонные веретена, вероятно, играют важную роль в консолидации и реорганизации памяти [17, 18, 24, 30]. Доказано, что сонные веретена являются своеобразным маркером интеллектуального развития у взрослых [26], однако, в детской популяции подобные исследования крайне малочисленны. Geiger A. и соавт. провели уникальное исследование по поиску ассоциаций между сонными веретенами и интеллектуальными способностями в детском возрасте [19]. Они обследовали группу здоровых детей 9–12 лет и выявили значимые корреляционные связи между относительной мощностью частоты сигма-ритма в ФМС, IQ и оперативной памятью, при этом пик частоты сонного веретена отрицательно коррелировал с показателями полной шкалы IQ. Однако выявленные взаимосвязи требуют дальнейшего изучения. Идея о том, что сонные веретена являются «физиологическим показателем интеллекта» [18] описывается в современной литературе, и данные, полученные A. Geiger и соавт. дают возможность предположить это может быть первым шагом к развитию устойчивых взаимоотношений в раннем возрасте [35].

По результатам многочисленных исследований доказано, что измененный сон, в целом, вызывает снижение качества жизни, может приводить впоследствии к психическим и неврологическим расстройствам. Реакция вегетативной нервной системы, сопровождающая изменения паттерна сна, в свою очередь, может приводить к патологическому функционированию многих систем в соматической сфере [4, 5]. Так, исследование системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у пациентов с обструктивными нарушениями дыхания во время сна позволило выявить особенности некоторых метаболических реакций, которые могут отражать развитие адаптационно-компенсаторных процессов [23].

О влиянии нарушений сна на умственное развитие детей впервые было сообщено еще в 1889 г. доктором W. Hill в статье «О некоторых причинах отставания у детей»: «Упрямый, отстающий, ленивый ребенок, страдающий частыми головными болями в школе, дышит через рот, а не нос, храпит, беспокоен ночью и просыпается с сухостью во рту утром, заслуживает особого внимания школьного врача». В настоящее время известно, что около 90 % всей патологии во время сна представлено различными видами нарушений дыхания, ярким представителем которых является синдром обструктивного апноэ/

гипопноэ сна (СОА/ГС), характеризующийся обструкцией верхних дыхательных путей, нарушением нормальной вентиляции и газового состава крови. Доказано, что у детей СОА/ГС приводит к нарушению поведения и нейрокогнитивного функционирования [11, 25]. Периодическая гипоксия во время эпизода апноэ/гипопноэ и фрагментация сна рассматриваются в качестве предполагаемых механизмов, лежащих в основе нарушения формирования когнитивных функций [33].

Таким образом, следует сказать, что проблема нарушений сна и их роль в формировании нарушений когнитивного функционирования в детском возрасте является весьма актуальной проблемой практической медицины. Дальнейшее исследование, посвященные изучению ассоциаций микро- и макро-структуры сна с развитием функций высшей нервной деятельности и интеллектуальных способностей ребенка с помощью современных высокотехнологичных методов исследования сна, своевременная профилактика, диагностика и лечение его нарушений позволит предотвратить формирование когнитивных нарушений и в целом повысить интеллектуальный потенциал подрастающего поколения.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Белов А.М. Анализ процесса сна при полисомнографии. – М.: Изд-во ТГТПС, 2000. – 81 с.
2. Белов А.М. Analysis of sleep process at polysomnography. – Moscow: TGTPS, 2000. – 81 p. (in Russian).
3. Вейн А.М. Особенности структуры сна и личности в условиях хронического эмоционального стресса и методы повышения адаптивных возможностей человека // Вестник РАМН. – 2003. – № 4. – С. 13–17.
4. Vein A.M. Features sleep patterns and personality in conditions of chronic emotional stress and methods to increase the adaptive capacity of human // Vestnik RAMN. – 2003. – N 4. – P. 13–17. (in Russian)
5. Ковальзон В.М. Основы сомнологии: физиология и нейрохимия цикла «бодрствование – сон». – М.: Изд-во «Бином. Лаборатория знаний», 2011. – 239 с.
6. Kovalzon V.M. Basics of somnology: physiology and neurochemistry of the sleep-wake cycle. – Moscow: Binom. Laboratory of Knowledge, 2011. – 239 p. (in Russian)
7. Ковров Г.В. Стресс и сон у человека. – М.: Нейро Медиа, 2004. – 96 с.
8. Kovrov G.V. Stress and human sleep. – Moscow: Neuro Media, 2004. – 96 p. (in Russian)
9. Мадаева И.М., Шевырталова О.Н., Мадаев В.В. Применение доксиламина при инсомнии у пациентов с артериальной гипертензией // Consilium Medicum. – 2009. – Т. 11, № 9. – С. 69–72.
10. Madaeva I.M., Shevyrtalova O.N., Madaev V.V. Application of doxylamine in insomnic patients with hypertension // Consilium Medicum. – 2009. – Vol. 11, N 9. – P. 69–72. (in Russian)
11. Покровский В.И., Бочков Н.П., Кулаков В.И. Мозг. Теоретические и клинические аспекты. – М.: Медицина, 2003. – 510 с.
12. Pokrovsky V.I., Bochkov N.P., Kulakov V.I. Brain. Theoretical and clinical aspects. – Moscow: Medicine, 2003. – 510 p. (in Russian)
13. Покровский В.М., Коротко Г.Ф. Физиология человека: Учебник. – М.: Медицина, 2011. – 664 с.
14. Pokrovsky V.M., Korot'ko G.F. Human physiology: Tutorial. – Moscow: Medicine, 2011. – 664 p. (in Russian)
15. Судаков К.В. Физиология функциональных систем: Учебное пособие. – Иркутск: Изд-во Иркут. ун-та, 1997. – 516 с.
16. Sudakov K.V. Physiology of functional systems: Textbook. – Irkutsk: Irk. Univ. Press, 1997. – 516 p. (in Russian)
17. Aricò D., Drago V., Foster P.S., Heilman K.M. et al. Effects of NREM sleep instability on cognitive processing // Sleep Med. – 2010. – Vol. 11. – P. 791–798.
18. Bixler E.O., Vgontzas A.N., Lin H.M. et al. Blood pressure associated with sleep-disordered breathing in a population sample of children // Hypertension. – 2008. – Vol. 52. – P. 841–846.
19. Blunden S., Lushington K., Kennedy D., Martin J. et al. Behavior and neurocognitive performance in children aged 5–10 years who snore compared to controls // J. Clin. Exp. Neuropsychol. – 2000. – Vol. 22. – P. 554–568.
20. Bruni O., Ferri R., Vittori E. et al. Sleep architecture and NREM alterations in children and adolescents with Asperger syndrome // Sleep. – 2007. – Vol. 30. – P. 1577–1585.
21. Bruni O., Ferri R., Novelli L. et al. Slow EEG amplitude oscillations during NREM sleep and reading disabilities in children with dyslexia // Dev. Neuropsychol. – 2009. – Vol. 34. – P. 539–551.
22. Bruni O., Kohler M., Novelli L., Kennedy D. et al. The role of NREM sleep instability in child cognitive performance // Sleep. – 2012. – Vol. 35 (5). – P. 649–656.
23. De Gennaro L., Ferrara M. Sleep spindles: an overview // Sleep Medicine Reviews. – 2003. – Vol. 7. – P. 423–440.
24. Ferri R., Drago V., Aricò D. et al. The effects of experimental sleep fragmentation on cognitive processing // Sleep Med. – 2010. – Vol. 11. – P. 378–385.
25. Fogel S.M., Smith C.T. Learning-dependent changes in sleep spindles and Stage 2 sleep // J. Sleep Res. – 2006. – Vol. 15. – P. 250–255.
26. Fogel S.M., Smith C.T. The function of the sleep spindle: a physiological index of intelligence and a mechanism for sleep-dependent memory consolidation // Neurosci. Biobehav. Rev. – 2011. – Vol. 35. – P. 1154–1165.
27. Geiger A., Huber R., Kurth S. et al. The sleep EEG as a marker of intellectual ability in school age children // Sleep. – 2011. – Vol. 34. – P. 181–189.
28. Jan B. An Integrated Health-Economic Analysis of Diagnostic and Therapeutic Strategies in the Treatment of Moderate-to-Severe Obstructive Sleep Apnea // Sleep. – 2011. – Vol. 34 (6). – P. 695–709.
29. Jouvet M. The Paradox of sleep // Sleep. – 1994. – Vol. 17 (8). – P. S77–S83.
30. Kheirandish L., Gozal D. Neurocognitive dysfunction in children with sleep disorders // Dev. Sci. – 2006. – Vol. 9. – P. 388–399.
31. Kolesnikova L.I., Madaeva I.M., Semenova N.V., Vlasov B.Y. et al. Antioxidant potential of the blood in men

with obstructive sleep breathing disorders // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2013. – Vol. 154, N 6. – P. 731–733.

24. Landsness E.C., Domenica Crupi D., Hulse B.K. et al. Sleep-dependent improvement in visuomotor learning: a causal role for slow waves // *Sleep*. – 2009. – Vol. 32. – P. 1273–1284.

25. Lewin D.S., Rosen R.C., England S.J., Dahl R.E. Preliminary evidence of behavioral and cognitive sequelae of obstructive sleep apnea in children // *Sleep Med.* – 2002. – Vol. 3. – P. 5–13.

26. Loomis A.L., Harvey E.N., Hobart G. Potential rhythms of the cerebral cortex during sleep // *Science*. – 1935. – Vol. 81. – P. 597–598.

27. Miano S., Bruni O., Elia M. et al. Sleep in children with autistic spectrum disorder: a questionnaire and polysomnographic study // *Sleep Med.* – 2007. – Vol. 9. – P. 64–70.

28. Miano S., Bruni O., Elia M. et al. Sleep phenotypes of intellectual disability: a polysomnographic evaluation in subjects with Down syndrome and Fragile-X syndrome // *Clin. Neurophysiol.* – 2008. – Vol. 119. – P. 1242–1247.

29. Morin A., Doyon J., Dostie V. et al. Motor sequence learning increases sleep spindles and fast frequencies in

post-training sleep // *Sleep*. – 2008. – Vol. 31. – P. 1149–1156.

30. Nishida M., Walker M.P. Daytime naps, motor memory consolidation and regionally specific sleep spindles // *PLoS ONE*. – 2007. – Vol. 2. – P. 1–7.

31. Parrino L., Ferri R., Bruni O., Terzano M.G. Cyclic alternating pattern: The marker of sleep instability // *Sleep Med. Rev.* – 2012. – Vol. 16 (1). – P. 27–45.

32. Rechtschaffen A., Kales A. A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. – Los Angeles: BIS/BRI, 1968.

33. Row B.W., Kheirandish L., Neville J.J., Gozal D. Impaired spatial learning and hyperactivity in developing rats exposed to intermittent hypoxia // *Pediatr. Res.* – 2002. – Vol. 52. – P. 449–453.

34. Tamminen J., Payne J.D., Stickgold R., Wamsley E.J., Gaskell M.G. Sleep spindle activity is associated with the integration of new memories and existing knowledge // *J. Neurosci.* – 2010. – Vol. 30. – P. 1456–1460.

35. Tucker A.M. The prospects for enhancing sleep across the lifespan // *Sleep*. – 2011. – Vol. 34. – P. 135–136.

Сведения об авторах

Бердина Ольга Николаевна – кандидат медицинских наук, ученый секретарь Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН, врач Сомнологического центра Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-76-36; e-mail: goodnight_84@mail.ru)

Information about the authors

Berdina Olga Nikolaevna – Candidate of Medical Sciences, Scientific Secretary of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS, doctor of Somnological Center of Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAS (664003, Irkutsk, ul. Timiryazeva, 16; tel.: +7 (3952) 20-76-36; e-mail: goodnight_84@mail.ru)

УДК 616-001(091):616.718.1-001.5

З.В. Кошкарёва¹, В.А. Сороковиков^{1, 2}, М.А. Макарова¹

ВКЛАД Т.Д. ЗЫРЯНОВОЙ В ИЗУЧЕНИЕ ПРОБЛЕМЫ ПОВРЕЖДЕНИЙ КОСТЕЙ ТАЗА И СОПУТСТВУЮЩИХ ОСЛОЖНЕНИЙ

¹ Иркутский научный центр хирургии и травматологии (Иркутск)

² Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования (Иркутск)

В работе представлены результаты научных фундаментально-прикладных исследований Татьяны Дмитриевны Зыряновой по проблеме изучения переломов костей таза, вертлужной впадины, осложнённых и неосложнённых повреждением мочевого пузыря, уретры, прямой кишки. Т.Д. Зыряновой изучены и систематизированы вопросы по статистике этой инвалидизирующей патологии, ее клинике и диагностике. Ею определены показания к консервативному и хирургическому лечению того или иного повреждения костей таза и тазового пояса. Определён алгоритм реабилитационных мероприятий после проведенного лечения. Т.Д. Зыряновой и соавторами предложена система транспортной иммобилизации при повреждениях костей таза и сопутствующих повреждениях внутренних органов в полости малого таза.

Ключевые слова: вклад, травматология, ортопедия, переломы, кости таза, эксперимент, диагностика, лечение, механизм травмы

CONTRIBUTION OF T.D. ZYRYANOVA TO THE STUDY OF THE PROBLEM OF PELVIC BONES INJURIES AND ASSOCIATED COMPLICATIONS

Z.V. Koshkareva¹, V.A. Sorokovikov^{1, 2}, M.A. Makarova¹

¹ Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk

² Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk

The article presents the results of scientific fundamental and applies researches of Tatyana Dmitrievna Zyryanova on the problem of study of pelvic bones and coxal cavity fractures complicated and non-complicated with bladder, urethra and rectum injuries. T.D. Zyryanova studied and systematized problems on the statistics of this incapacitating pathology, its clinic and diagnostics. She determined indications for conservative and surgical treatment of certain pelvic bones and pelvic waist injury and an algorithm of rehabilitation measures after the treatment. T.D. Zyryanova and co-authors proposed system of transport immobilization at the injuries of pelvic bones and concomitant injuries of internals of cavity of the lesser pelvis.

Key words: contribution, traumatology, orthopaedics, fractures, pelvic bones, experiment, diagnostics, treatment, trauma mechanism

Изучать проблему повреждений костно-суставных структур тазового пояса и органов в полости малого таза Татьяна Дмитриевна Зырянова начала с 1954 года под руководством д.м.н., профессора М.А. Хелимского на базе Хабаровского травматологического отделения, созданного в 1952 году. Созданное травматологическое отделение, оснащённое новейшей (на тот период) аппаратурой стало филиалом госпитальной хирургической клиники, центром концентрации тяжёлых больных города Хабаровска и Хабаровского края и методическим центром по совершенствованию оказания травматолого-ортопедической помощи пострадавшим с травмами таза, снижению травматизма, инвалидности и смертности. Татьяна Дмитриевна на протяжении всей жизни продолжала изучать начатую проблему своего учителя М.А. Хелимского, который в 1956 г. опубликовал монографию в XIII томе «Опыт отечественной медицины в ВОВ 1941–1945 гг.» об огнестрельных переломах костей таза. За период с 1954 по 1962 гг. Т.Д. Зырянова обследовала, пролечила и проанализировала 172 пострадавших с травмами костно-суставных структур тазового пояса и органов

в полости малого таза и сделала очень важные организационные и клинические выводы [2, 7]:

1. Переломы костей таза – тяжёлая травма, которая встречается довольно часто (в 5,6 % случаев переломов костей скелета).
2. Переломы костей таза отмечены в 72,7 % случаев у мужчин и в 27,3 % – у женщин. В 63,9 % случаев повреждения отмечались у лиц в возрасте от 11 до 40 лет, в возрасте до 10 лет – в 12,7 % случаев.
3. Наиболее частой причиной переломов костей таза является «уличная» травма и, в частности, автомобильная (54,4 %), причём переломы правой половины таза встречаются в 3 раза чаще, чем переломы левой половины.
4. Наиболее частый механизм переломов костей таза – это сжатие между двумя движущимися предметами или одним подвижным, а другим – неподвижным (72,7 %).
5. Падение с высоты отмечено в 27,3 % случаев. 87,3 % пациентов доставлены каретой скорой медицинской помощи в течение первых 3 часов после травмы.

Указанные цифры свидетельствуют об удовлетворительной постановке вопроса эвакуации пострадавших в городе Хабаровске того периода времени. Наиболее приемлемой в использовании, по данным Т.Д. Зыряновой, была анатомо-функциональная классификация, но Татьяна Дмитриевна придерживалась классификации, предложенной В.В. Гориневской, с некоторыми изменениями. Татьяна Дмитриевна акцентировала внимание на том факте, что практически важно делить переломы костей таза на не нарушающие и нарушающие целостность тазового кольца. К первым она относила изолированные переломы подвздошной, лобковой, седалищной, крестцовой костей и копчика, включая вертлужную впадину. Ко вторым Татьяна Дмитриевна относила переломы костей переднего отдела тазового кольца (односторонние и двусторонние), передне-задние переломы тазового кольца, одно- или двусторонние (переломы типа Мальгена, Вуаллемье), переломовывихи и вывихи таза, разрывы симфиза. Все эти виды переломов, по её мнению, могут быть неосложнёнными и осложнёнными с повреждением органов малого таза, внутренних органов, переломами других костей скелета. Переломо-вывихи и вывихи таза отнесены ею к группе передне-задних переломов на том основании, что при этих повреждениях нарушается переднее и заднее полукольцо таза с одинаковыми функциональными расстройствами и что указанные повреждения требуют почти однотипного лечения.

Татьяна Дмитриевна в своих работах отмечает, что диагностика переломов костей таза в большинстве случаев не представляет особых трудностей: так, в 91,4 % случаев диагноз был установлен в момент поступления и только у 8,6 % пострадавших диагноз был поставлен после рентгенологического обследования. Для облегчения топической диагностики, помимо общеизвестных симптомов при осложнённых и неосложнённых переломах костей таза, Татьяна Дмитриевна использовала ряд новых симптомов, предложенных М.А. Хелимским: при переломах вертлужной впадины – симптом «болезненности при пальпации области пупартовой связки» на соответствующей стороне, который наблюдался у всех пациентов с повреждениями вертлужной впадины; при переломах лобковой кости – симптом «болей при поднятии верхней половины туловища из горизонтального положения в вертикальное», отмеченный в 66 % случаев; при переломах копчика – симптом «условно-рефлекторного запора».

Повреждения мочеиспускательного канала, мочевого пузыря и прямой кишки при переломах костей таза составили, по данным Т.Д. Зыряновой, 16,2 %. Повреждения уретры уточнялись уретрографией, которая не только отражала анатомические изменения в уретре с точной их локализацией, но и давала возможность судить о степени повреждения окружающих мягких тканей и путях распространения гематомы. Наиболее часто, по данным Татьяны Дмитриевны, при переломах костей таза повреждались простатический и перепончатый отделы мочеиспускательного канала у мужчин. Т.Д. Зырянова утверждала, что лечение переломов костей таза должно быть максимально

активным. Опыт показал, что скелетное вытяжение, применяемое в первые часы после поступления пациента, в сочетании с ранними функциональными методами лечения даёт вполне удовлетворительные анатомические и функциональные результаты. Т.Д. Зырянова отмечала, что хорошее сопоставление смещённых фрагментов таза достигается применением больших грузов уже с первых часов лечения и наложения скелетного вытяжения за надмышечковую область бедра. Внутритазовая анестезия по Школьникову – Селиванову позволяет безболезненное сопоставление смещённых костных фрагментов таза сразу после выведения пациента из шока с применением больших грузов. Разрывы симфиза при значительных смещениях, по данным Т.Д. Зыряновой, должны устраняться оперативным вмешательством. Татьяна Дмитриевна заключает, что раннее оперативное вмешательство при повреждениях мочеиспускательного канала, мочевого пузыря и прямой кишки в сочетании с антибиотикотерапией в послеоперационном периоде значительно снижает количество осложнений и предупреждает летальный исход. При повреждениях мочеиспускательного канала высокое сечение мочевого пузыря с проведением постоянного катетера без ушивания разрыва уретры обеспечивает благоприятное течение и удовлетворительные результаты.

При изучении отдалённых результатов лечения пациентов Т.Д. Зырянова отмечает, что полное восстановление трудоспособности было с неосложнёнными переломами костей таза, и эти пациенты подлежали переводу на облегчённый труд сроком до 3 месяцев с момента выписки из стационара. Пациенты с осложнёнными переломами костей таза требовали длительного лечения и подлежали переводу на временную инвалидность с одновременным продолжающимся реабилитационным лечением. Татьяна Дмитриевна считала, что нужно шире ставить показания к лечебной физической культуре и санаторно-курортному лечению при переломах костей таза в период выздоровления и что наиболее благоприятными для курортного лечения являются сроки 3–8 месяцев после травмы.

Анализ причин переломов костей таза позволил сделать вывод, что снижение травматизма от автомобильного транспорта возможно при соблюдении правил уличного движения, хорошем содержании мостовых, благоустройстве улиц, при введении одностороннего движения автомобильного транспорта на наиболее напряжённых магистралях городов, с вовлечением в борьбу с травматизмом широкой массовой общественности. Татьяна Дмитриевна отмечает, что при производственных травмах костей таза и содержащихся в нём органов мерами профилактики являлись: соблюдение правил по технике безопасности и законов по охране труда работающих на промышленных предприятиях и учреждениях Советского Союза.

В 1962 г. Т.Д. Зыряновой в Иркутском государственном медицинском институте защищена диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук на тему «Переломы костей таза и осложнения при них». На протяжении последующих 10 лет (до 1972 года) Татьяна Дмитриевна более углубленно

на фундаментальном уровне занималась изучением переломов костей таза под руководством научного консультанта чл.-корр. АМН СССР, Заслуженного деятеля науки, проф. М.В. Волкова. Профессор Т.Д. Зырянова изучала в эксперименте механизмы травм таза с целью определения механической прочности тазового кольца, его среднего предела прочности величины упругой деформации, равнопрочность тазовых костей и фиксирующего материала при его использовании в клинической практике. С 1962 по 1972 гг. ею лично обследовано, пролечено и проанализировано 506 больных. Профессором Т.Д. Зыряновой изучались вопросы механизма травмы, клиники, диагностики осложненных и неосложненных переломов костей таза. Она также изучала вопросы по определению четких показаний и противопоказаний к консервативным и хирургическим методам лечения пациентов при этой патологии, а также ею изыскивались пути к достижению оптимальных результатов реабилитации, особенно при сочетанных повреждениях. Автором впервые поставлено 4 серии опытов с использованием испытательной установки (гидравлическая машина типа УГ-20/2 в системе Дементьева). В опытах использовались кости таза и связочный аппарат, взятые от трупов умерших людей в возрасте от 30 до 45 лет. В своих научных трудах Татьяна Дмитриевна Зырянова продолжала отмечать, что диагностика переломов костей таза в большинстве случаев не представляет особых трудностей и должна быть основана на изучении механизма травмы, общего состояния пациента и ряда симптомов, характерных для повреждения различных локализаций тазового кольца. Экспериментальные исследования Татьяны Дмитриевны по изучению биомеханических свойств костей таза доказали следующее: переломы возникают под действием на тазовое кольцо максимальной нагрузки более 400 кг, а на отдельные кости таза – более 800 кг; наиболее частой локализацией переломов является переднее полукольцо таза (лобковая и седалищная кости), при этом внутренние волокна лонного сочленения повреждаются в 100 % случаев; во всех случаях переломов костей таза возникают его деформации (упругие и остаточные), причем преобладают упругие деформации.

Автор повторно констатирует, что лечение переломов костей таза должно быть максимально активным и направленным на восстановление анатомических взаимоотношений костей тазового кольца. Т.Д. Зырянова отмечает, что показаниями к одномоментной репозиции костей таза должны являться переломы со значительным нарушением целостности тазового кольца (закрытые и открытые как односторонние, так и двусторонние переломы таза Мальгенья, Вуаллемье); односторонние переломы Мальгенья и Вуаллемье, сочетающиеся с переломами лобковой и седалищной кости с противоположной стороны; открытые и закрытые переломовывихи костей таза; переломы вертлужной впадины со значительным смещением отломков, осложненные вывихами бедра. Показаниями к оперативному восстановлению целостности тазового кольца, по её мнению, должны являться: открытые и закрытые переломовывихи таза, переломы типа Мальгенья и Вуаллемье, которые невозможно устранить

одномоментной репозицией; переломы типа Мальгенья и Вуаллемье, сочетающиеся с разрывом симфиза; разрывы симфиза, сочетающиеся с переломами других костей таза, осложненные повреждениями уретры и мочевого пузыря; множественные переломы костей таза в сочетании с разрывом симфиза; рефрактуры переломовывихов костей таза; переломы вертлужной впадины с неустранёнными вывихами бедра или сегментами костной основы впадины. По мнению автора, одномоментная репозиция и оперативное восстановление целостности тазового кольца должны проводиться в как можно более ранние сроки после выведения больного из шока – на 2–3-и сутки после травмы. Лучшими методами фиксации симфиза, по данным Т.Д. Зыряновой, можно считать две проволоочные лигатуры, проведенные через лобковые кости на расстоянии не менее 1,0–1,5 см от сочленяющихся поверхностей лонных костей, и металлические пластинки-фиксаторы, закрепленные через горизонтальные ветви лобковых костей. Как считала автор, раннее оперативное вмешательство при повреждениях уретры, мочевого пузыря, прямой кишки в сочетании с антибиотикотерапией в послеоперационном периоде предупреждает осложнения и снижает количество летальных исходов. По данным отдаленных результатов, Татьяна Дмитриевна отмечала, что лучшие анатомические и функциональные результаты получены при оперативном лечении переломов костей таза. Оперативное восстановление целостности тазового кольца позволяет снизить инвалидность и значительно уменьшить сроки возвращения пострадавшего к труду. Автор считала, что для достижения оптимальных результатов реабилитации пациентов с множественными переломами костей таза, особенно осложненными повреждениями мочевыводящих путей, необходима совместная работа травматологов, невропатологов и урологов, а лечебная гимнастика, физиотерапия, курортное лечение должны проводиться до полного выздоровления.

Итогом десятилетней работы была защита Т.Д. Зыряновой в 1972 г. во Втором Московском Ордене Ленина государственном медицинском институте имени Н.И. Пирогова диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук [3].

В последующие годы, занимая пост директора иркутского НИИТО и заведующей кафедрой травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии Иркутского государственного медицинского института, Татьяна Дмитриевна со своими учениками продолжала заниматься изучением повреждений костей таза и тазового пояса [9, 12]. Являясь научным руководителем диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук Б.Э. Мункожаргалова, ей совместно с соискателем было доказано, что последствия переломов вертлужной впадины – это совокупность первичных травматических изменений в вертлужной впадине и вторичных дегенеративно-дистрофических изменений в тазобедренном суставе, обуславливающих болевой синдром и нарушения статодинамической функции поврежденной конечности. Вероятность развития последствий переломов вертлужной впадины, по их данным, зависит от сроков установки диагноза, типа перелома и тяжести сопутствующей травмы,

адекватности лечебной тактики от сроков начала статодинамической функции тазобедренного сустава и повреждённой конечности. Как отмечают авторы, первичные изменения в вертлужной впадине преобладают при краевых переломах. Остаточные смещения головки бедра отмечены у 54,4 % пациентов с последствиями переломов вертлужной впадины. Вторичные изменения в тазобедренном суставе, по их данным, чаще развиваются при переломах «задний край + поперечный перелом дна вертлужной впадины» – у 83,3 % пациентов. Посттравматический коксартроз выявлен у 56,9 % пациентов, травматический асептический некроз головки бедра – у 42,5 %, травматический неврит седалищного нерва – у 26,3 %, параартикулярные оссификаты тазобедренного сустава – у 15 % пострадавших, травматический неоартроз тазобедренного сустава – у 13,8 % пациентов с последствиями переломов вертлужной впадины. Выраженность клинической картины последствий переломов вертлужной впадины, по данным авторов, связана с типом перелома, характером первичных изменений в вертлужной впадине и вторичных изменений в тазобедренном суставе. На основании анализа данных клинического, рентгенологического, биомеханического и электрофизиологического исследования больных с последствиями переломов вертлужной впадины с позиций этиопатогенетического подхода Татьяной Дмитриевной со ее учеником была предложена классификация последствий переломов вертлужной впадины. Тактика раннего восстановительного лечения пострадавших с последствиями переломов вертлужной впадины, основывающаяся на этиопатогенетическом подходе, позволила авторам улучшить результаты лечения. Предотвращённый экономический ущерб, по их данным, составил 20252,6 рублей (на тот период времени) на одного пациента. Тактика лечения пострадавших со свежими переломами вертлужной впадины, направленная на профилактику последствий, позволила улучшить результаты лечения, а предотвращённый экономический ущерб составил 25087,1 рублей на одного пациента.

К научным исследованиям фундаментально-прикладного характера 80–90-х гг. XX в. государством предъявлялись большие требования в плане экономической эффективности предлагаемых новых способов диагностики, лечения пострадавших и дальнейшего прогнозирования с обязательными экономическими расчетами.

Татьяна Дмитриевна со своими учениками – к.м.н. С.С. Сергеевым, к.м.н. З.В. Кошкарёвой и к.м.н. А.Н. Устюговым – на протяжении 10 лет вплотную занимались транспортной иммобилизацией при повреждениях опорно-двигательного аппарата, где большой раздел научных изысканий был направлен на совершенствование транспортной иммобилизации при повреждениях костей таза. Было получено более 70 патентов. Созданная система транспортной иммобилизации была востребована службами чрезвычайных ситуаций, медициной катастроф и военными организациями [9, 10, 13, 14, 15].

В диссертационной работе к.м.н. З.В. Кошкарёвой (научный руководитель – профессор Т.Д. Зырянова) было акцентировано внимание на том, что при ком-

прессионных внутрисуставных оскольчатых переломах пяточной кости при падении с высоты в 18,3 % случаев встречаются переломы костей таза той или иной степени тяжести [6, 7, 8, 11].

С развитием в НИИТО нового направления – чрескостного остеосинтеза – в 70–80-е годы XX в. под руководством Т.Д. Зыряновой и с её соавторством был предложен ряд аппаратов чрескостного остеосинтеза и их компоновок при повреждениях костей таза (Р.Е. Житницкий, Д.Г. Шапурма, В.Г. Виноградов, С.С. Сергеев). Развитие этого перспективного направления в НИИТО было в последующем продолжено профессором А.П. Барабашом и д.м.н. Л.Н. Соломиным.

Остаются и сегодня востребованными многие положения, высказанные профессором Т.Д. Зыряновой, о необходимости активной тактики лечения пациентов с переломом костей таза и нарушением непрерывности тазового кольца, переломов вертлужной впадины при свежей травме [1].

Таким образом, Т.Д. Зырянова была одной из основоположниц изучения, развития и совершенствования нового перспективного направления в травматологии и ортопедии по проблеме повреждений костей таза, вертлужной впадины и органов в полости малого таза. Разработанные и внедренные клинко-диагностические подходы в лечении пострадавших с тяжёлыми переломами костей таза (осложненные и неосложненные), новые оперативные методы лечения сочетанных повреждений мочевого пузыря, уретры и прямой кишки востребованы до настоящего времени и широко применяются травматологами и ортопедами.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Борозда И.В. Конструкции для репозиции и фиксации переломов костей таза (экспериментально-клиническое исследование): автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Иркутск, 2000. – 17 с.
Borozda I.V. Constructions for reposition and fixation of pelvic bones fractures (experimental and clinical research): abstract of dissertation of Candidate of Medical Sciences. – Irkutsk, 2000. – 17 p. (in Russian)
2. Зырянова Т.Д. Переломы костей таза и осложнения при них: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Иркутск, 1969. – 20 с.
Zyryanova T.D. Pelvic bones fractures and their complications: abstract of dissertation of Candidate of Medical Sciences. – Irkutsk, 1969. – 20 p. (in Russian)
3. Зырянова Т.Д. Лечение переломов костей таза: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 1972. – 34 с.
Zyryanova T.D. Treatment of pelvic bones fractures: abstract of dissertation of Doctor of Medical Sciences. – Moscow 1972. – 34 p. (in Russian)
4. Зырянова Т.Д., Кошкарёва З.В. Итоги семилетней работы и направления научных исследований ИТО в системе АМН // Травматология и ортопедия России. – 1995. – № 4. – С. 9–13.
Zyryanova T.D., Koshkareva Z.V. Results of seven-year work and directions of scientific researches of Institute of Traumatology and Orthopaedics in the system of Academy of Medical Sciences // *Travmatologija i ortopedija Rossii*. – 1995. – N 4. – P. 9–13. (in Russian)

5. Зырянова Т.Д., Кошкарёва З.В., Калинина С.А., Харламова Р.Н. и др. Пятьдесят лет Иркутскому институту травматологии и ортопедии // Травматология и ортопедия России. – 1995. – № 4. – С. 5–8.

Zyryanova T.D., Koshkareva Z.V., Kalinina S.A., Kharlamova R.N. et al. 50 years of Irkutsk Institute of Traumatology and Orthopaedics // *Travmatologija i ortopedija Rossii*. – 1995. – N 4. – P. 5–8. (in Russian)

6. Кошкарёва З.В. Лечение переломов пяточной кости и их последствий: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Иркутск, 1979. – 24 с.

Koshkareva Z.V. Treatment of calcaneal bone fractures and their consequences: abstract of dissertation of Candidate of Medical Sciences. – Irkutsk, 1979. – 24 p. (in Russian)

7. Кошкарёва З.В., Белоусова Т.А. «Её величество ортопедия» в Иркутском институте травматологии и ортопедии // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2006. – № 4. – С. 367–369.

Koshkareva Z.V., Belousova T.A. "Her grace orthopaedics" in Irkutsk Institute of Traumatology and Orthopaedics // *Bjul. VSNC SO RAMN*. – 2006. – N 4. – P. 367–369. (in Russian)

8. Кошкарёва З.В., Житницкий Р.Е. Модификация подтаранного артродеза стопы в лечении поврежденных таранной и пяточной костей // Ортопедия, травматология и протезирование. – 1978. – № 3. – С. 70–72.

Koshkareva Z.V., Zhitnitskiy R.E. Modification of subtalar arthrodesis of foot in the treatment of injuries of ankle and calcaneal bones // *Ortopedija, travmatologija i protezirovanie*. – 1978. – N 3. – S. 70–72. (in Russian)

9. Кошкарёва З.В., Сергеев С.С., Сидорова Г.В. Транспортная иммобилизация повреждений костей предплечья у пострадавших с множественной и сочетанной травмой // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 1993. – № 2. – С. 75–77.

Koshkareva Z.V., Sergeev S.S., Sidorova G.V. Transport immobilization of injuries of forearm bones in patient with multiple and concomitant trauma // *Bjul. VSNC SO RAMN*. – 1993. – N 2. – P. 75–77. (in Russian)

10. Кошкарёва З.В., Сороковиков В.А., Зырянова Т.Д., Балагурова Г.Г. Опыт Иркутского института травматологии и ортопедии в организации и совершенствовании травматолого-ортопедической службы региона и профилактике травматизма // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2006. – № 4. – С. 362–366.

Koshkareva Z.V., Sorokovikov V.A., Zyryanova T.D., Balagurova G.G. Experience of Irkutsk Institute of Traumatology and Orthopaedics in organization and

improvement of traumatological and orthopedic care of the region and in the accidents prevention // *Bjul. VSNC SO RAMN*. – 2006. – N 4. – P. 362–366. (in Russian)

11. Кошкарёва З.В., Шендеров В.А., Зырянова Т.Д., Калинина С.А. и др. Иркутскому институту травматологии и ортопедии 55 лет // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2001. – № 5. – С. 7–11.

Koshkareva Z.V., Shenderov V.A., Zyryanova T.D., Kalinina S.A. et al. To the 55th anniversary of Irkutsk Institute of Traumatology and Orthopaedics // *Bjul. VSNC SO RAMN*. – 2001. – N 5. – P. 7–11. (in Russian)

12. Мункожаргалов Б.Э. Ортопедические последствия переломов вертлужной впадины (клиника, лечение и профилактика): автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Иркутск, 1992. – 26 с.

Munkozhargalov B.E. Orthopedic consequences of coxal cavity fractures (clinic, treatment and prevention): abstract of dissertation of Candidate of Medical Sciences. – Irkutsk, 1992. – 26 p. (in Russian)

13. Устюгов А.Н. Оптимизация иммобилизационных мероприятий пострадавших с повреждением опорно-двигательной системы при чрезвычайных ситуациях: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Иркутск, 2005. – 22 с.

Ustyugov A.N. Optimization of immobilization measures in patients with injuries of supporting-motor system at the emergencies: abstract of dissertation of Candidate of Medical Sciences. – Irkutsk, 2005. – 22 p. (in Russian)

14. Устюгов А.Н., Чижов А.М., Тетьев И.Г. Алгоритм иммобилизационной программы пострадавшим с повреждением опорно-двигательной системы при чрезвычайных ситуациях крупномасштабных катастроф: метод. рек. – Иркутск, 1992. – 24 с.

Ustyugov A.N., Chizhov A.M., Tetjev I.G. Algorithms of immobilization program for the patients with injuries of supporting-motor system at the emergencies of major accidents: guidelines. – Irkutsk, 1992. – 24 p. (in Russian)

15. Чижов А.М., Сергеев С.С., Исаак С.А., Кошкарёва З.В. Совершенствование транспортной иммобилизации при повреждении костей предплечья: новые конструкции транспортных шин // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 1999. – Т. 1, № 1. – С. 48–51.

Chizhov A.M., Sergeev S.S., Isaac S.A., Koshkareva Z.V. Improvement of transport immobilization at the injuries of forearm bones: new constructions of transport frames // *Bjul. VSNC SO RAMN*. – 1999. – Vol. 1, N 1. – P. 48–51. (in Russian)

Сведения об авторах

Кошкарёва Зинаида Васильевна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник Иркутского научного центра хирургии и травматологии (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1; тел.: 8 (3952) 29-03-51; e-mail: scrrs.irk@gmail.com)

Сороковиков Владимир Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора Иркутского научного центра хирургии и травматологии по научной работе, заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и нейрохирургии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования

Макарова Маргарита Арсентьевна – заведующая научно-учебно-организационным отделом Иркутского научного центра хирургии и травматологии

Information about the authors

Koshkareva Zinaida Vasilyevna – Candidate of Medical Sciences, Leading Research Officer of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology (664003, Irkutsk, ul. Bortsov Revolyutsii, 1; tel.: +7 (3952) 29-03-51; e-mail: scrrs.irk@gmail.com)

Sorokovikov Vladimir Alekseevich – Doctor of Medical Sciences, Professor Deputy Director for Science of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Head of the Department of Traumatology, Orthopaedics and Neurosurgery of Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education

Makarova Margarita Arsenyevna – Head of the Scientific, Training and Organizational Department of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology

РАЗНОЕ

УДК 616-092.11[523.9+550.3]

А.А. Баженов, А.С. Аверина, М.В. Прикоп

ВЛИЯНИЕ ГЕЛИОГЕОФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА

Иркутский государственный университет (Иркутск)

Целью данной работы является выявление связи между уровнем геомагнитной активности и количеством вызовов «скорой помощи» при заболеваниях сердечно-сосудистой системы. Материалом для анализа послужили данные количества вызовов «скорой помощи» в городе Иркутске за 8 лет (2001–2004, 2007–2010 гг.). Всего было проанализировано 1460 дней, 8942 случая ОИМ и 1953 случая инфаркта мозга. Наблюдается достоверная положительная корреляция между частотой (количеством) вызовов скорой помощи по поводу острой сосудистой патологии (инфаркт миокарда, инфаркт мозга) и Кр-индексом за все годы исследования.

Ключевые слова: геомагнитная активность, инфаркт миокарда, инфаркт мозга

INFLUENCE OF HELIOGEOPHYSICAL FACTORS ON HUMAN HEALTH

A.A. Bazhenov, A.S. Averina, M.V. Prikop

Irkutsk State University, Irkutsk

The purpose of this work is the development of the connection between a level of geomagnetic activity and a quantity of emergency calls for cardiovascular diseases. To perform the study we analyzed data on the quantity of emergency calls in Irkutsk during 8 years period (2001–2004, 2007–2010). In total we analyzed 1460 days, 8942 cases of acute myocardial infarction and 1953 cases of intra-cerebral hemorrhage. There is a significant positive correlation between the number of ambulance calls for acute vascular pathology (myocardial infarction, intracerebral hemorrhage) and the Kp index over all years of study.

Key words: geomagnetic activity, myocardial infarction, intracerebral hemorrhage

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время имеется большое количество фактов указывающих на то, что многие явления: от биохимических процессов внутри клетки до событий, происходящих на популяционном уровне, связаны с гелиогеофизическими факторами [2, 3]. И человеческий организм не является исключением. Проблема связи здоровья человека с геомагнитной и солнечной активностью обсуждается в научной литературе давно. О наличии такой связи свидетельствует множество публикации, как статистического характера, так и целенаправленных экспериментальных наблюдений [1, 12]. В то же время в данной области исследования остается ряд нерешенных вопросов, от механизмов влияния до учета характеристик, сопровождающих и вызывающих усиление действия гелиогеофизических факторов на здоровье человека. Поэтому продолжение исследований, в частности в разные временные периоды, в различных географических, природных условиях и т.д., представляются достаточно актуальными.

Изучение влияния гелиогеофизических факторов на весь комплекс систем организма, или даже всех показателей в конкретной системе организма в силу его сложности и многоплановости, представляется довольно трудоемким. Это требует от исследователя в рамках конкретной работы выбора ограниченного количества параметров, как в сфере возможных

действующих факторов, так и в сфере изучаемой системы. Выбор в качестве объекта исследований заболеваний сердечно-сосудистой системы и их связи с гелиогеофизическими факторами в данной работе связан с рядом причин. Одной из них является то, что сердечно-сосудистые заболевания, их профилактика, предупреждение, выявление факторов, усиливающих их возникновение, и т.д. представляют на сегодняшний день огромную проблему в связи с их значительной распространенностью и высокой летальностью [9]. Результаты некоторых исследований позволяют предположить, что наряду с нервной системой, наиболее чувствительной к влиянию гелиогеофизических факторов системой организма является сердечно-сосудистая система [6, 12]. В то же время подобные исследования на территории Восточной Сибири, для которой характерна высокая и продолжительная солнечная активность, практически не проводятся.

Целью данной работы является выявление связи между изменением параметров гелиогеофизических факторов и динамикой количества вызовов скорой помощи в г. Иркутске по диагнозу острый инфаркт миокарда и инфаркт мозга.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для анализа послужили ежедневные данные количества выездов «скорой помощи» в г. Ир-

кутске по диагнозам «острый инфаркт миокарда» (ОИМ) и «инфаркт мозга» за периоды 2001–2004 и с 2007–2010 гг. Данные выездов «скорой помощи» были получены в Иркутской городской станции «скорой помощи». Всего проанализировано 1460 дней, 8942 случая ОИМ и 1953 случая инфаркта мозга. На основе этих данных были построены временные ряды динамики количества выездов «скорой помощи», которые сравнивали с индексами солнечной (СА) и геомагнитной активности (ГМА), а также различными метеопараметрами (атмосферное давление, относительная влажность воздуха, температура воздуха).

В качестве индексов, характеризующих СА, использовались: числа Вольфа (W) – показатель относительного количества солнечных пятен; F 10,7 – поток радиоизлучения на длине волны 10,7 см (частота 2800 МГц). В качестве индексов, характеризующих ГМА, использованы следующие: Кр-индекс – усредненный планетарный индекс ГМА, являющийся мерой изменчивости магнитного поля Земли; Ар-индекс – планетарный индекс, представляющий среднее значение вариации магнитного поля Земли [3, 7].

Сведения об уровне СА и ГМА были получены из базы данных Центра прогнозирования космической погоды при Национальном управлении по исследованию океанов и атмосферы (NOAA), США находящейся в свободном доступе. Метеорологические показатели были предоставлены Управлением гидрометеорологической службы г. Иркутска.

Анализ данных количества выездов «скорой помощи» по диагнозам ОИМ и «инфаркт мозга» и их связи с комплексом гелиогеофизических факторов проводился как в масштабе всего исследуемого периода (семи лет), так и в отношении каждого года в отдельности, а также сезонов года. Необходимо

отметить, что в связи с влиянием социальных факторов на количество выездов «скорой помощи» (праздничные дни, периодичность, связанная с днями недели, и т.д.) [5, 11] была предпринята попытка, насколько это возможно, выявить такое влияние и исключить из дальнейшего исследования. Для этого кроме метода визуального анализа с исключением данных был использован метод сглаживания скользящей средней, позволяющий нивелировать ритмику, связанную с днями недели. Дальнейшее сравнение временных рядов динамики количества выездов «скорой помощи» с индексами СА и ГМА проводилось методами корреляционного и кросскорреляционного анализа с использованием компьютерной программы STATGRAPHICS Plus.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Острый инфаркт миокарда

Для анализа связи между количеством вызовов «скорой помощи» по диагнозу ОИМ и гелиогеофизическими факторами использовались данные за период 2001–2004 гг. и 2007–2010 гг. (рис. 1).

Достоверной корреляционной связи между количеством выездов «скорой медицинской помощи» по диагнозу ОИМ, потоком радиоизлучения на волне 10,7 и числами Вольфа не обнаружено. Результаты корреляционного анализа выездов «скорой помощи» с Кр-индексом включали коэффициенты корреляции, как за каждый год, так и по сезонам года. Из результатов, представленных в таблице 1, следует, что достоверные коэффициенты корреляции между количеством выездов «скорой помощи» по диагнозам ОИМ и индексом геомагнитной активности, за исключением 2002 и 2008 гг., характерны для всех остальных анализируемых периодов, с уровнем значимости $p < 0,05$. При этом нужно отметить, что распределение достоверных коэффициентов корреляции в зависимо-

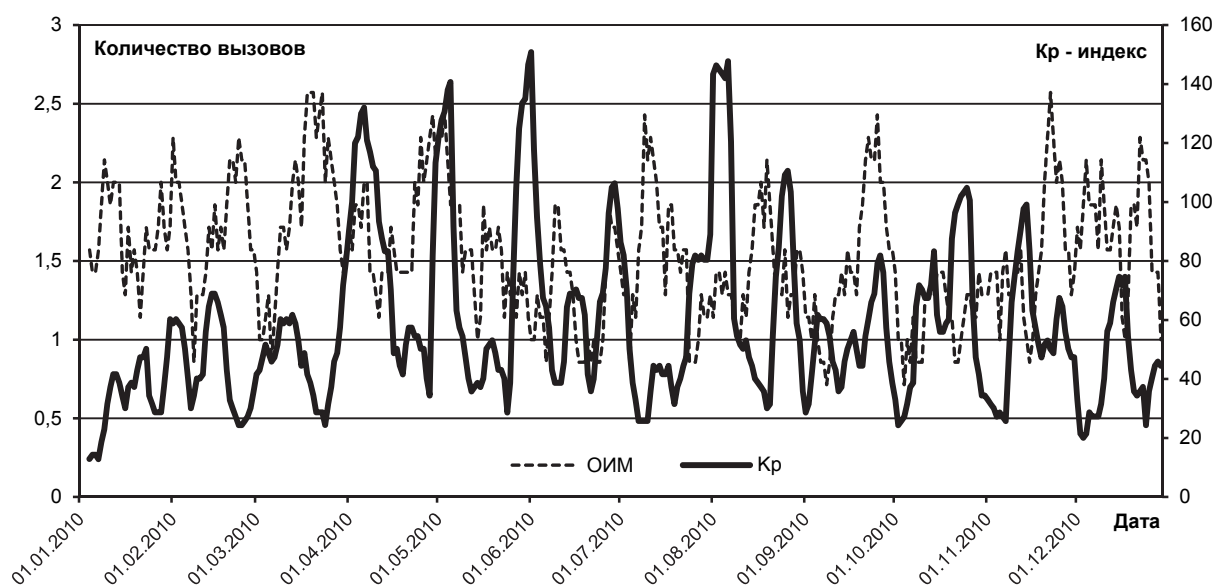


Рис. 1. Динамика количества выездов «скорой помощи» к пациентам с диагнозом «острый инфаркт миокарда» и геомагнитного индекса (Кр-индекса) за 2010 г.

сти от сезонов года неоднородно. Так максимальное количество достоверных положительных коэффициентов корреляции наблюдается в зимний и осенний периоды. В то же время в летний период достоверной корреляционной связи не наблюдали, поскольку организм, в том числе и сердечно-сосудистая система, с учетом перестроек и вышеуказанных процессов, находится в наиболее неустойчивом состоянии, наложение геомагнитных бурь усиливает степень провокации возникновения ОИМ, что и может объяснять распределение коэффициентов корреляции.

Таблица 1
Коэффициенты корреляции между количеством выездов «скорой помощи» к пациентам с диагнозом «острый инфаркт миокарда» и индексом геомагнитной активности (Кр-индексом)

Годы	Коэффициент корреляции (R)				
	За весь год	зима	весна	лето	осень
2001	0,35*	0,15	0,29*	-0,08	0,20*
2002	0,19	0,19	-0,11	-0,01	0,19
2003	0,25*	0,21*	0,31*	0,09	0,25*
2004	0,24*	0,18*	0,38*	-0,16	0,17
2007	0,21*	0,27*	-0,02	0,03	0,24*
2008	0,19	0,19	0,14	0,19	0,11
2009	0,26*	0,17	-0,02	0,16	0,21*
2010	0,23*	0,20*	0,06	0,05	0,24*

Примечание. * – $p < 0,05$.

Инфаркт мозга

Для анализа связи между количеством вызовов «скорой помощи» пациентам с диагнозом «инфаркт мозга» и гелиогеофизическими факторами использовались данные за период 2001–2004 и 2007–2010 гг. (рис. 2).

Достоверной корреляционной связи между количеством выездов «скорой медицинской помощи» по диагнозу «инфаркт мозга», потоком радиоизлучения на волне 10,7 и числами Вольфа обнаружено не было. Из результатов корреляционного анализа выездов «скорой помощи» с Кр следует, что достоверные коэффициенты корреляции между количеством выездов «скорой помощи» по диагнозу «инфаркт мозга» и индексом геомагнитной активности (за исключением 2003 г.) имеют положительное достоверное значение, с уровнем значимости $p < 0,05$ (табл. 2). При этом, нужно отметить, что распределение достоверных коэффициентов корреляции в зависимости от сезонов года неоднородно. Максимальное количество достоверных положительных коэффициентов корреляции наблюдали зимой и осенью. Летом и весной достоверные положительные коэффициенты корреляции отсутствовали, в 2003 и 2010 гг. для летнего сезона наблюдали достоверные отрицательные коэффициенты корреляции, в 2002 г. – для весеннего сезона.

Таблица 2
Коэффициенты корреляции между количеством выездов «скорой помощи» к пациентам с диагнозом «внутричерепное кровоизлияние миокарда» и индексом геомагнитной активности (Кр-индексом)

Годы	Коэффициент корреляции (R)				
	За весь год	зима	весна	лето	осень
2001	0,36*	0,13	0,12	-0,11	0,38*
2002	0,22*	0,18	0,17	-0,27*	0,21*
2003	0,19	0,23*	-0,29*	-0,08	0,14
2004	0,35*	0,25*	0,08	0,05	0,38*
2007	0,34*	0,22*	0,05	0,14	0,34*
2009	0,31*	0,23	0,13	0,11	0,30*
2010	0,23*	0,21*	-0,25*	0,19	0,08

Примечание. * – $p < 0,05$.

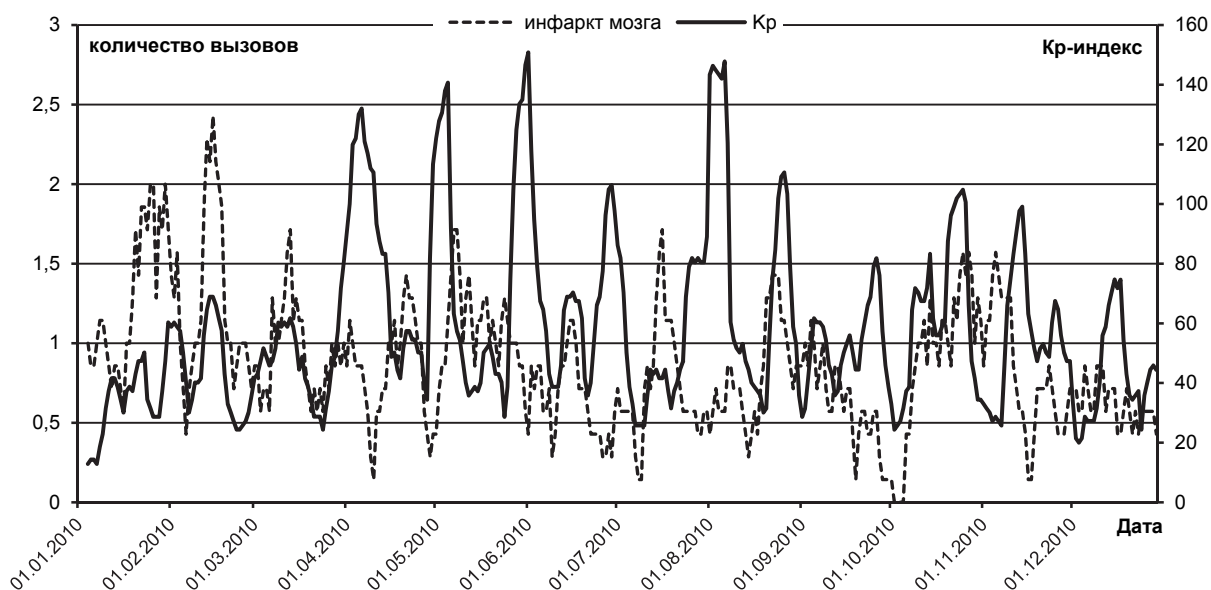


Рис. 2. Динамика количества выездов скорой помощи к пациентам с диагнозом внутричерепное кровоизлияние и геомагнитного индекса (Кр-индекса) за 2010 г.

Сходство в распределении коэффициентов корреляции между количеством выездов «скорой помощи» к пациентам с диагнозами ОИМ и «инфаркт мозга» и изменением геомагнитной активности в зимние и осенние сезоны, возможно является следствием усиления чувствительности организма человека к геомагнитным колебаниям в периоды ухудшения его гомеостатических механизмов. Так, ряд авторов отмечает, что в зимнее время года возрастает опасность возникновения ОИМ в связи с увеличением числа тромбоцитов и повышением активности тромбообразования, угнетением фибринолиза [10, 13]. Кроме того, существует гипотеза о влиянии сезонных вариаций мелатонина, приводящих к неустойчивости организма [8]. Все это дает основание предположить, что в зимнее и осеннее время года во время наиболее сложной метеорологической обстановки, когда организм, в том числе и сердечно-сосудистая система, с учетом перестроенных и вышеуказанных процессов находится в наиболее неустойчивом состоянии, наложение геомагнитных бурь усиливает степень провокации возникновения ОИМ и инфаркта мозга, что и может объяснять такое распределение коэффициентов корреляции.

В то же время наличие отрицательных коэффициентов корреляции в летний период в случае с инфарктом мозга на данном этапе представляется труднообъяснимым, что требует проведения дополнительного анализа статистического материала, а также постановки контролируемых экспериментов.

Таким образом, в результате проведенных исследований в г. Иркутске за периоды 2001–2004 и 2007–2010 гг. было обнаружено наличие достоверных положительных корреляционных связей между изменением геомагнитной активности и количеством выездов «скорой помощи» к пациентам с диагнозами «острый инфаркт миокарда» и «инфаркт мозга». В наибольшей степени такая связь проявлялась в зимние и осенние сезоны, что позволяет сделать предположение о повышении чувствительности организма человека к изменениям геомагнитной активности в периоды повышенной вероятности обострения сердечно-сосудистых заболеваний и неустойчивости гомеостатических механизмов организма человека. Известно достаточно большое количество исследований по влиянию гелиогеофизических факторов на сердечно-сосудистую систему человека, проведенных в других регионах, которые отличаются от Восточной Сибири уровнем солнечной активности, метеорологическими показателями, широтной и географической расположенностью и другими воздействующими факторами. Представленные результаты мониторинга геомагнитной активности в г. Иркутске и выявление ее взаимосвязи с риском возникновения острой сосудистой патологии помогут предупредить нежелательные негативные последствия для пациентов, а также планировать профилактические и лечебные мероприятия с учетом интенсивности влияния гелиогеофизических факторов.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Бреус Т.К., Раппопорт С.И. Возрождение гелиобиологии // Природа. – 2005. – № 9. – С. 54–62.
Breus T.K., Rappoport S.I. Revival of heliobiology // Priroda. – 2005. – N 9. – P. 54–62. (in Russian)
2. Бреус Т.К., Раппопорт С.И. Магнитные бури: медико-биологический гелиогеофизический аспект. – М.: Советский спорт, 2003.
Breus T.K., Rappoport S.I. Magnetic storms: medico-biological heliogeophysical aspect. – Moscow: Sovetskii sport, 2003. (in Russian)
3. Владимирский Б.М., Темурьянц Н.Л. Влияние солнечной активности на биосферу – ноосферу (Гелиобиология от А.Л. Чижевского до наших дней). – М.: Изд-во МНЭПУ, 2000. – 374 с.
Vladimirsky B.M., Temuryants N.L. Influence of solar activity on the biosphere and noosphere (Heliobiology by A.L. Chizhevsky to the present day). – Moscow: MNEPU, 2000. – 374 p. (in Russian)
4. Владимирский Б.М., Темурьянц Н.А., Мартынюк В.С. Космическая погода и наша жизнь / под ред. Н.В. Стешенко. – Фрязино: Век 2, 2004. – 220 с.
Vladimirsky B.M., Temuryants N.A., Martynyuk V.S. Space weather and our lives / ed. N.V. Steshenko. – Fryazino: Vek 2, 2004. – 220 p. (in Russian)
5. Гамбурцев А.Г. Человек и три окружающих его среды. Четыре тома Атласа временных вариаций // Пространство и Время. – 2010. – № 1. – С. 119–134.
Gamburtsev A.G. The human and his three environments. Fourth volume of the atlas of time variation // Prostranstvo i Vremya. – 2010. – N 1. – P. 119–134. (in Russian)
6. Гурфинкель Ю.И. Ишемическая болезнь сердца и солнечная активность. – М., 2004. – 168 с.
Gurfinkel Yu.I. Ischemic heart disease and solar activity. – Moscow, 2004. – 168 p. (in Russian)
7. Дубов Э.Е., Хромова Т.П. Индексы солнечной и геомагнитной активности // Биофизика. – 1992. – Т. 37, № 2. – С. 804.
Dubov E.E., Khromova T.P. Indices of solar and geomagnetic activity // Biophysics. – 1992. – Vol. 37, N 2. – P. 804. (in Russian)
8. Клейменова Н.Г., Козырева О.В., Бреус Т.К., Раппопорт С.И. Сезонные вариации инфарктов миокарда и возможное биотропное влияние короткопериодных пульсаций геомагнитного поля на сердечно-сосудистую систему // Биофизика. – 2007. – Т. 52, Вып. 6. – С. 1112–1119.
Kleymenova N.G., Kozyreva O.V., Breus T.K., Rappoport S.I. Myocardial infarctions and seasonal variations of possible biotropic effect of short-period pulsations of the geomagnetic field on the cardiovascular system // Biophysics. – 2007. – Vol. 52, Issue 6. – P. 1112–1119. (in Russian)
9. Мировой отчет по неинфекционным заболеваниям. – Женева: ВОЗ, 2010. – 169 с.
Global status report on noncommunicable diseases. – Geneva, WHO, 2010. – 169 p.
10. Рыбак О.К., Бурлака А.Н., Иванникова Н.П., Бурлака А.П. Влияние сезона года на частоту развития и тяжесть течения острого инфаркта миокарда,

особенности функционирования системы гемостаза у больных ишемической болезнью сердца в климатической зоне Среднего Поволжья // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2007. – № 3. – С. 68–72.

Rybak O.K., Burlaka A.N., Ivannikova N.P., Burlaka A.P. Influence of season on the incidence and severity of acute myocardial infarction, especially the functioning of the system of hemostasis in patients with coronary heart disease in the climate zone of the Middle Volga // Saratovskiy nauchn-meditsinskiy zhurnal. – 2007. – N 3. – P. 68–72. (in Russian)

11. Черешнев В.А., Гамбурцев А.Г., Сигачев А.В. Атлас временных вариаций. Динамика вызовов

скорой помощи Москвы за последние пять лет // Здоровье семьи – 21 век. – 2012. – № 2. – С. 1–41.

Chereshev V.A., Gamburtsev A.G., Sigachev A.V. Atlas of temporal variation. Moscow emergency call dynamics for the last five minutes // Family health in XXI century. – 2012. – N 2. – P. 1–41. (in Russian)

12. Чижевский А.Л. Космический пульс жизни. – М.: Мысль, 1995. – 768 с.

Chizhevsky A.L. Cosmic pulse of life. – Moscow: Misl, 1995. – 768 p. (in Russian)

13. Spenser F.A., Goldberg R.Y., Becker R.C. et al. Does incidence of myocardial infarction vary by season? // J. Am. Coll. Cardiol. – 1989. – P. 1226–1233.

Сведения об авторах

Баженов Александр Александрович – аспирант кафедры естественнонаучных дисциплин Иркутского государственного университета (664011, г. Иркутск, ул. Сухэ-Батора, 9; e-mail: alex1703-19901990@mail.ru)

Аверина Антонина Сергеевна – аспирант кафедры естественнонаучных дисциплин Иркутского государственного университета (e-mail: bucharova89@gmail.com)

Прикоп Михаил Васильевич – аспирант кафедры естественнонаучных дисциплин Иркутского государственного университета (e-mail: prikop1@gmail.com)

Information about the authors

Bazhenov Aleksandr Aleksandrovich – Postgraduate of the Department of Natural Sciences of Irkutsk State University (664011, Irkutsk, ul. Sukhe-Batora, 9; e-mail: alex1703-19901990@mail.ru)

Averina Antonina Sergeyevna – Postgraduate of the Department of Natural Sciences of Irkutsk State University (e-mail: bucharova89@gmail.com)

Prikop Mikhail Vasilyevich – Postgraduate of the Department of Natural Sciences of Irkutsk State University (e-mail: prikop1@gmail.com)

М.О. Кондакова

ДЕМОГРАФИЧЕСКИЕ ВОЛНЫ ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ И ИХ ПОСЛЕДСТВИЯ

Иркутский государственный университет (Иркутск)

В статье рассмотрена демографическая ситуация в Иркутской области за последние 50 лет. Особое внимание уделено анализу изменения численности населения Иркутской области с помощью понятия демографических волн. Мы выделили 4 этапа на основании анализа данных о рождаемости и смертности населения в Иркутской области и динамики изменения численности населения с 1960 г. Первый этап – с 1960 по 1978 гг., второй – с 1979 по 1989 гг., третий – с 1990 по 2000 гг. и четвертый этап – с 2001 года по настоящее время.

Ключевые слова: демографическая ситуация, демографические волны, смертность, рождаемость, естественный прирост

DEMOGRAPHIC WAVES OF IRKUTSK REGION AND THEIR CONSEQUENCES

M.O. Kondakova

Irkutsk State University, Irkutsk

This article describes the demographic situation in Irkutsk region for the last 50 years. Special attention is paid to the analysis of changes in population of the Irkutsk region with the concept of demographic waves. We have identified 4 stages on the basis of data analysis on natality and mortality of population in Irkutsk region and dynamics of population changes since 1960. The first stage covers the period from 1960 to 1978; the second stage – from 1979 to 1989; the third stage – from 1990 to 2000; and the fourth stage – from 2001 to the present time.

Key words: demographic situation, demographic waves, mortality, birth rate, natural increase

Цель работы: анализ статистических данных по демографии Иркутской области (рождаемость, смертность, естественный прирост) за последние 50 лет.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Методы демографического анализа (демографические таблицы, статистические методы, математические методы, социологические методы), методы демографического прогнозирования (метод передвижки возрастов).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Демографическая ситуация – состояние демографических процессов в определенный момент времени, представляющей собой этап при анализе долговременных тенденций развития населения [3]. Демографическая ситуация рассматривается с помощью таких понятий как: смертность, рождаемость и естественный прирост населения.

Взаимосвязь событий происходящих в мире можно рассмотреть с помощью понятия «демографических волн», которые представляют собой «чередование относительно многолюдных и относительно малолюдных поколений» [8]. Происходит изменение уровня рождаемости от более высоких значений – демографический взрыв, к уменьшению рождаемости – демографический спад.

Анализ статистических данных рождаемости и смертности населения Иркутской области, а также динамика изменения численности населения, начиная с 1960 года, позволяет выделить четыре этапа. Первый этап (с 1960 по 1978 гг.) характеризуется снижением уровня рождаемости, второй этап (с 1979 по 1989 гг.) – увеличением рождаемости, третий этап (с 1990 по

2000 гг.) – снижением рождаемости и значительным ростом смертности, четвертый этап (с 2001 г. по настоящее время; продолжаться будет ориентировочно до 2020 г.) – увеличением уровня рождаемости. Таким образом, мы можем наблюдать чередование всплеска рождаемости со спадом – демографические волны.

Для рассмотрения демографической ситуации в России за основу взяли социально- исторические события, поскольку такой подход более четко отражает демографическое поведение популяции [1]. Проанализированы самые яркие события в стране и Иркутской области за последние 100 лет, а также реформы, законы и указы, которые могли повлиять на демографическую ситуацию в стране и в Приангарье, в частности.

На долю России в XX столетии выпали такие трагические события как две мировые войны и три революции, «сталинский террор», коллективизация, и, как следствие, нищета и голод. Последствия этих событий до сих пор отражаются на демографической ситуации нашей страны. Одним из следствий социальных потрясений является резкое снижение численности населения страны, или «демографическая катастрофа» [3].

В России таких катастроф было три. Первая постигла страну в период Первой мировой войны, трех революций и гражданской войны (1917–1922 гг.), вторая – во время коллективизации и сразу после нее (1930–1936 гг.), третья катастрофа прихлала на Великую Отечественную войну и первые послевоенные годы (1941–1948 гг.) [1].

Оценить, какова была смертность людей в Иркутской области, можно только приблизительно. О катастрофе 1917–1922 гг. точных данных нет; в 1930–1936 гг. смертность составила 17,5 (ниже, чем

в среднем по стране – 20,2), в в 1941–1948 гг. – 14,1 на 1000 человек (примерно так же, как по стране – 13,9). Поскольку рождаемость превышала смертность, естественный прирост населения Приангарья в 1930–1936 гг. составлял 18,0 на 1000 человек, а в 1941–1948 гг. – 21,0 на 1000 человек (рис. 1). Население Иркутской области увеличивалось, несмотря на демографические катастрофы в стране [3, 7]. Связать данный факт, вероятно, можно с тем, что наш регион находился вдали от эпицентра данных событий, а также с перемещением значительной части населения из центральной части России, которое происходило по различным, в том числе и криминальным, причинам.

Всплеск рождаемости в Иркутской области отмечали за последние 70 лет трижды (рис. 1): в довоенный 1940 год уровень рождаемости составил 36,7 на 1000 человек (больше чем в среднем по стране – 33,0), в период с 1979 по 1989 гг. – 17,4 в 1979 году и 20,2 в 1989 году на 1000 человек (в среднем по стране – 14,6–17,2), и в период с 2005 по 2012 гг. – 11,9 в 2005 г. и 15,9 в 2012 г. (в среднем по стране 10,2 и 13,3 на 1000 человек) [4, 7]. Чтобы объяснить ситуацию с низкой рождаемостью в 1979 г. применяем подход демографической волны, так как в репродуктивный возраст с целью создания семьи и рождения ребенка вступили те женщины, которые были рождены в послевоенные годы Второй мировой войны. Далее волна – женщины, рожденные в период с 1960 г., репродуктивный возраст которых приходится на период с 1979 по 1989 гг. – всплеск рождаемости и так далее (рис. 1).

Вслед за всплеском уровня рождаемости неумолимо идет спад, так как одна волна сменяет другую. Большая убыль населения пришлась на период распада СССР и первые 10 лет новой России. В 1998 г. смертность превысила рождаемость, и население России и Иркутской области стало сокращаться. Такое явление называли «русский крест» (рис. 1) [3, 7]. Отчасти такое явление объясняли «разгульными» криминальными ситуациями 90-х годов, дефолтом и другими проблемами в стране и регионе [1, 7].

Кроме указанных событий, которые так или иначе влияли на сокращение рождаемости, правительством России принимались указы и реформы, которые были призваны стимулировать рождаемость. Например, улучшение жилищных условий для семей, выплата детских пособий до совершеннолетия ребенка, а также увеличение декретного отпуска по уходу за ребенком до трех лет [10]. Неоднозначным событием явился указ об отмене аборт. С одной стороны, это способствовало увеличению рождаемости, а с другой стороны увеличилась доля смертности женщин от нелегальных [10]. Одним из последних стимулирующих факторов рождаемости стал материнский капитал за второго и последующих детей в семье, который был введен в 2007 г. [2, 3, 4, 7, 10].

Впервые в истории новой России рождаемость превысила смертность в Иркутской области в 2008 г. (естественный прирост населения на 1000 человек – 0,9, а в 2013 г. – уже 2,1), а в целом по всей стране это произошло только в 2013 г. (естественный прирост населения на 1000 человек – 0,2) [4]. Всплеск рождаемости мы можем наблюдать до сих пор.

Таким образом, в ближайшие 5–10 лет, то есть примерно до 2024 г., Иркутскую область и всю страну в целом ждет демографическая волна, направленная на увеличение рождаемости и естественного прироста населения. В репродуктивный возраст вступает население, рожденное на втором этапе (соответственно тем этапам, что мы выделили вначале статьи), – с 1979 по 1989 гг. Этот период характеризовался увеличением рождаемости. Возможно существенное увеличение населения в этот период, если не помешают глобальные исторические события, связанные с нестабильной ситуацией в мировом сообществе (на данный момент – это конфликт с Украиной), природные катастрофы (затопления Приморского края), а также экономические события – увеличение цен на продукты, бензин, коммунальные услуги, санкции против России, запрет ввоза продовольствия и т.д.

Далее наступит снижение рождаемости, так как следом идет третья волна, которая характеризовалась

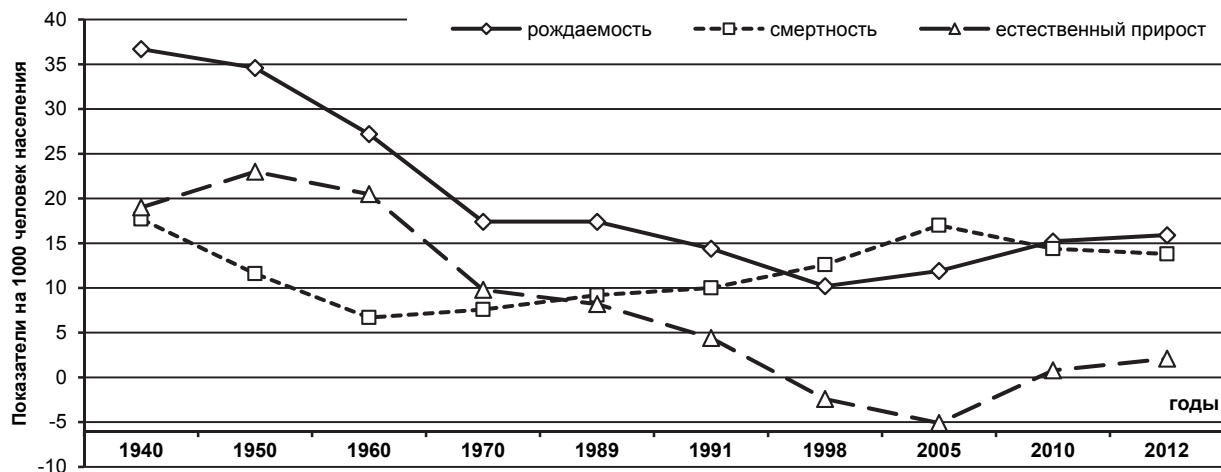


Рис. 1. Рождаемость, смертность и естественный прирост населения Иркутской области (на 1000 человек).

Таблица 1

Административно-территориальное деление, численность и возрастной состав населения Иркутской области

Территория	Численность населения – всего человек (доля в % от показателей РФ)	Доля возрастных групп в общей численности населения (%)		
		Дети 0–15 лет	Мужчины 16–59 лет, женщины 16–54 лет	Мужчины 60 лет и >, женщины 55 лет и >
Российская Федерация	141 914 509	16,1	62,3	21,6
Сибирский федеральный округ	19 561 087 (13,8 %)	17,5	63,0	19,5
Иркутская область	2 502 691 (1,8 %)	18,9	62,5	18,6

демографическим спадом. Примерно к 2025 г. Иркутскую область настигнет волна «русского креста» 1998 г., которая даст большую убыль естественного прироста населения. Для того, чтобы спад не привел к катастрофическому сокращению населения, правительству необходимо разработать ряд мер для смягчения этой волны и поддержания увеличения численности популяции. Даже если такие меры не будут предприняты, то после спада рождаемости (последствий «русского креста») все равно будет очередной всплеск рождаемости, благодаря тому, что в настоящее время численность населения увеличивается.

Однако прогнозы ООН в отношении России не оптимистичны. Согласно прогнозам, численность населения России к 2015 году снизится до 136,7 млн человек, плотность населения тоже уменьшится – к 2050 г. она составит 1 человек на кв. км [9].

Что касается регионов нашей страны (83 субъектов Российской Федерации), то в Иркутской области, по данным переписи населения России в 2010 г., численность населения составляет 2 502 691 человек, мужчин и женщин от 0 до 15 лет – 472 897 человек, мужчин от 16 до 59 лет и женщин от 16 до 54 лет – 1 564 182 человек, мужчин 60 лет и более, женщин от 55 лет и более – 465 612 человек (табл. 1). Таким образом, в Сибирском федеральном округе проживает 13,8 % от всего населения России. А в Иркутской области – 1,8 % населения нашей страны. Причем детей (от 0 до 15 лет) в Иркутской области больше, чем в среднем по России [5].

По итогам Всероссийской переписи населения 2010 г. Иркутская область по числу постоянного населения переместилась по Сибирскому федеральному округу на 4-е место после Красноярского края, Кемеровской и Новосибирской областей. По итогам переписи населения 2002 г. область занимала 5-е место после Алтайского края [4, 5].

Таким образом, Иркутская область по показателям в сравнении со средними показателями страны является более устойчивой в плане демографической ситуации (рождаемость превышает смертность). Влияние «демографических волн» будет нивелировано только в том случае, если государство будет предпринимать существенные меры по улучшению жизни в регионе, как молодым семьям, так и всему населению в целом, обеспечивать стабильную ситуацию в экономике и социальной сфере в целом. А также если Россия не будет вступать в мировые конфликты, которые, так или иначе, отражаются на демографической ситуации в стране.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Акулов А.И., Казначеев В.П., Кисельников А.А. Выживание населения России: Проблемы «Сфинкса XXI века» / под общ. ред. В.П. Казначеева. – Изд. 2-е, перераб., доп. – Новосибирск: Изд-во Новосиб. ун-та, 2002. – 462 с.

Akoulov A.I., Kaznacheyev V.P., Kiselnikov A.A. Survival of the population of Russia: Problems of Sphinx of the XXI century / Ed. V.P. Kaznacheyev. – 2nd ed., revised. – Novosibirsk, 2002. – 462 p. (in Russian)

2. Антонов А.И. Опыт исследования установок на здоровье и продолжительность жизни // Социальные проблемы здоровья и продолжительности жизни. – М., 1989. – С. 44–45.

Antonov A.I. Experience of research facilities on health and life expectancy // Sotsialniye problem zdorovia i prodolzhitelnosti zhizni. – Moscow, 1989. – P. 44–45. (in Russian)

3. Боярский А.Я., Залентей Д.И., Вишневский А.Г. и др. Курс демографии: учеб. пособие / под ред. проф. А.Я. Боярского. – 3-е изд., доп. и перераб. – М.: Финансы и статистика, 1985. 161 с.

Boyarsky A.Ya., Zalentey D.I., Vishnevsky A.G. et al. Course on Demography: Textbook / Ed. A.Ya. Boyarskiy. – 3rd ed., Ext. and rev. – Moscow: Finance and Statistics, 1985. – 161 p. (in Russian)

4. Данные Росстата о демографической ситуации в России // Режим доступа: http://www.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat_main/rosstat/ru/statistics/population/demography/.

Rosstat data on the demographic situation in Russia // Access mode: http://www.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat_main/rosstat/ru/statistics/population/demography/. (in Russian)

5. Демографический ежегодник России. 2010: стат. сб. / Росстат. – М., 2010. – 525 с.

Demographic Yearbook of Russia. 2010: collected book on statistics / Rosstat. – Moscow, 2010. – 525 p. (in Russian)

6. Демографический словарь. – <http://demography.academic.ru/>

Demographic Dictionary. - <http://demography.academic.ru/> (in Russian)

7. Лещенко Я.А., Бодиенкова Г.М., Рукавишников В.С., Коровин С.А., Гольменко А.Д. Условия жизни и здоровья населения Иркутской области / под ред. д.м.н. Я.А. Лещенко. – Иркутск: ВСНЦ СО РАМН, 2001. – 224 с.

Leshchenko Ya.A., Bodienkova G.M., Rukavishnikov V.S., Korovin S.A., Golmenko A.D. Living conditions and health

of Irkutsk Region / Ed. Ya.A. Leshchenko. – Irkutsk: VSNC SO RAMS, 2001. – 224 p. (in Russian)

8. Сосковец Л.И. Словарь терминов и понятий к курсу «Глобальные проблемы современности и Азиатско-Тихоокеанский регион». – Томск: Изд-во ТПУ, 2005. – 31 с.

Soskovets L.I. Dictionary of terms and concepts for the course “Global problems of the present and the Asia-Pacific region”. – Tomsk: Izd-vo TPU, 2005. – 31 p. (in Russian)

9. Электронная версия бюллетеня Население и общество. Центр демографии и экологии человека Института народнохозяйственного прогнозирования

РАН // Режим доступа: <http://www.demoscope.ru/weekly/003/strimir06.html>

The electronic version of the bulletin Population and Society. Center for Demography and Human Ecology, Institute for Economic Forecasting // Access mode: <http://www.demoscope.ru/weekly/003/strimir06.html> (in Russian)

10. Юридический сайт «Консультант Плюс» – сборник законов, указов СССР и России // Режим доступа: <http://www.consultant.ru>.

Consultant Plus – website with collection of laws, decrees of USSR and Russia // Access mode: <http://www.consultant.ru>. (in Russian)

Сведения об авторах

Кондакова Марина Олеговна – аспирант кафедры естественнонаучных дисциплин Иркутского государственного университета (664011, г. Иркутск, ул. Сухэ-Батора, 9; e-mail: kondakova_marina@mail.ru)

Information about the authors

Kondakova Marina Olegovna – Postgraduate of the Department of Natural Sciences of Irkutsk State University (664011, Irkutsk, ul. Sukhe-Batora, 9; e-mail: kondakova_marina@mail.ru)

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ В «БЮЛЛЕТЕНЬ ВСНЦ СО РАМН» (вводятся в действие с 2015 г.)

Настоящие Правила разработаны на основании требований Гражданского кодекса РФ, Закона РФ «Об авторском праве и смежных правах» от 09.07.1993 г. № 5351-1 с изменениями от 19 июля 1995 г. и 20 июля 2004 г., Закона РФ «О средствах массовой информации» от 27.12.1991 г. № 2124-I с последующими изменениями, требований Высшей аттестационной комиссии РФ и регулируют взаимоотношения между издательством в лице редакционной коллегии «Бюллетеня ВСНЦ СО РАМН», в дальнейшем именуемой «Редколлегия», и автором, передавшим свою статью для публикации в журнал, в дальнейшем именуемым «Автор».

Редколлегия «Бюллетеня ВСНЦ СО РАМН» просит внимательно ознакомиться с нижеследующими инструкциями по подготовке рукописей для публикации.

«Бюллетень ВСНЦ СО РАМН» публикует статьи по проблемам медико-биологической науки и практического здравоохранения, а также по смежным проблемам.

В журнале публикуются обзоры, оригинальные статьи, сообщения из практики, лекции, информационные сообщения. Все представленные материалы рецензируются и обсуждаются редакционной коллегией.

В журнал принимаются преимущественно статьи от авторов, знакомых с редакционной политикой и показывающие знание статей, публикуемых в журнале.

Рукопись статьи должна быть представлена в редакцию в электронном виде в формате текстового редактора Microsoft Word (шрифт Times New Roman 12 пт, межстрочный интервал «полуторный», размеры полей: левое – 30 мм, правое – 10 мм, верхнее и нижнее – каждое не менее 20 мм) вместе с отсканированным сопроводительным письмом направляющей организации, на котором находятся подписи всех авторов статьи, и, в необходимых случаях, экспертным заключением. Нельзя направлять в редакцию работы, напечатанные в иных изданиях или отправленные в иные издания. Статьи направляются по адресу: sikol@sbamsr.irk.ru. Датой поступления статьи считается время поступления окончательного (переработанного) варианта статьи.

Образец оформления рукописи статьи см. на сайтах <http://byulleten.com>, http://www.scrs.ru/byulleten_vsnets_so_ramn.

Таблиц должно быть не более 3–4 штук. При построении таблиц необходимо все пункты представлять отдельными строками. Буквы греческого алфавита в печатном варианте статьи должны быть подчеркнуты красным.

Иллюстрации выполняют в графических редакторах в виде чёрно-белых чётких файлов формата *.tif, *.jpg с разрешением не менее 300 dpi. Если необходима печать в цветном формате, это указывается в ходатайстве.

Рисунки следует выполнять компактно в целях экономии места. Наиболее удобны для типографского воспроизведения рисунки шириной в одну колонку (до 8 см), две колонки (до 16,4 см) или во весь лист (16,4 × 25 см). Рисунки необходимо представлять в отдельных файлах.

Графики и диаграммы следует представлять отдельными файлами в программах, в которых они были построены (**Excel, Statistica, StatGraph** и т. д.).

К статье прилагаются сведения обо всех авторах (фамилия, имя, отчество, ученое звание, ученая степень, должность, полный почтовый адрес, рабочие телефоны (мобильный телефон необходим только для связи с одним из авторов статьи в случае внесения правок в статью – в журнале он не указывается), адрес электронной почты) с переводом всех данных на английский язык.

Первая страница включает: УДК, инициалы и фамилии авторов, название статьи, полное название учреждения (с привязкой к автору) с указанием статуса организации (аббревиатура перед названием), ведомственной принадлежности, почтового адреса, Ф.И.О. и адрес почты автора, ответственного за переписку, а также резюме.

Резюме должно отражать цель, методы, результаты исследования. Объем резюме – от 400 до 500 знаков. Обязательно в резюме указываются важнейшие числовые данные, отражающие главные достижения работы, а также приводятся статистические критерии, доказывающие их значимость. Резюме завершают «ключевые слова» (от 3 до 10), способствующие индексированию статьи в информационно-поисковых системах.

Резюме на английском языке призвано выполнять функцию независимого от статьи источника информации. Оно должно быть:

- информативным (не содержать общих слов);
- оригинальным (не быть калькой русскоязычной аннотации);
- содержательным (отражать основное содержание статьи и результаты исследований): текст должен быть лаконичен и четок, свободен от второстепенной информации, отличаться убедительностью формулировок;
- структурированным (следовать логике описания результатов в статье);
- «англоязычным» (должно быть написано грамотным английским языком);

– компактным (укладываться в объем от 100 до 250 слов).

При переводе на английский язык необходимо учитывать следующее:

– фамилии авторов статей представляется в одной из принятых международных систем транслитерации (к примеру, сайт <http://www.translit.ru>);

– заглавия научных статей должны быть информативными. В них можно использовать только общепринятые сокращения, не должно быть непереводаемого сленга, известного только русскоговорящим специалистам, никаких транслитераций с русского языка, кроме непереводаемых названий приборов и других объектов, имеющих собственные названия;

– при переводе названия учреждения используется общепринятый переводной вариант официального, без сокращений, названия организации;

Обычно объем оригинальных статей – 8 страниц, научного обзора литературы – 12–15 страниц, кратких сообщений – 1,5 страницы.

Структура оригинальной статьи: введение – формулируется цель и необходимость проведения исследования, кратко освещается состояние вопроса со ссылками на наиболее значимые публикации; материалы и методы – количественные и качественные характеристики обследованных (объектов исследования), а также упоминаются все методы исследований, применявшиеся в работе, включая статистическую обработку. Методика исследований должна быть описана очень четко, так, чтобы ее легко можно было воспроизвести.

Нужно указать, являются ли приводимые числовые значения первичными или производными, привести пределы точности, надежности, интервалы достоверности, оценки, рекомендации, принятые или отвергнутые гипотезы, обсуждаемые в статье.

Результаты следует представлять в логической последовательности в тексте, таблицах и на рисунках. В обсуждении выделяются новые и важные аспекты результатов исследования, могут быть включены обоснованные рекомендации и краткое заключение.

Если в статье имеются описания эксперимента с участием человека/людей, авторы должны указать, проводились ли они в соответствии с этическими стандартами комитета, ответственного за эксперименты с участием человека/людей (национального или локального) и Хельсинской декларации 1975 года и ее пересмотренного варианта 2008 г.

При представлении в печать экспериментальных работ с участием животных следует руководствоваться «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Помимо вида, пола и количества использованных животных, авторы обязательно должны указывать применявшиеся при проведении болезненных процедур методы обезболивания и методы умерщвления животных, выполнялись ли требования национального руководства и руководства учреждения по содержанию и использованию лабораторных животных.

Все термины и определения должны быть научно достоверны, их написание (как русское, так и латинское) должно соответствовать «Энциклопедическому словарю медицинских терминов» (в 3-х томах, под ред. акад. Б.В. Петровского).

Лекарственные препараты должны быть приведены только в международных непатентованных названиях, которые употребляются первыми, затем в случае необходимости приводятся несколько торговых названий препаратов, зарегистрированных в России (в соответствии с информационно-поисковой системой «КлифарГосреестр» [Государственный реестр лекарственных средств]).

Желательно, чтобы написание реестров соответствовало стандарту Enzyme Classification.

Название микроорганизмов должны быть выверены в соответствии с «Энциклопедическим словарем медицинских терминов» (в 3-х томах, под ред. акад. Б.В. Петровского) или по изданию «Медицинская микробиология» (под ред. В.И. Петровского).

Рукопись может сопровождать словарь терминов (неясных, способных вызвать у читателей затруднения при прочтении).

Помимо общепринятых сокращений единиц измерения, физических, химических и математических величин и терминов (например, ДНК), допускаются аббревиатуры словосочетаний, часто повторяющихся в тексте. Все аббревиатуры расшифровываются при первом упоминании в тексте.

Дозы лекарственных средств, единицы измерения и другие численные величины должны быть указаны в системе СИ.

Подписи к рисункам и фотографиям группируются вместе и даются на отдельном листе. Каждый рисунок должен иметь заголовок и расшифровку всех сокращений. В подписях к графикам указываются обозначения по осям абсцисс и ординат единицы измерения, приводятся пояснения по каждой кривой. В подписях к микрофотографиям указываются метод окраски и увеличение.

Сокращение слов в таблицах не допускается. Все цифры в таблицах должны соответствовать цифрам в тексте.

БИБЛИОГРАФИЯ

Список литературы (Литература, References) печатается на отдельном листе, составляется в алфавитном порядке. Сначала приводятся работы отечественных авторов, затем иностранных. В тексте статьи библио-

графические ссылки обозначаются арабскими цифрами в квадратных скобках, в соответствии с нумерацией в списке литературы.

Литература описывается следующим образом:

Авторы, название статьи и источника, выходные данные на русском языке. Затем авторы (транслитерация), перевод названия статьи на английский язык, название статьи в транслитерированном варианте в квадратных скобках, название источника (транслитерация), выходные данные с обозначениями на английском языке.

Рекомендуется в оригинальных статьях цитировать не более 15, а в обзорах – до 50 источников. Статья должна быть написана грамотно, текст, таблицы и другие материалы тщательно выверены. Рукописи, оформленные не в соответствии с указанными правилами, к рассмотрению не принимаются.

Редколлегия оставляет за собой право сокращать и редактировать статьи.

Датой поступления статьи в журнал считается день получения редакцией окончательного варианта текста.

ПРАВИЛА РЕЦЕНЗИРОВАНИЯ РУКОПИСЕЙ

Все поступившие работы рецензируются специалистами в области, соответствующей профилю поступившей статьи. При необходимости осуществляется научное рецензирование с участием нескольких специалистов. По результатам рецензирования авторам направляются отзывы рецензентов и просьба внести в работы исправления. После исправления работы рецензируются повторно, при несогласии автора с мнением рецензента – направляются на рецензию независимому специалисту. Результаты рецензирования обсуждаются на заседаниях редакционной коллегии, где принимается окончательное решение о публикации работы. Рецензии в обязательном порядке предоставляются авторам рукописей и по запросам экспертных советов в ВАК.

АВТОРСКИЕ ПРАВА И ОТВЕТСТВЕННОСТЬ

Редколлегия не несет ответственности за достоверность информации, приводимой авторами. Автор, направляя рукопись в Редколлегию, поручает Редколлегии обнародовать произведение посредством его опубликования в печати.

Автор, направляя рукопись в Редколлегию, соглашается с тем, что Редколлегия переходит исключительные имущественные права на использование рукописи (переданного в редакцию журнала материала, в т. ч. такие охраняемые объекты авторского права, как фотографии автора, рисунки, схемы, таблицы и т. п.), в том числе на воспроизведение в печати и в сети Интернет; на распространение; на перевод рукописи (материалов) на любые языки народов мира; на экспорт и импорт экземпляров журнала со статьей Автора в целях распространения; на переработку; на доведение до всеобщего сведения. Указанные выше права Автор передает Редколлегии без ограничения срока их действия и на территории всех стран мира без ограничения, в т. ч. на территории Российской Федерации.

Редколлегия вправе переуступить полученные от Автора права третьим лицам и вправе запрещать третьим лицам любое использование опубликованных в журнале материалов. Автор гарантирует наличие у него исключительных прав на использование переданного Редколлегии материала. В случае нарушения данной гарантии и предъявления в связи с этим претензий к Редколлегии Автор самостоятельно и за свой счет обязуется урегулировать все претензии.

Редколлегия не несет ответственности перед третьими лицами за нарушение данных Автором гарантий. За Автором сохраняется право использования его опубликованного материала, его фрагментов и частей в личных, в том числе научных, преподавательских, целях. Права на рукопись считаются переданными Автором Редколлегии с момента подписания в печать номера журнала, в котором она публикуется. Перепечатка материалов, опубликованных в журнале, другими физическими и юридическими лицами возможна только с письменного согласия Редколлегии, с обязательным указанием номера журнала (года издания), в котором был опубликован материал.

ПРАВИЛА ПУБЛИКАЦИИ

Публикация статьи платная и составляет в 2015 году **2300** рублей для статей до 8 страниц включительно, свыше – производится доплата **150** рублей за каждую страницу. Бесплатная публикация статьи предоставляется аспирантам, если аспирант является единственным автором научной статьи.

В соответствии с Частью 4 Гражданского кодекса РФ статья сопровождается Лицензионным договором, подписанным каждым автором статьи. Без этого документа статьи не рассматриваются.

Авторские экземпляры не предусмотрены. Журнал можно получить только по подписке.

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСИ СТАТЬИ

УДК

И.О. Фамилия ¹, И.О. Фамилия²

ЗАГЛАВИЕ СТАТЬИ

¹ Название учреждения, адрес, город, страна² Название второго учреждения, адрес, город, страна

Фамилия, имя, отчество, e-mail автора, ответственного за переписку

Резюме

Текст резюме

Ключевые слова: ключевые слова, ключевые слова, ключевые слова

ЗАГЛАВИЕ СТАТЬИ НА АНГЛИЙСКОМ

И.О. Фамилия на английском ¹, И.О. Фамилия на английском ²¹ Название учреждения на английском² Название второго учреждения на английском

Summary

Текст резюме на английском

Key words: ключевые слова на английском, ключевые слова на английском

Текст введения, описания актуальности темы.

Цель работы:

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Описание материалов и методов исследования.

Этическая экспертиза. Процедуры добровольного информированного согласия на участие в исследовании или соблюдение требований к экспериментам на животных.

Способ представления результатов исследования. Описание методики статистического исследования.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Описание результатов с указанием статистической значимости полученных данных и обсуждение результатов в сопоставлении с литературными данными.

Таблица 1

Название таблицы

Показатель	Напряжение стандартным грузом	
	Поверхностный сгибатель (ПС)	Глубокий сгибатель (ГС)
Пястно-фаланговый сустав (ПФС)	94,2 ± 2,3	92,2 ± 3,6
Проксимальный межфаланговый сустав (ПМФС)	111,7 ± 4,4	84,4 ± 4,0
Дистальный межфаланговый сустав (ДМФС)	2,3 ± 1,2	79 ± 9,0
Итого	208,2 ± 2,3	255,6 ± 5,5

Примечание: примечание к таблице

ЛИТЕРАТУРА

REFERENCES

1. Кашафеева А.А., Хышиктуев Б.С., Гаймоленко С.Г., Смекалов В.П. Морфометрические параметры брюшины крыс при воспалении и после местного воздействия на нее раствором гипохлорита натрия разной концентрации // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – № 3. – С. 108–110.

Kashafeeva AA, Khishiktuev BS, Gaimolenko SG, Smekalov VP (2011). Morphometric parameters of rats' peritoneum during the inflammation and after the local impact on it by sodium hypochlorite solution of different concentrations [Morfometricheskie parametry brjushiny krys pri vospalenii i posle mestnogo vozdejstviya na nee rastvorom gipohlorita natrija raznoj koncentracii]. Byulleten VSNC SO RAMN (3), 108-110.

Примечание: ни в одном из зарубежных стандартов библиографических записей не используются разделительные знаки, применяемые в российском ГОСТе («//» и «-»). Название источника и выходные данные отделяются от авторов и заглавия статьи типом шрифта, чаще всего курсивом, точкой или запятой. Между инициалами одного автора знаки препинания (точки) не ставятся.

В Интернете существуют бесплатные программы для создания библиографических описаний на латинице (например, <http://www.easybib.com>, <http://www.bibme.org> и др.).

Описания можно создавать для разных видов публикаций.

Сведения об авторах

Фамилия, имя, отчество первого автора полностью – учёная степень, учёное звание автора, должность, организация (адрес организации (с индексом), контактный (рабочий) телефон и электронная почта)

Information about the authors (перевод информации на английский язык)

Фамилия, имя, отчество второго автора полностью – учёная степень, учёное звание автора, должность, организация (адрес организации (с индексом), контактный (рабочий) телефон и электронная почта)

Перевод данных на английский язык.

Внимание! Информация предоставляется обо всех авторах работы!

Ставя свою подпись под статьей, автор тем самым передает права на издание и перевод своей статьи редакции. Автор гарантирует, что статья оригинальная; что ни статья, ни рисунки к ней не были опубликованы в других изданиях. Автор также гарантирует соблюдение международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным.