

ISSN 2541-9420 (Print)
ISSN 2587-9596 (Online)

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

2019

Tom 4

Nº 3

ISSN 2541-9420 (Print)
ISSN 2587-9596 (Online)

АСТА BIOMEDICA SCIENTIFICA

Том 4

№3

2019

ИРКУТСК

Главный редактор

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

Зам. главного редактора

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

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

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

Ответственный секретарь

Карпова Т.Г. (Россия, Иркутск)

Редакционная коллегия

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Юрьева Т.Н., д.м.н. (Россия, Иркутск)

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

Редакционный совет

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

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

Мнение автора может не совпадать с мнением редакции.

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

Тел. (3952) 20-90-48.

<http://actabiomedica.ru>

E-mail: journalirk@gmail.com

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

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

Основан в 1993 году.

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

Журнал включен в Реферативный журнал и базу данных ВИНТИ. Сведения о журнале публикуются в международной справочной системе по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals Directory».

Журнал «Acta Biomedica Scientifica» входит в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук».

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

Подписной индекс 24347.

ISSN 2541-9420 (Print)

ISSN 2587-9596 (Online)

Ключевое название: *Acta Biomedica Scientifica*

ISSN 2541-9420 (Print)
ISSN 2587-9596 (Online)

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Vol. 4

N3

2019

IRKUTSK

Chief Editor

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

Deputy Chief Editor

Rychkova L.V., Dr. Sc. (Med.), Professor of RAS (Russia, Irkutsk)

Sorokovikov V.A., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

Shchuko A.G., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

Executive secretary

Karpova T.G. (Russia, Irkutsk)

Editorial board

Balakhonov S.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

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

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

Madaeva I.M., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Irkutsk)

Malov I.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

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

Nikitenko L.L., Dr. Sc. (Biol.) (UK, Oxford)

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

Savilov E.D., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

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

Shprakh V.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

Yurieva T.N., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Irkutsk)

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

Editorial Council

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

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

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

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

Tel. (3952) 20-90-48.

<http://actabiomedica.ru>

E-mail: journallirk@gmail.com

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

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

Acta Biomedica Scientifica has been founded in 1993.

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

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

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

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

Subscription index 24347.

ISSN (Online) 2587-9596

Key title: Acta Biomedica Scientifica

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

Роль апелина в функционировании репродуктивной системы. *Шпаков А.О., Деркач К.В.*

7

OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY

The Role of Apelin in the Functioning of the Reproductive System. *Shpakov A.O., Derkach K.V.*

БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ

Коррекция пищевой гиперчувствительности как основной принцип иммунодиетологии в лечении ожирения и метаболических нарушений. *Новиков П.С.*

18

BIOLOGY AND MEDICAL BIOLOGY

Correction of Food Hypersensitivity as the Main Principle of Immunodietology in the Treatment of Obesity and Metabolic Disorders. *Novikov P.S.*

ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ

Индекс массы тела и показатели липидного обмена при стеатозе печени алкогольного и неалкогольного генеза у жителей сельской местности: сходство и различия. *Михайлова Н.В., Петрунько И.Л.*

23

INTERNAL DISEASES

Body Mass Index and Indicators of Lipid Exchange in Liver Steatosis of Alcoholic and Nonalcoholic Genesis in Residents of Rural Area: Similarities and Differences. *Mikhaylova N.V., Petrunko I.L.*

ГЕНЕТИКА, ПРОТЕОМИКА И МЕТАБОЛОМИКА

Врождённый спастический церебральный паралич: генетические аспекты патогенеза. *Притыко А.Г., Чебаненко Н.В., Соколов П.Л., Зыков В.П., Климчук О.В., Канивец И.В.*

28

GENETICS, PROTEOMICS AND METABOLOMICS

Genetic Aspects of Pathogenesis of Congenital Spastic Cerebral Paralysis. *Prityko A.G., Chebanenko N.V., Sokolov P.L., Zykov V.P., Klimchuk O.V., Kanivets I.V.*

Pharmacogenetic Warfarin Dosing Algorithm in the Russian Population. *Bairova T.A., Sambyalova A.Yu., Rychkova L.V., Novikova E.A., Belyalov F.I., Sargaeva D.S., Shchedreeva E.A., Ignatyeva T.G., Ershova O.A., Pustozarov V.G., Kovaleva O.A., Rasputina I.V., Noskova I.A., Batogova T.V., Kuznetsova O.V., Bogoslova O.Yu., Kolesnikov S.I.*

40

Фармакогенетический алгоритм дозирования варфарина в российской популяции. *Баирова Т.А., Самбялова А.Ю., Рычкова Л.В., Новикова Е.А., Белялов Ф.И., Саргаева Д.С., Щедреева Е.А., Игнатъева Т.Г., Ершова О.А., Пустозаров В.Г., Ковалева О.А., Распутина И.В., Носкова И.А., Батогова Т.В., Кузнецова О.В., Богослова О.Ю., Колесников С.И.*

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

Оценка относительного риска внутриутробной инфекции плода при цитомегаловирусной инфекции на ранних сроках беременности. *Петрова К.К.*

45

MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

Relative Risk Assessment of Intrauterine Infection of the Fetus During Cytomegalovirus Infection in Early Pregnancy. *Petrova K.K.*

ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Разработка новой медицинской технологии прогнозирования риска развития ишемической болезни сердца у работников основных профессий угольной промышленности. *Панев Н.И., Филимонов С.Н., Коротенко О.Ю., Панев Р.Н., Панева Н.Я.*

52

OCCUPATIONAL DISEASES

Elaboration of New Medical Technology for Predicting the Risk of Ischemic Heart Disease in the Workers of the Coal Industry. *Panev N.I., Filimonov S.N., Korotenko O.Yu., Panev R.N., Paneva N.Ya.*

ТРАВМАТОЛОГИЯ

Изменения показателей микроциркуляции в ранний послеоперационный период при лечении диафизарных переломов костей голени с помощью пластины с ограниченным контактом. *Плахов А.И., Колесникова Л.И., Коротков Л.И., Виноградов В.Г., Даренская М.А.*

58

TRAUMATOLOGY

Changes in Indicators of Microcirculation in the Early Postoperative Period in the Treatment of Diaphyseal Fractures of the Shin Bones Using a Plate with Limited Contact. *Plakhov A.I., Kolesnikova L.I., Korytov L.I., Vinogradov V.G., Darenskaya M.A.*

ФАРМАКОЛОГИЯ И ФАРМАЦИЯ

Препараты магния в психиатрии, наркологии, неврологии и общей медицине. Часть I (историческая). *Беккер Р.А., Быков Ю.В., Шкурят А.О., Воронина А.С.*

63

PHARMACOLOGY AND PHARMACY

Magnesium Preparations in Psychiatry, Addiction Medicine, Neurology and General Medicine (Part I. History). *Bekker A.R., Bykov Yu.V., Shkurat A.O., Voronina A.S.*

ХИРУРГИЯ

Пищеводные геморрагические синдромы. Белобородов В.А., Кожевников М.А., Кельчевская Е.А., Олейников И.Ю., Фролов А.П.

81

Нейрогенная дисфункция мочевого пузыря у онкобольных, оперированных на органах малого таза. Оношко В.Ф., Загайнова Е.А., Кириленко Е.А.

89

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Перспективы использования термоэкстрактов *Brucella abortus* И-206 в S- и L-формах в диагностике и профилактике бруцеллёза. Дубровина В.И., Юрьева О.В., Пятидесятникова А.Б., Старовойтова Т.П., Коновалова Ж.А., Баранникова Н.Л., Николаев В.Б., Балахонov С.В.

96

Оценка токсических и иммуноадъювантных свойств нанокomпозитов. Кorytov К.М., Дубровина В.И., Пятидесятникова А.Б., Витязева С.А., Войткова В.В., Прохорова Г.Ф., Поздняков А.С., Иванова А.А., Балахонov С.В.

102

Влияние статинов (зокора) на кислородзависимые процессы в мышечной ткани и эритроцитах животных с гиперхолестеринемией. Микашинович З.И., Виноградова Е.В., Белоусова Е.С.

110

Экспериментальное моделирование разлитого гнойного перитонита. Чепурных Е.Е., Шурьгина И.А., Фадеева Т.В., Григорьев Е.Г.

117

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

Анализ многолетней динамики заболеваемости инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи в Иркутской области. Носкова О.А., Поталицина Н.Е., Савилов Е.Д.

122

Персонализированный подход как основа будущей диагностики туберкулёза (обзор литературы). Хромова П.А., Синьков В.В., Савилов Е.Д.

127

ЛЕКЦИИ

Параметрические особенности регионарного мозгового кровотока при венозном ишемическом инсульте (лекция). Семенов С.Е.

138

ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ И ЮБИЛЕИ

В.В. Агаджанян (к 70-летию со дня рождения)

148

SURGERY

Esophageal Hemorrhagic Syndromes. Beloborodov V.A., Kozhevnikov M.A., Kelchevskaya E.A., Oleynikov I.J., Frolov A.P.

Neurogenic Bladder Dysfunction in Cancer Patients after Operations on the Pelvic Organs. Onopko V.F., Zagainova E.A., Kirilenko E.A.

EXPERIMENTAL RESEARCHES

Prospects for the Use of Thermal Extracts of *Brucella abortus* I-206 in S- and L-Forms in the Diagnosis and Prevention of Brucellosis. Dubrovina V.I., Yuryeva O.V., Pyatidesyatnikova A.B., Starovoytova T.P., Konovalova Zh.A., Barannikova N.L., Nikolayev V.B., Balakhonov S.V.

Assessment of Toxic and Immunoadjuvant Properties of Nanocomposites. Korytov K.M., Dubrovina V.I., Pyatidesyatnikova A.B., Vityazeva S.A., Voitkova V.V., Prozorova G.F., Pozdnyakov A.S., Ivanova A.A., Balakhonov S.V.

Effect of Statins (Zocor) on Oxygen-Dependent Processes in Muscle Tissue and Erythrocytes in Animals with Hypercholesterolemia. Vinogradova E.V., Mikashinovich Z.I., Belousova E.S.

Experimental Modeling of General Purulent Peritonitis. Chepurnykh E.E., Shurygina I.A., Fadeeva T.V., Grigoryev E.G.

EPIDEMIOLOGY

Analysis of Long-Term Dynamics of Incidence of Healthcare-Associated Infections in the Irkutsk Region. Noskova O.A., Potalitsyna N.E., Savilov E.D.

Personalized Approach as a Basis for the Future Diagnosis of Tuberculosis (Literature Review). Khromova P.A., Sinkov V.V., Savilov E.D.

LECTURES

Parametric Features of Regional Cerebral Blood Flow in Venous Ischemic Stroke. Semenov S.E.

HISTORY OF MEDICINE AND ANNIVERSARIES

V.V. Agadzhanian (to the 70th anniversary)

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.3.1

Роль апелина в функционировании репродуктивной системы

Шпаков А.О., Деркач К.В.

ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН (194223, г. Санкт-Петербург, пр. Тореца, 44)

Автор, ответственный за переписку: Шпаков Александр Олегович (e-mail: alex_shpakov@list.ru)

Резюме

Адипокин апелин посредством апелиновых рецепторов активирует широкий спектр сигнальных каскадов в клетках-мишенях и контролирует их рост, дифференцировку, апоптоз, энергетический обмен. В последние годы получены доказательства того, что мишенями апелина являются все компоненты гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси, на что указывает экспрессия в них апелина и его рецептора. В гипоталамусе апелин модулирует активность меланокортиновой и грелиновой систем и опосредованно влияет на продукцию гонадолиберина. В яичниках он контролирует рост и созревание фолликулов, стимулирует ангиогенез, влияет на базальную и стимулированную другими факторами стероидогенную активность фолликулярных клеток. Изменения в апелиновой сигнальной системе тесно связаны с такими дисфункциями женской репродуктивной системы, как синдром поликистозных яичников, эндометриоз, рак. Информация о регуляции мужской репродуктивной системы апелином ограничивается исследованиями на животных, свидетельствующими о влиянии апелина на гипоталамические звенья гонадной оси. Участие апелина в регуляции репродуктивной системы открывает широкие возможности для разработки на его основе новых подходов для коррекции нарушений в этой системе и лечения бесплодия.

Ключевые слова: апелин, апелиновый рецептор, стероидогенез, яичники, эндометриоз

Для цитирования: Шпаков А.О., Деркач К.В. Роль апелина в функционировании репродуктивной системы. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 7-17. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.1

The Role of Apelin in the Functioning of the Reproductive System

Shpakov A.O., Derkach K.V.

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences (pr. Toreza 44, Saint Petersburg 194223, Russian Federation)

Corresponding author: Aleksandr O. Shpakov, e-mail: alex_shpakov@list.ru

Abstract

Adipokine apelin through the apelin receptors activates a wide range of signaling cascades in the target cells and controls their growth, differentiation, apoptosis, and energy metabolism. In the recent years, the evidence has been obtained that all components of the hypothalamic-pituitary-gonad axis, in which apelin and its receptor are expressed, are targets of apelin. In the hypothalamus, apelin modulates the activity of the melanocortin and ghrelin systems and indirectly affects the production of gonadoliberein. In the ovaries, it controls the growth and maturation of the follicles, stimulates the angiogenesis, and affects the basal and stimulated by the other factors steroidogenic activity in follicular cells. The changes in the apelin signaling system are closely associated with dysfunctions of the female reproductive system, such as polycystic ovary syndrome, endometriosis, and cancer. Information on the regulation of the male reproductive system by apelin is limited to animal studies showing the effect of apelin on the hypothalamic components of the gonad axis. The participation of apelin in the regulation of the reproductive system opens up the broad opportunities for the development of new approaches for the correction of abnormalities in this system and for the treatment of infertility.

Key words: apelin, apelin receptor, steroidogenesis, ovaries, endometriosis

For citation: Shpakov A.O., Derkach K.V. The Role of Apelin in the Functioning of the Reproductive System. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 7-17. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.1

ВВЕДЕНИЕ

Функциональное состояние репродуктивной системы определяется активностью гипоталамо-гипофизарно-гонадной (ГГГ) оси, которая включает три основных компонента: 1) гипоталамические нейроны, продуцирующие гонадолиберин (ГнРГ), рилизинг-фактор лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего (ФСГ)

гормонов; 2) гонадотрофы гипофиза, продуцирующие гонадотропины – ЛГ и ФСГ; 3) яичники у женщин и семенники у мужчин, ответственные за развитие и созревание генеративных клеток и стероидогенез [1]. Общепринято, что основными регуляторами ГГГ оси являются ГнРГ и гонадотропины. При этом в последние годы получены доказательства того, что продукция ГнРГ и гонадотропинов,

а следовательно, и активность ГГГ оси контролируются большим числом других факторов, среди которых экспрессируемые гипоталамическими нейронами ксипептин, меланокортиновые пептиды и гонадотропин-ингибирующий гормон, а также синтезируемые на периферии активины, ингибины и фоллистатин. Наибольший интерес среди таких факторов представляют адипокины, которые продуцируются преимущественно жировой тканью и воздействуют на все основные компоненты ГГГ оси, включая гипоталамические нейроны, к которым они поступают, преодолевая гематоэнцефалический барьер. Если регуляторные эффекты таких наиболее изученных адипокинов, как лептин и его функциональный антагонист адипонектин, на функционирование репродуктивной системы изучены достаточно подробно [2, 3, 4], то данные в отношении роли апелина в регуляции репродуктивных функций и механизмов его действия на ГГГ ось не столь многочисленны и во многом противоречивы. В то же время уже на основе имеющихся сведений можно отнести апелин к важнейшим регуляторам мужской и женской репродуктивных систем. Настоящий обзор посвящён рассмотрению современного состояния проблемы взаимосвязи апелина и его сигнальных механизмов с одной стороны и функциональной активности ГГГ оси – с другой.

РАЗДЕЛ 1. АПЕЛИН И ЕГО ИЗОФОРМЫ

В 1998 году японские учёные выделили апелин из экстрактов желудка быка и идентифицировали ген *APLN*, кодирующий прекурсор апелина – препроапелин, содержащий 77 аминокислотных остатков [5]. В процессе сайт-специфичного гидролиза препроапелин сначала расщепляется до проапелина (55 аминокислотных остатков), из которого впоследствии генерируется несколько биологически активных форм апелина – апелин-36 (включает последовательность 42–77 препроапелина), апелин-17 (61–77), апелин-13 (Gln-Arg-Pro-Arg-Leu-Ser-His-Lys-Gly-Pro-Met-Pro-Phe, 65–77) и его производное – пироглутаминил-апелин-13 [5, 6]. Апелин-13 и пироглутаминил-апелин-13 имеют более высокую активность в сравнении с апелином-36, вследствие чего их рассматривают, как основные формы апелина. В пользу этого свидетельствует то, что доминирующей формой апелина в крови является пироглутаминил-апелин-13 [7]. У человека его уровень меняется в диапазоне от 7,7 до 23,3 пг/мл. Апелин-13, пироглутаминил-апелин-13 и апелин-17 взаимодействуют с каталитическим сайтом ангиотензин-превращающего фермента 2-го типа, что ведёт к их расщеплению по амидной связи между С-концевыми остатками пролина и фенилаланина и вызывает их инактивацию [8]. Необходимо отметить, что для полноценного взаимодействия с рецептором необходима целостность С-концевого участка проапелина, включающего 13 аминокислотных остатков, который структурно соответствует апелину-13 [9].

Прекурсоры апелина человека, быка, крысы и мыши характеризуются высокой гомологией первичной структуры (76–95 % идентичности). В процессе хранения в везикулах и последующей секреции молекулы прекурсоров апелина соединены между собой дисульфидными связями и образуют димерные структуры [7]. При попадании в кровотоки дисульфидные связи разрушаются, димерные комплексы диссоциируют, и это обеспечивает генерацию активных форм апелина, способных эффективно взаимодействовать с рецепторами [10].

Высокий уровень экспрессии гена *APLN*, кодирующего препроапелин, отмечен в адипоцитах, причём экспрессия препроапелина возрастает в процессе их дифференцировки [11]. Важную роль в усилении экспрессии гена *APLN* играют инсулин, гормон роста и фактор-α некроза опухолей [11]. Помимо жировой ткани, экспрессия гена *APLN* выявлена в миокарде, желудке, мозге, лёгких, матке, яичниках, плаценте [9, 12, 13]. Транскрипты мРНК для препроапелина обнаружены в эндотелии мелких сосудов, пронизывающих лёгкие, селезёнку, печень, поджелудочную железу, жировую ткань [6, 14]. Все это свидетельствует об обширной «географии» синтеза апелина в организме и указывает на широкий спектр его регуляторных эффектов на физиологические и биохимические процессы. Таким образом, апелин не только гормоноподобное вещество, циркулирующее в крови, но и ауто- и паракринный фактор в целом ряде тканей-мишеней.

РАЗДЕЛ 2. СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ АПЕЛИНА И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА КЛЕТочНЫЕ ПРОЦЕССЫ

Свои регуляторные эффекты на клетку активные формы апелина оказывают через посредство рецептора апелина APJ, кодируемого геном *APLNR* [15]. Апелиновый рецептор APJ был обнаружен ещё в 1993 году, но сначала был ошибочно отнесён к семейству рецепторов ангиотензина, что было связано с его высокой гомологией (40–50 % идентичности) по отношению к ангиотензиновому рецептору 1-го типа [16]. Рецептор APJ относится к семейству G-белок-сопряжённых рецепторов, семь раз пронизывающих плазматическую мембрану, и взаимодействует со всеми активными формами апелина, содержащими С-концевой тридекапептидный фрагмент проапелина [5, 13]. В активированном состоянии рецептор APJ взаимодействует с различными регуляторными белками, в том числе с гетеротримерными $G_{i/o}$ -белками, запуская сразу несколько внутриклеточных сигнальных каскадов (рис. 1). В пользу активации $G_{i/o}$ -белков свидетельствует то, что апелин снижает стимулированную форсколином и гормонами активность фермента аденилатциклазы в клетках, где экспрессируется рецептор APJ [5, 13, 17]. Различные изоформы апелина активируют $G_{q_{11}}$ - и $G_{q_{12}}$ -субъединицы $G_{i/o}$ -белков, но не влияют на активность их $G_{q_{13}}$ -субъединиц. Наряду с этим апелин стимулирует ERK1/2-киназы, ключевые компоненты каскада митоген-активируемых протеинкиназ (МАПК), а также фермент фосфатидилинозитол-3-киназу (ФИ-3-К) и зависимые от неё 3-фосфоинозитидные пути (рис. 1). Способность активировать ФИ-3-К и нижележащую Akt-киназу играет определяющую роль в регуляции апелином роста, дифференцировки и выживаемости клеток [17, 18].

При длительном воздействии апелина на клетки-мишени отмечается снижение чувствительности к нему всех трёх эффекторных ферментов – аденилатциклазы, ERK1/2 и ФИ-3-К, что свидетельствует о десенситизации рецепторов APJ к стимулирующему влиянию апелина. При этом укороченная форма рецептора, лишённая цитоплазматического С-концевого домена, не подвергается десенситизации при длительном воздействии апелина-13, но парадоксальным образом теряет активность при длительном воздействии апелина-36 [17]. Необходимо отметить, что в С-концевом домене большинства G-белок-сопряжённых рецепторов локализованы сайты,

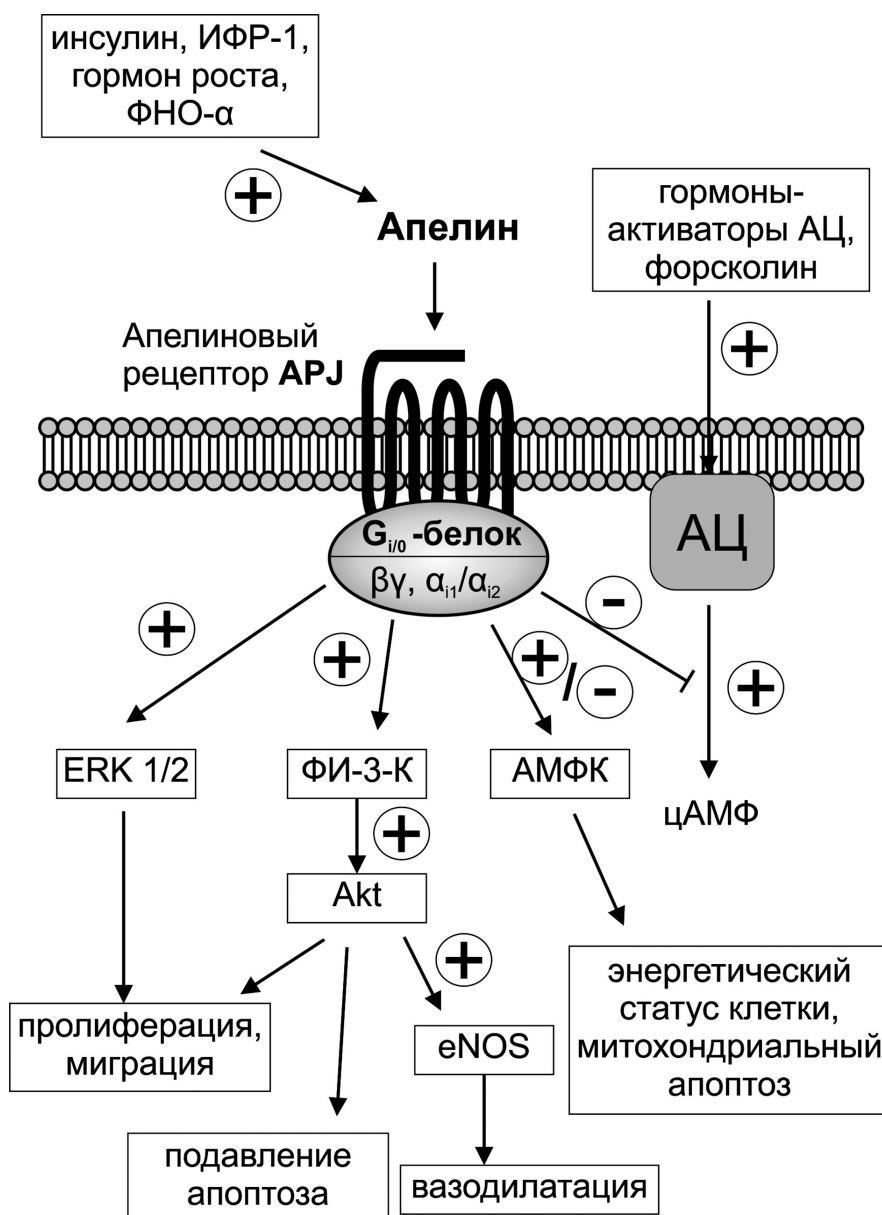


Рис. 1. Регуляция экспрессии апелина и его внутриклеточные сигнальные пути, опосредуемые через рецептор APJ, сопряжённый с $G_{12/13}$ -белками: АМФК – АМФ-активируемая протеинкиназа; АЦ – гормоночувствительная аденилатциклаза; ИФР-1 – инсулиноподобный фактор роста-1; ФИ-3-К – фосфатидилинозитол-3-киназа; ФНО- α – фактор некроза опухолей- α ; цАМФ – циклический аденозинмонофосфат; Akt – серин/треониновая протеинкиназа Akt, активируемая 3-фосфоинозидами; eNOS – эндотелиальная NO-синтаза; ERK1/2 – протеинкиназа, активируемая внеклеточными сигналами (extracellular signal-regulated kinase), компонент каскада митогенактивируемых протеинкиназ; $G_{12/13}$ -белок, $\beta\gamma$ и α_1/α_2 – гетеротримерный $G_{12/13}$ -белок, состоящий из $\beta\gamma$ -димера и α_1/α_2 -субъединицы.

Fig. 1. The regulation of the expression of apelin and its intracellular signaling pathways mediated through the APJ receptor coupled to $G_{12/13}$ -proteins: АМФК – AMP-activated protein kinase; АЦ – hormone-sensitive adenylyl cyclase; ИФР-1 – insulin-like growth factor-1; ФИ-3-К – phosphatidylinositol-3-kinase; ФНО- α – tumor necrosis factor- α ; цАМФ – cyclic adenosine monophosphate; Akt – serine/threonine protein kinase Akt, activated by 3-phosphoinositides; eNOS – endothelial NO synthase; ERK1/2 – extracellular signal-regulated kinase, a component of the cascade of mitogen-activated protein kinases; $G_{12/13}$ -protein, $\beta\gamma$ and α_1/α_2 – heterotrimeric $G_{12/13}$ -protein, consisting of the $\beta\gamma$ -dimer and α_1/α_2 -subunit.

которые фосфорилируются GRK-киназами, что приводит к лиганд-опосредованному эндоцитозу рецепторов и снижению чувствительности клеток к гормонам.

Имеются веские основания полагать, что стимулирующее влияние апелина на ERK1/2-киназы осуществляется посредством G_{12} -субъединицы, высвобождающейся при активации G_{12} -белков [19]. Ингибирование G_{12} -субъединицы или экспрессия её неактивной мутантной формы предотвращали стимулирующий эффект апелина на ERK1/2-киназы. Стимулирующий эффект апелина-13

был дозозависимым, выявлялся при концентрации 10 нМ и достигал максимума при концентрации 100 нМ. При этом ни одна из активных форм апелина не влияла на другой компонент MAPK-каскада – киназу p38-MAPK [19].

Активация рецептора APJ апелином меняет содержание внутри клетки активных форм кислорода [20]. Так, в кардиомиоцитах апелин снижает окислительный стресс, вызванный обработкой перекисью водорода, причём его эффект обусловлен повышением экспрессии гена, кодирующего фермент каталазу, ключевой элемент системы

антиоксидантной защиты. Обработка мышей апелином предотвращает гипертрофические изменения в левом желудочке сердца, индуцированные повышением артериального давления. При этом отмечается повышение активности миокардиальной каталазы и снижается уровень перекисных липидов в крови, что свидетельствует об ослаблении окислительного стресса [20]. Эти данные свидетельствуют о том, что апелин может использоваться для коррекции кардиомиопатий и других заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Стимуляция ФИ-3-К и ERK1/2-киназ играет важную роль в нейропротекторном эффекте апелина. Экспозиция кортикальных нейронов с апелином (1–5 нМ, 24 ч) повышала их выживаемость при воздействии индукторов апоптоза [21]. Так, апелин предотвращал вызываемое обеднённой средой повышение уровня активных форм кислорода, деполяризацию митохондрий, высвобождение цитохрома с и активацию каспазного пути. Наряду с этим он ингибировал вызываемое глутаматом повышение внутриклеточного уровня кальция и предупреждал тем самым развитие эксайтотоксичности, ведущей к гибели нейронов и нейродегенерации [21].

В нейронах апелин-13 влияет на активность АМФ-активируемой протеинкиназы (АМФК), основного энергетического сенсора клетки, ослабляя апоптоз нервных клеток в условиях ишемии головного мозга [22] (рис. 1). Установлено, что при ишемии-реперфузии, ведущей к острой гипоксии головного мозга и окислительному стрессу, отмечается гиперактивация АМФК. При интрацеребральном введении апелина-13 за 15 мин до реперфузии стимулирующий эффект ишемии-реперфузии на активность АМФК ослабляется, уменьшается число нейронов, подвергшихся апоптозу, снижается активность проапоптотических белков Вах и каспазы-3 и повышается активность антиапоптотического белка Bcl-2. При совместном введении апелина-13 и селективного ингибитора АМФК антиапоптотический эффект апелина блокируется. Эти данные указывают на то, что нейропротекторный эффект апелина в значительной степени обусловлен его влиянием на активность АМФК [22].

АМФК является мишенью для апелина не только в ЦНС, но и в адипоцитах. На это указывает способность апелина повышать активность ацетил-СоА-карбоксилазы, одной из мишеней АМФК. Для мышей, нокаутных по гену *APLN*, были характерны сильно выраженное абдоминальное ожирение, повышение уровней свободных жирных кислот, гиперлептинемия. Введение апелина частично восстанавливало показатели липидного обмена и уровень лептина у мутантных мышей [23]. Апелин также снижал индуцированную изопротеренолом продукцию свободных жирных кислот в адипоцитах, выделенных из жировой ткани контрольных мышей, но не влиял на неё в адипоцитах, выделенных из жировой ткани мышей, нокаутных по апелиновому рецептору APJ. Ингибирующий эффект апелина на продукцию свободных жирных кислот блокировался ингибиторами АМФК. На основании этого сделан вывод о том, что АМФК играет важную роль в реализации ингибирующих эффектов апелина на липолиз в адипоцитах [23].

Экспрессия рецептора APJ продемонстрирована в мозге, яичниках, семенниках, почках, поджелудочной железе, сердце, молочной железе, а его распределение характеризуется видовой и тканевой специфичностью.

У человека наиболее высокий уровень экспрессии рецептора APJ отмечен в мозге и селезёнке, более низкий – в яичниках и плаценте, в то время как у мышей и крыс наиболее высокий уровень экспрессии рецептора APJ наблюдается в сердце [10]. Экспрессия рецептора APJ регулируется инсулином, эстрогенами, глюкокортикоидами, цАМФ, некоторыми транскрипционными факторами [24]. Показано, что эстрогены и глюкокортикоиды связываются со специфичными к ним рецепторами, локализованными в клетках, интенсивно экспрессирующих рецепторы APJ. Необходимо отметить, что индуцируемые стрессовыми воздействиями факторы усиливают экспрессию рецептора APJ в ЦНС [10].

Все вышесказанное свидетельствует о том, что апелин вовлечён в регуляцию функций ЦНС, сердечно-сосудистой, выделительной и других систем организма. Но в последние годы всё большее внимание уделяют роли апелина в контроле функций нейроэндокринной и репродуктивной систем, что и является предметом обсуждения в следующих разделах.

РАЗДЕЛ 3. ЭФФЕКТЫ АПЕЛИНА НА ГИПОТАЛАМИЧЕСКИЕ И ГИПОФИЗАРНЫЕ ЗВЕНЬЯ ГОНАДНОЙ ОСИ

Структуры мозга и, в первую очередь, гипоталамус являются основными мишенями для апелина. Апелинергические нейроны были открыты в мозге крысы ещё в 2002 году [25]. Топография их распределения в ЦНС свидетельствует о том, что апелин является важнейшим нейропептидом, контролирующим когнитивные функции и активность нейроэндокринной системы. У крысы экспрессия генов, кодирующих апелин и его рецептор, продемонстрирована в преоптической области, супраоптическом и паравентрикулярном ядрах гипоталамуса и в большом количестве в аркуатных ядрах гипоталамуса. В аркуатных ядрах количество апелина в нейронах, экспрессирующих про-опиомеланокортин (ПОМК), предшественник анорексигенных меланокортиновых пептидов, было существенно выше, чем в нейронах, экспрессирующих орексигенные факторы – агути-подобный пептид (АПП) и нейропептид Y (НПУ). В ПОМК-экспрессирующих нейронах также отмечали высокий уровень экспрессии рецептора APJ [25].

При действии на ПОМК-экспрессирующие нейроны крысы апелин-17 повышал секрецию α-меланоцитстимулирующего гормона, основного регулятора меланокортиновой системы гипоталамуса, что с учётом экспрессии апелина и его рецептора в тех же нейронах указывает на функционирование апелина в аркуатных ядрах гипоталамуса как аутокринного фактора [26]. Регуляторные эффекты апелина на АПП/НПУ-экспрессирующие нейроны и продукцию ими НПУ выражены намного слабее. Даже при длительном (10 дней) внутрибрюшинном введении крысам апелина-13 в высокой дозе 300 мкг/кг отмечалось лишь незначительное снижение уровня НПУ в крови, а уровень АПП не менялся. Парадоксально, что у крыс, обработанных апелином, на фоне активации меланокортиновой системы и снижения продукции НПУ отмечали гиперфагию и повышение массы тела. Это кажущееся несоответствие обусловлено значительным по величине повышением продукции орексигенного фактора грелина у крыс при их обработке высокими дозами апелина [27]. Имеются убедительные доказательства того, что грелин является негативным ре-

гулятором активности ГнРГ-экспрессирующих нейронов и с высокой эффективностью подавляет продукцию гонадотропинов гонадотрофами [28]. Таким образом, с одной стороны, апелин стимулирует меланокортиновую систему и ослабляет продукцию NPY, что должно было бы положительно влиять на активность ГнРГ-экспрессирующих нейронов. С другой стороны, он активирует продукцию грелина, оказывая на эти нейроны противоположное действие. Это позволило сделать вывод о том, что характер влияния апелина как на энергетический обмен, так и на гипоталамические звенья ГГГ оси в значительной степени зависит от паттерна изоформ апелина, дозы, способа и продолжительности введения препаратов, а также от метаболического и гормонального статуса экспериментальных животных [29].

Хроническое интрацеребровентрикулярное введение апелина мышам в высоких дозах стимулирует продукцию факторов воспаления в гипоталамусе, повышает уровень провоспалительного цитокина – интерлейкина-1 β – в крови и снижает расход энергии, подавляя термогенез в бурой жировой ткани, что негативно влияет на функции всех звеньев ГГГ оси [30]. Одним из эффектов при воздействии апелина на гипоталамические структуры является активация кортиколиберин-экспрессирующих нейронов, что приводит к повышению уровней АКТГ и кортикостероидов в крови [31, 32]. Активация надпочечниковой системы ослабляет активность ГнРГ-экспрессирующих нейронов и снижает продукцию ЛГ и ФСГ, как это показано при интрацеребровентрикулярном введении крысам пироглутаминил-апелина-13 [32].

Установлено также, что апелин воздействует на магноцеллюлярные и парвоцеллюлярные нейроны гипоталамуса, вырабатывающие нейропептид окситоцин. На это указывают присутствие в этих нейронах апелиновых рецепторов и совместная локализация апелина и окситоцина в 20% окситоцин-экспрессирующих нейронов [33]. Поскольку окситоцин контролирует сократительную активность матки, психоэмоциональное и сексуальное поведение, то ингибирующее влияние апелина на его продукцию является ещё одним механизмом регуляции апелином репродуктивной системы. Подавление апелином активности окситоцин-экспрессирующих нейронов у лактирующих самок крыс снижает количество производимого молочными железами молока, что указывает на роль апелина как регулятора молочного вскармливания.

Экспрессия апелина и его рецептора выявлена в переднем и заднем гипофизе, а также в промежуточных долях гипофиза крысы [24]. При этом в аденогипофизе апелин экспрессируется в гонадотрофах, кортикотрофах и соматотрофах, что указывает на тесную взаимосвязь между активностью апелиновых сигнальных путей в аденогипофизе и функционированием гонадной, соматотропной и надпочечниковой осей [25, 34]. Однако механизмы действия апелина на гонадотрофы и продукцию ими ЛГ и ФСГ в настоящее время не изучены. При этом по аналогии с лептином и адипонектином, можно предположить, что апелин, функционируя в аденогипофизе как ауто- и паракринный фактор, регулирует функциональную активность гонадотрофов и их ответ на ГнРГ.

РАЗДЕЛ 4. АПЕЛИНОВАЯ СИСТЕМА В ЯИЧНИКАХ

Апелин и рецепторы APJ обнаружены в кумулюсных и тека-клетках яичников человека, причём они представ-

лены там на различных стадиях развития фолликулов [35]. Компоненты апелиновой системы обнаружены в яичниках большинства млекопитающих. При изучении экспрессии апелина в яичниках коровы показано, что в ходе эстрального цикла он выше, чем при беременности. Наряду с этим в ходе эстрального цикла после регрессии жёлтого тела отмечается снижение экспрессии гена *APLN*. Экспрессия гена, кодирующего рецептор APJ, в яичниках коровы существенно повышалась в период с 5-го по 7-й и с 8-го по 12-й дни цикла, далее снижалась в период с 13-го по 16-й дни и в ещё большей степени – к 18-му дню цикла. Экспрессия генов, кодирующих апелин и его рецептор, в фолликулах усиливалась при повышении уровня эстрадиола выше 5 нг/мл, и это сопровождалось интенсификацией роста и созревания фолликулов. Имеются основания полагать, что апелин стимулирует ангиогенез при созревании фолликулов и в процессе формирования жёлтого тела [36]. При повышении размера фолликулов экспрессия генов *APLN* и *APLNR* в клетках гранулезы и в ооцитах повышалась, причём наибольших значений она достигала в клетках гранулезы наиболее крупных фолликулов, как это показано при изучении яичников свиньи [37, 38].

Основным регулятором экспрессии генов *APLN* и *APLNR* в клетках яичников человека является инсулиноподобный фактор роста-1 (ИФР-1), который характеризуется мощным пролиферативным и антиапоптотическим действием [35, 38]. При обработке культуры гранулезных клеток человека с помощью ИФР-1 значительно повышалась экспрессия гена *APLNR*. В свою очередь обработка тех же клеток апелином усиливала стимулирующий эффект ИФР-1 на синтез стероидных гормонов, и это потенцирующее действие апелина предотвращалось антагонистами рецептора APJ [35]. Потенцирующее действие апелина на ИФР-1-индуцированную стимуляцию стероидогенеза обусловлено повышением экспрессии стероидогенного фермента – 3 β -гидростероиддегидрогеназы, а также активацией Akt-киназы, эффекторного компонента 3-фосфоинозитидного пути, и MAPK-каскада. В клетках яичников, полученных от женщин с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ), отмечали ослабление потенцирующего действия апелина на эффекты ИФР-1, что проливает свет на возможную роль апелиновой системы в патогенезе СПКЯ [35, 38]. Апелин не только усиливает стероидогенный эффект ИФР-1, но и сам при обработке им первичной культуры клеток яичников активирует стероидогенные ферменты и усиливает продукцию стероидных гормонов – прогестерона и эстрадиола [35]. Апелин также стимулирует пролиферацию клеток яичников, что обусловлено его активирующим эффектом на Akt- и ERK1/2-киназы, и нормализует энергетический статус фолликулярных клеток, повышая фосфорилирование в них АМФК [37].

Установлено, что апелин контролирует апоптотические процессы в гранулезных клетках яичников. Выключение гена апелинового рецептора с помощью микро-РНК повышало экспрессию факторов, стимулирующих апоптоз и воспаление, таких как Bad, Bax и Foxo3a, и снижало экспрессию антиапоптотического фактора Bcl-2 [39]. К сходному результату приводила и обработка гранулезных клеток ингибитором ФИ-3-К – соединением LY294002, что указывает на вовлечение в антиапоптотический эффект апелина 3-фосфоинозитидного пути [39]. Через посредство 3-фосфоинозитидного пути апелин

стимулирует активность эндотелиальной NO-синтазы – фермента, катализирующего синтез оксида азота (рис. 1). При формировании жёлтого тела приводит к NO-индуцированному расширению кровеносных сосудов и усилению в них кровотока и, как следствие, вызывает лютеинизацию жёлтого тела [6].

РАЗДЕЛ 5. ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ АПЕЛИНОВОЙ СИСТЕМОЙ И НАРУШЕНИЯМИ ФУНКЦИЙ ЯИЧНИКОВ У ЖЕНЩИН

СПКЯ – наиболее распространённое заболевание женской репродуктивной системы, важнейшей причиной которого является инсулиновая резистентность. Это обуславливает высокую встречаемость СПКЯ у женщин с сахарным диабетом 2-го типа, метаболическим синдромом и тяжёлыми формами абдоминального ожирения. Экспрессии генов, кодирующих апелин и его рецептор, в гранулезных клетках яичников у женщин с СПКЯ, а также уровень апелина в их фолликулярной жидкости существенно повышены в сравнении со здоровыми женщинами, что свидетельствует о вовлечении апелина и его сигнальных путей в этиологию и патогенез СПКЯ [35]. Это предполагает существование ассоциации между уровнем апелина в крови и СПКЯ. Однако данные в отношении концентрации апелина в крови женщин с СПКЯ противоречивы и указывают как на возможность её повышения, так и снижения при этой патологии [40, 41, 42, 43, 44].

Так, китайские эндокринологи показали, что женщины с СПКЯ в сочетании с ожирением имеют сильно повышенные уровни апелина, что сопровождается гиперинсулинемией, повышением уровней тестостерона и ЛГ и соотношения ЛГ/ФСГ [44]. Лечение метформином приводило к нормализации этих показателей, в том числе снижало уровень апелина. Польские медики обнаружили, что уровни апелина в крови женщин с СПКЯ и ожирением существенно ниже, чем у женщин с СПКЯ без ожирения, а уровень апелина отрицательно коррелирует с концентрацией ЛГ и соотношением ЛГ/ФСГ [43]. Интересно отметить, что две разных группы турецких эндокринологов получили совершенно противоположные результаты – одни показали, что женщины с СПКЯ имеют статистически значимо более высокие уровни апелина в крови [42], в то время как другие обнаружили их значительное снижение [40]. Эти расхождения, возможно, связаны с гетерогенностью выбранных для анализа групп пациентов, а также с существенными различиями в индексе массы тела и степени выраженности инсулиновой резистентности, оказывающих большое влияние на уровень циркулирующего в крови апелина и паттерн его изоформ.

Имеется тесная взаимосвязь между апелиновой системой и эндометриозом, широко распространённым гинекологическим заболеванием [45]. С помощью иммуногистохимических методов апелин был обнаружен как в эндометрии, локализованном в матке, так и в эндометрии, имеющем эктопическую внематочную локализацию. На различных стадиях развития эндометрия отмечали специфические изменения экспрессии в нём апелина, что указывает на функционирование апелина в этой ткани, как ауто- и паракринного фактора. Свои эффекты на эндометрий апелин осуществляет через посредство активации эндотелиальной NO-синтазы и NO-зависимых каскадов, влияя тем самым на пролиферацию и миграцию клеток эндотелия [45].

Повышенная экспрессия генов, кодирующих апелин и апелиновый рецептор, обнаружена в опухолях яичников. При этом экспрессия гена *APLN* в опухолевых эпителиальных клетках яичников была выше, чем таковая в опухолевых гранулезных клетках, в то время как для гена *APLN* закономерность была обратной. Бисфенол А и его галогенпроизводные, усиливающие рост опухолей яичников, повышали экспрессию гена *APLN* и секрецию апелина клетками карциномы яичников OVCAR-3, причём секретируемый во внеклеточную среду апелин в значительной степени стимулировал рост этих клеток [46]. Необходимо отметить, что апелин стимулирует миграцию опухолевых клеток и их рост при других формах рака [47], вследствие чего антагонисты апелина могут рассматриваться как прототипы лекарственных препаратов для лечения опухолей различной природы и локализации, в том числе рака яичников. С другой стороны, при использовании агонистов апелина необходимо учитывать их стимулирующее влияние на онкогенез и метастазирование.

РАЗДЕЛ 6. АПЕЛИН И МУЖСКАЯ РЕПРОДУКТИВНАЯ СИСТЕМА

В отношении участия апелина в регуляции функций семенников и мужской репродуктивной системы сведения ограничены. В 2015 г. группой турецких учёных было изучено влияние интрацеребрально вводимого самцам крыс апелина на функциональное состояние их ГГГ оси [48]. Показано, что введение апелина-13 в желудочки мозга в дозах 1 и 10 нмоль снижало уровень ЛГ в крови животных, но не влияло на уровень у них ФСГ. При введении 1 нмоль апелина уровень тестостерона в крови менялся слабо, в то время как в более высокой дозе апелин его заметно снижал. При этом существенного влияния на морфологию семявыносящих канальцев и ультраструктуру клеток Лейдига, а также на качество спермограмм обе дозы апелина не оказывали. Основываясь на этих результатах, авторы сделали вывод о негативной регуляции апелином-13 ГГГ оси у самцов крыс, но без существенного влияния на гистологическую структуру семенников и процесс сперматогенеза [48]. В дальнейшем той же группой было изучено внутрибрюшинное введение самцам крыс Wistar-Albino апелина-13 в суточных дозах 1, 5 и 50 мкг/кг в течение 14 дней [49]. Такая обработка статистически значимо снижала уровни тестостерона и ЛГ, приводила к повышению массы тела, гиперфагии, повышала уровни атерогенного холестерина и индекс атерогенности. Эти данные свидетельствуют о том, что длительное внутрибрюшинное введение апелина-13 самцам крыс, индуцируя ожирение и дислипидемию, снижает продукцию основных гормонов ГГГ оси – ЛГ и тестостерона [49].

Вопрос о непосредственном воздействии апелина на тестикулярную ткань не решён, поскольку в ряде работ показано, что экспрессия рецептора апелина в семенниках человека и грызунов либо отсутствует, либо находится на относительно низком уровне [50, 51]. В то же время сам апелин экспрессируется в семенниках, как это показано для клеток Лейдига человека и крысы [13, 50]. Остаётся открытым вопрос о соотношении в семенниках пула апелина, поступающего из кровотока через гематотестикулярный барьер, и пула этого адипокина, синтезируемого в тестикулярных клетках *de novo*.

Таким образом, имеющиеся в настоящее время данные указывают на вовлечение апелина в регуляцию мужской ГГГ оси на гипоталамическом уровне, в то время как способность апелина непосредственно влиять на семенники требует дальнейших исследований. В этой связи необходимо отметить, что ещё сравнительно недавно ставилось под сомнение регуляторное воздействие лептина и адипонектина на пролиферацию и дифференцировку тестикулярных клеток, синтез ими стероидных гормонов и процесс сперматогенеза, но в настоящее время такая регуляция считается доказанной и функционально важной [2, 3, 4].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одним из важнейших представителей семейства адипокинов у человека и других млекопитающих является апелин, значительная часть пула которого продуцируется жировой тканью. В процессе синтеза из предшественника проапелина генерируется несколько изоформ апелина, которые различаются по длине полипептидной цепи и специфической биологической активности. Все они активируют апелиновый рецептор, функционально сопряжённый с гетеротримерными $G_{i/o}$ -белками, через которые осуществляется регуляция внутриклеточных сигнальных каскадов, вовлечённых в контроль пролиферации, энергетического обмена, апоптоза и других клеточных процессов. В последние годы получены убедительные доказательства того, что апелин способен регулировать репродуктивную систему, причём его действие реализуется на всех уровнях ГГГ оси. Молекулярной основой этого является экспрессия апелина и его рецептора в гипоталамусе, гипофизе, гонадах. Действуя на уровне гипоталамуса, апелин меняет активность меланокортиновой и грелиновой систем и тем самым влияет на активность ГнРГ-экспрессирующих нейронов и секрецию ими ГнРГ. В яичниках апелин контролирует процессы роста и созревания фолликулов, стимулирует ангиогенез, влияет на стероидогенную активность фолликулярных клеток, модулирует стероидогенные эффекты других гормональных агентов, в первую очередь ИФР-1. Различные изоформы апелина вовлечены в развитие таких широко распространённых заболеваний женской репродуктивной системы, как СПКЯ, эндометриоз, карцинома яичников. Данные в отношении регуляции апелином мужской репродуктивной системы немногочисленны и ограничиваются, в основном, экспериментальными исследованиями, демонстрирующими участие апелина в регуляции мужской ГГГ оси на гипоталамическом уровне.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и ДНТ (грант № 18-515-45004 ИНД_а) и частично госзадания АААА-А18-118012290427-7.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шпаков А.О. *Регуляция и молекулярные механизмы функционирования гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси*. СПб: Изд-во Политехнического университета; 2017.
2. Roa J. Role of GnRH neurons and their neuronal afferents as key integrators between food intake regulatory

signals and the control of reproduction. *Int J Endocrinol*. 2013; 2013: 518046. doi: 10.1155/2013/518046

3. Roumaud P, Martin L. Roles of leptin, adiponectin and resistin in the transcriptional regulation of steroidogenic genes contributing to decreased Leydig cells function in obesity. *Horm Mol Biol Clin Invest*. 2015; 24(1): 25-45. doi: 10.1515/hmbci-2015-0046

4. Shpakov AO, Ryzhov JuR, Bakhtuykov AA, Derkach KV. The regulation of the male hypothalamic-pituitary-gonadal axis and testosterone production by adipokines. In: Estrada M. (ed.). *Advances in Testosterone Action*. Rijeka, Croatia: IntechOpen; 2018: 25-57. doi: 10.5772/intechopen.76321

5. Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou MX, et al. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1998; 251 (2): 471–476. doi: 10.1006/bbrc.1998.9489

6. Tatemoto K, Takayama K, Zou MX, Kumaki I, Zhang W, Kumano K, et al. The novel peptide apelin lowers blood pressure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regul Pept*. 2001; 99(2-3): 87-92. doi: 10.1016/s0167-0115(01)00236-1

7. Zhen EY, Higgs RE, Gutierrez JA. Pyroglutamyl apelin-13 identified as the major apelin isoform in human plasma. *Anal Biochem*. 2013; 442(1): 1-9. doi: 10.1016/j.ab.2013.07.006.

8. Wang W, McKinnie SMK, Farhan M, Paul M, McDonald T, McLean B, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 metabolizes and partially inactivates pyr-apelin-13 and apelin-17: physiological effects in the cardiovascular system. *Hypertension*. 2016; 68(2): 365-377. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06892

9. Gerbier R, Leroux V, Couvineau P, Alvear-Perez R, Maigret B, Llorens-Cortes C, et al. New structural insights into the apelin receptor: identification of key residues for apelin binding. *FASEB J*. 2015; 29(1): 314-322. doi: 10.1096/fj.14-256339

10. O'Carroll AM, Lolait SJ, Harris LE, Pope GR. The apelin receptor APJ: journey from an orphan to a multifaceted regulator of homeostasis. *J Endocrinol*. 2013; 219(1): R13-R35. doi: 10.1530/JOE-13-0227

11. Boucher J, Masri B, Daviaud D, Gesta S, Guigné C, Mazzucotelli A, et al. Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology*. 2005; 146(4): 1764-1771. doi: 10.1210/en.2004-1427

12. De Falco M, De Luca L, Onori N, Cavallotti I, Artigiano F, Esposito V, et al. Apelin expression in normal human tissues. *In Vivo*. 2002; 16(5): 333-336.

13. Habata Y, Fujii R, Hosoya M, Fukusumi S, Kawamata Y, Hinuma S, et al. Apelin, the natural ligand of the orphan receptor APJ, is abundantly secreted in the colostrums. *Biochim Biophys Acta*. 1999; 1452(1): 25-35. doi: 10.1016/S0167-4889(99)00114-7

14. De Falco M, Fedele V, Russo T, Virgilio F, Sciarillo R, Leone S, et al. Distribution of apelin, the endogenous ligand of the APJ receptor, in the lizard *Podarcis sicula*. *J Mol Histol*. 2004; 35(5): 521-527. doi: 10.1007/s10735-004-1247-1

15. Pitkin SL, Maguire JJ, Bonner TI, Davenport AP. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIV. Apelin receptor nomenclature, distribution, pharmacology, and function. *Pharmacol Rev*. 2010; 62: 331-342. doi: 10.1124/pr.110.002949

16. O'Dowd BF, Heiber M, Chan A, Heng HH, Tsui LC, Kennedy JL, et al. A human gene that shows identity with

the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene*. 1993; 136(1-2): 355-360. doi: 10.1016/0378-1119(93)90495-O

17. Masri B, Morin N, Pedebnarde L, Knibiehler B, Audigier Y. The apelin receptor is coupled to G₁₁ or G₁₂ protein and is differentially desensitized by apelin fragments. *J Biol Chem*. 2006; 281(27): 18317-18326. doi: 10.1074/jbc.M600606200

18. Kurowska P, Barbe A, Różycka M, Chmieleńska J, Dupont J, Rak A. Apelin in reproductive physiology and pathology of different species: a critical review. *Int J Endocrinol*. 2018; 2018: 9170480. doi: 10.1155/2018/9170480

19. Bai B, Tang J, Liu H, Chen J, Li Y, Song W. Apelin-13 induces ERK1/2 but not p38 MAPK activation through coupling of the human apelin receptor to the G₁₂ pathway. *Acta Biochim Biophys Sinica*. 2008; 40(4): 311-318. doi: 10.1111/j.1745-7270.2008.00403.x

20. Foussal C, Lairez O, Calise D, Pathak A, Guilbeau-Frugier C, Valet P, et al. Activation of catalase by apelin prevents oxidative stress-linked cardiac hypertrophy. *FEBS Lett*. 2010; 584(11): 2363-2370. doi: 10.1016/j.febslet.2010.04.025

21. Zeng XJ, Yu SP, Zhang L, Wei L. Neuroprotective effect of the endogenous neural peptide apelin in cultured mouse cortical neurons. *Exp Cell Res*. 2010; 316(11): 1773-1783. doi: 10.1016/j.yexcr.2010.02.005

22. Yang Y, Zhang XJ, Li LT, Cui HY, Zhang C, Zhu CH, et al. Apelin-13 protects against apoptosis by activating AMP-activated protein kinase pathway in ischemia stroke. *Peptides*. 2016; 75: 96-100. doi: 10.1016/j.peptides.2015.11.002

23. Yue P, Jin H, Xu S, Aillaud M, Deng AC, Azuma J, et al. Apelin decreases lipolysis via G_q, G_i, and AMPK-dependent mechanisms. *Endocrinology*. 2011; 152(1): 59-68. doi: 10.1210/en.2010-0576

24. O'Carroll AM, Lolait SJ, Howell GM. Transcriptional regulation of the rat apelin receptor gene: promoter cloning and identification of an Sp1 site necessary for promoter activity. *J Mol Endocrinol*. 2006; 36(1): 221-235. doi: 10.1677/jme.1.01927

25. Reaux A, Gallatz K, Palkovits M, Llorens-Cortes C. Distribution of apelin-synthesizing neurons in the adult rat brain. *Neuroscience*. 2002; 113(3): 653-662. doi: 10.1016/S0306-4522(02)00192-6

26. Reaux-Le Goazigo A, Bodineau L, De Mota N, Jean-del L, Chartrel N, Knauf C, et al. Apelin and the proopiomelanocortin system: a new regulatory pathway of hypothalamic α -MSH release. *Am J Physiol*. 2011; 301(5): E955-E966. doi: 10.1152/ajpendo.00090.2011

27. Saral S, Alkanat M, Sumer A, Canpolat S. Apelin-13 increased food intake with serum ghrelin and leptin levels in male rats. *Bratisl Lek Listy*. 2018; 119(1): 47-53. doi: 10.4149/BLL_2018_010

28. Celik O, Celik N, Aydin S, Aygun BK, Haberal ET, Kuloglu T, et al. Ghrelin action on GnRH neurons and pituitary gonadotropes might be mediated by GnIH-GPR147 system. *Horm Mol Biol Clin Invest*. 2016; 25(2): 121-128. doi: 10.1515/hmbci-2015-0050

29. Ferrante C, Orlando G, Recinella L, Leone S, Chia-varoli A, Di Nisio C, et al. Central apelin 13 administration modulates hypothalamic control of feeding. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2016; 30(3): 883-888.

30. Drougard A, Fournel A, Marlin A, Meunier E, Abot A, Bautzova T, et al. Central chronic apelin infusion decreases energy expenditure and thermogenesis in mice. *Sci Rep*. 2016; 6: 31849. doi: 10.1038/srep31849

31. Newson MJF, Pope GR, Roberts EM, Lolait SJ, O'Carroll AM. Stress-dependent and gender-specific neuroregulatory roles of the apelin receptor in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to acute stress. *J Endocrinol*. 2013; 216(1): 99-109. doi: 10.1530/JOE-12-0375

32. Taheri S, Murphy K, Cohen M, Sujkovic E, Kennedy A, Dhillon W, et al. The effects of centrally administered apelin-13 on food intake, water intake and pituitary hormone release in rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002; 291(5): 1208-1212. doi: 10.1006/bbrc.2002.6575

33. Bodineau L, Taveau C, Lê Quan Sang HH, Osterstock G, Queguiner I, Moos F, et al. Data supporting a new physiological role for brain apelin in the regulation of hypothalamic oxytocin neurons in lactating rats. *Endocrinology*. 2011; 152(9): 3492-3503. doi: 10.1210/en.2011-0206

34. Newson MJF, Roberts EM, Pope GR, Lolait SJ, O'Carroll AM. The effects of apelin on hypothalamic-pituitary-adrenal axis neuroendocrine function are mediated through corticotrophin-releasing factor- and vasopressin-dependent mechanisms. *J Endocrinol*. 2009; 202(1): 123-129. doi: 10.1677/JOE-09-0093

35. Roche J, Ramé C, Reverchon M, Mellouk N, Cornuau M, Guerif F, et al. Apelin (APLN) and apelin receptor (APLNR) in human ovary: expression, signaling, and regulation of steroidogenesis in primary human luteinized granulosa cells. *Biol Reprod*. 2016; 95(5): 104. doi: 10.1095/biolreprod.116.141754

36. Schillfarth S, Antoni B, Schams D, Meyer HH, Berisha B. The expression of apelin and its receptor APJ during different physiological stages in the bovine ovary. *Int J Biol Sci*. 2009; 5(4): 344-350. doi: 10.7150/ijbs.5.344

37. Rak A, Drwal E, Rame C, Knapczyk-Stwora K, Słomczyńska M, Dupont J, et al. Expression of apelin and apelin receptor (APJ) in porcine ovarian follicles and in vitro effect of apelin on steroidogenesis and proliferation through APJ activation and different signaling pathways. *Theriogenology*. 2017; 96: 126-135. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.04.014

38. Roche J, Ramé C, Reverchon M, Mellouk N, Rak A, Froment P, et al. Apelin (APLN) regulates progesterone secretion and oocyte maturation in bovine ovarian cells. *Reproduction*. 2017; 153(5): 589-603. doi: 10.1530/REP-16-0677

39. Shuang L, Jidong W, Hongjuan P, Zhenwei Y. Effects of apelin on proliferation and apoptosis in rat ovarian granulosa cells. *Clin Exp Obst Gynecol*. 2016; 43(3): 409-413.

40. Altinkaya SÖ, Nergiz S, Küçük M, Yüksel H. Apelin levels in relation with hormonal and metabolic profile in patients with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obst Gynecol Reprod Biol*. 2014; 176: 168-172. doi: 10.1016/j.ejogrb.2014.02.022

41. Chang CY, Tsai YC, Lee CH, Chan TF, Wang SH, Su JH. Lower serum apelin levels in women with polycystic ovary syndrome. *Fert Steril*. 2011; 95(8): 2520-2523. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.04.044

42. Gören K, Sağsöz N, Noyan V, Yücel A, Çağlayan O, Bostancı MS. Plasma apelin levels in patients with polycystic ovary syndrome. *J Turk Germ Gynecol Assoc*. 2012; 13(1): 27-31. doi: 10.5152/jtgga.2011.74

43. Olszanecka-Glinianowicz M, Madej P, Nylec M, Owczarek A, Szanecki W, Skałba P, et al. Circulating apelin level in relation to nutritional status in polycystic ovary syndrome and its association with metabolic and hormonal disturbances. *Clin Endocrinol*. 2013; 79(2): 238-242. doi: 10.1111/cen.12120

44. Sun X, Wu X, Zhou Y, Yu X, Zhang W. Evaluation of apelin and insulin resistance in patients with PCOS and therapeutic effect of drospirenone-ethinylestradiol plus metformin. *Med Sci Monitor*. 2015; 21: 2547-2552. doi: 10.12659/MSM.894926

45. Ozkan ZS, Cilgin H, Simsek M, Cobanoglu B, Ilhan N. Investigation of apelin expression in endometriosis. *J Reprod Infert*. 2013; 14(2): 50-55.

46. Hoffmann M, Fiedor E, Ptak A. Bisphenol A and its derivatives tetrabromobisphenol A and tetrachlorobisphenol A induce apelin expression and secretion in ovarian cancer cells through a peroxisome proliferator-activated receptor gamma-dependent mechanism. *Toxicol Lett*. 2017; 269: 15-22. doi: 10.1016/j.toxlet.2017.01.006

47. Picault FX, Chaves-Almagro C, Progetti F, Prats H, Masri B, Audigier Y. Tumour co-expression of apelin and its receptor is the basis of an autocrine loop involved in the growth of colon adenocarcinomas. *Eur J Cancer*. 2014; 50(3): 663-674. doi: 10.1016/j.ejca.2013.11.017

48. Sandal S, Tekin S, Seker FB, Beytur A, Vardi N, Colak C, et al. The effects of intracerebroventricular infusion of apelin-13 on reproductive function in male rats. *Neurosci Lett*. 2015; 602: 133-138. doi: 10.1016/j.neulet.2015.06.059

49. Tekin S, Erden Y, Sandal S, Etem Onalan E, Ozyalin F, Ozen H, et al. Effects of apelin on reproductive functions: relationship with feeding behavior and energy metabolism. *Arch Physiol Biochem*. 2017; 123(1): 9-15. doi: 10.1080/13813455.2016.1211709

50. Medhurst AD, Jennings CA, Robbins MJ, Davis RP, Ellis C, Winborn KY, et al. Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *J Neurochem*. 2003; 84(5): 1162-1172. doi: 10.1046/j.1471-4159.2003.01587.x

51. Pope GR, Roberts EM, Lolait SJ, O'Carroll AM. Central and peripheral apelin receptor distribution in the mouse: species differences with rat. *Peptides*. 2012; 33(1): 139-148. doi: 10.1016/j.peptides.2011.12.005

REFERENCES

1. Shpakov AO. The regulation and molecular mechanisms of functioning of the hypothalamo-pituitary-gonad axis. Sankt-Peterburg; 2017: 284. (In Russ.)

2. Roa J. Role of GnRH neurons and their neuronal afferents as key integrators between food intake regulatory signals and the control of reproduction. *Int J Endocrinol*. 2013; 2013: 518046. doi: 10.1155/2013/518046

3. Roumaud P, Martin L. Roles of leptin, adiponectin and resistin in the transcriptional regulation of steroidogenic genes contributing to decreased Leydig cells function in obesity. *Horm Mol Biol Clin Invest*. 2015; 24(1): 25-45. doi: 10.1515/hmbci-2015-0046

4. Shpakov AO, Ryzhov JuR, Bakhtyukov AA, Derkach KV. The regulation of the male hypothalamic-pituitary-gonadal axis and testosterone production by adipokines. In: Estrada M. (ed.). *Advances in Testosterone Action*. Rijeka, Croatia: IntechOpen; 2018: 25-57. doi: 10.5772/intechopen.76321

5. Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou MX, et al. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1998; 251 (2): 471-476. doi: 10.1006/bbrc.1998.9489

6. Tatemoto K, Takayama K, Zou MX, Kumaki I, Zhang W, Kumano K, et al. The novel peptide apelin lowers blood pres-

sure via a nitric oxide-dependent mechanism. *Regul Pept*. 2001; 99(2-3): 87-92. doi: 10.1016/s0167-0115(01)00236-1

7. Zhen EY, Higgs RE, Gutierrez JA. Pyroglutamyl apelin-13 identified as the major apelin isoform in human plasma. *Anal Biochem*. 2013; 442(1): 1-9. doi: 10.1016/j.ab.2013.07.006

8. Wang W, McKinnie SMK, Farhan M, Paul M, McDonald T, McLean B, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 metabolizes and partially inactivates pyr-apelin-13 and apelin-17: physiological effects in the cardiovascular system. *Hypertension*. 2016; 68(2): 365-377. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06892

9. Gerbier R, Leroux V, Couvineau P, Alvear-Perez R, Maigret B, Llorens-Cortes C, et al. New structural insights into the apelin receptor: identification of key residues for apelin binding. *FASEB J*. 2015; 29(1): 314-322. doi: 10.1096/fj.14-256339

10. O'Carroll AM, Lolait SJ, Harris LE, Pope GR. The apelin receptor APJ: journey from an orphan to a multifaceted regulator of homeostasis. *J Endocrinol*. 2013; 219(1): R13-R35. doi: 10.1530/JOE-13-0227

11. Boucher J, Masri B, Daviaud D, Gesta S, Guigné C, Mazzucotelli A, et al. Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology*. 2005; 146(4): 1764-1771. doi: 10.1210/en.2004-1427

12. De Falco M, De Luca L, Onori N, Cavallotti I, Artigiano F, Esposito V, et al. Apelin expression in normal human tissues. *In Vivo*. 2002; 16(5): 333-336.

13. Habata Y, Fujii R, Hosoya M, Fukusumi S, Kawamata Y, Hinuma S, et al. Apelin, the natural ligand of the orphan receptor APJ, is abundantly secreted in the colostrums. *Biochim Biophys Acta*. 1999; 1452(1): 25-35. doi: 10.1016/S0167-4889(99)00114-7

14. De Falco M, Fedele V, Russo T, Virgilio F, Sciarillo R, Leone S, et al. Distribution of apelin, the endogenous ligand of the APJ receptor, in the lizard *Podarcis sicula*. *J Mol Histol*. 2004; 35(5): 521-527. doi: 10.1007/s10735-004-1247-1

15. Pitkin SL, Maguire JJ, Bonner TI, Davenport AP. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIV. Apelin receptor nomenclature, distribution, pharmacology, and function. *Pharmacol Rev*. 2010; 62: 331-342. doi: 10.1124/pr.110.002949

16. O'Dowd BF, Heiber M, Chan A, Heng HH, Tsui LC, Kennedy JL, et al. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene*. 1993; 136(1-2): 355-360. doi: 10.1016/0378-1119(93)90495-O

17. Masri B, Morin N, Pedebnarde L, Knibiehler B, Audigier Y. The apelin receptor is coupled to G_{i1} or G_{i2} protein and is differentially desensitized by apelin fragments. *J Biol Chem*. 2006; 281(27): 18317-18326. doi: 10.1074/jbc.M600606200

18. Kurowska P, Barbe A, Różycka M, Chmieleńska J, Dupont J, Rak A. Apelin in reproductive physiology and pathology of different species: a critical review. *Int J Endocrinol*. 2018; 2018: 9170480. doi: 10.1155/2018/9170480

19. Bai B, Tang J, Liu H, Chen J, Li Y, Song W. Apelin-13 induces ERK1/2 but not p38 MAPK activation through coupling of the human apelin receptor to the G₁₂ pathway. *Acta Biochim Biophys Sinica*. 2008; 40(4): 311-318. doi: 10.1111/j.1745-7270.2008.00403.x

20. Foussal C, Lairez O, Calise D, Pathak A, Guilbeau-Frugier C, Valet P, et al. Activation of catalase by apelin prevents

oxidative stress-linked cardiac hypertrophy. *FEBS Lett.* 2010; 584(11): 2363-2370. doi: 10.1016/j.febslet.2010.04.025

21. Zeng XJ, Yu SP, Zhang L, Wei L. Neuroprotective effect of the endogenous neural peptide apelin in cultured mouse cortical neurons. *Exp Cell Res.* 2010; 316(11): 1773-1783. doi: 10.1016/j.yexcr.2010.02.005

22. Yang Y, Zhang XJ, Li LT, Cui HY, Zhang C, Zhu CH, et al. Apelin-13 protects against apoptosis by activating AMP-activated protein kinase pathway in ischemia stroke. *Peptides.* 2016; 75: 96-100. doi: 10.1016/j.peptides.2015.11.002

23. Yue P, Jin H, Xu S, Aillaud M, Deng AC, Azuma J, et al. Apelin decreases lipolysis via G_q , G_i , and AMPK-dependent mechanisms. *Endocrinology.* 2011; 152(1): 59-68. doi: 10.1210/en.2010-0576

24. O'Carroll AM, Lolait SJ, Howell GM. Transcriptional regulation of the rat apelin receptor gene: promoter cloning and identification of an Sp1 site necessary for promoter activity. *J Mol Endocrinol.* 2006; 36(1): 221-235. doi: 10.1677/jme.1.01927

25. Reaux A, Gallatz K, Palkovits M, Llorens-Cortes C. Distribution of apelin-synthesizing neurons in the adult rat brain. *Neuroscience.* 2002; 113(3): 653-662. doi: 10.1016/S0306-4522(02)00192-6

26. Reaux-Le Goazigo A, Bodineau L, De Mota N, Jean-del L, Chartrel N, Knauf C, et al. Apelin and the proopiomelanocortin system: a new regulatory pathway of hypothalamic α -MSH release. *Am J Physiol.* 2011; 301(5): E955-E966. doi: 10.1152/ajpendo.00090.2011

27. Saral S, Alkanat M, Sumer A, Canpolat S. Apelin-13 increased food intake with serum ghrelin and leptin levels in male rats. *Bratisl Lek Listy.* 2018; 119(1): 47-53. doi: 10.4149/BLL_2018_010

28. Celik O, Celik N, Aydin S, Aygun BK, Haberal ET, Kuloglu T, et al. Ghrelin action on GnRH neurons and pituitary gonadotropes might be mediated by GnIH-GPR147 system. *Horm Mol Biol Clin Invest.* 2016; 25(2): 121-128. doi: 10.1515/hmbci-2015-0050

29. Ferrante C, Orlando G, Recinella L, Leone S, Chia-varoli A, Di Nisio C, et al. Central apelin 13 administration modulates hypothalamic control of feeding. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2016; 30(3): 883-888.

30. Drougard A, Fournel A, Marlin A, Meunier E, Abot A, Bautzova T, et al. Central chronic apelin infusion decreases energy expenditure and thermogenesis in mice. *Sci Rep.* 2016; 6: 31849. doi: 10.1038/srep31849

31. Newson MJF, Pope GR, Roberts EM, Lolait SJ, O'Carroll AM. Stress-dependent and gender-specific neuroregulatory roles of the apelin receptor in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to acute stress. *J Endocrinol.* 2013; 216(1): 99-109. doi: 10.1530/JOE-12-0375

32. Taheri S, Murphy K, Cohen M, Sujkovic E, Kennedy A, Dhillo W, et al. The effects of centrally administered apelin-13 on food intake, water intake and pituitary hormone release in rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002; 291(5): 1208-1212. doi: 10.1006/bbrc.2002.6575

33. Bodineau L, Taveau C, Lê Quan Sang HH, Osterstock G, Queguiner I, Moos F, et al. Data supporting a new physiological role for brain apelin in the regulation of hypothalamic oxytocin neurons in lactating rats. *Endocrinology.* 2011; 152(9): 3492-3503. doi: 10.1210/en.2011-0206

34. Newson MJF, Roberts EM, Pope GR, Lolait SJ, O'Carroll AM. The effects of apelin on hypothalamic-pituitary-adrenal axis neuroendocrine function are mediated through

corticotrophin-releasing factor- and vasopressin-dependent mechanisms. *J Endocrinol.* 2009; 202(1): 123-129. doi: 10.1677/JOE-09-0093.

35. Roche J, Ramé C, Reverchon M, Mellouk N, Cornuau M, Guerif F, et al. Apelin (APLN) and apelin receptor (APLNR) in human ovary: expression, signaling, and regulation of steroidogenesis in primary human luteinized granulosa cells. *Biol Reprod.* 2016; 95(5): 104. doi: 10.1095/biolreprod.116.141754

36. Schilffarth S, Antoni B, Schams D, Meyer HH, Berisha B. The expression of apelin and its receptor APJ during different physiological stages in the bovine ovary. *Int J Biol Sci.* 2009; 5(4): 344-350. doi: 10.7150/ijbs.5.344.

37. Rak A, Drwal E, Rame C, Knapczyk-Stwora K, Słomczyńska M, Dupont J, et al. Expression of apelin and apelin receptor (APJ) in porcine ovarian follicles and in vitro effect of apelin on steroidogenesis and proliferation through APJ activation and different signaling pathways. *Theriogenology.* 2017; 96: 126-135. doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.04.014.

38. Roche J, Ramé C, Reverchon M, Mellouk N, Rak A, Froment P, et al. Apelin (APLN) regulates progesterone secretion and oocyte maturation in bovine ovarian cells. *Reproduction.* 2017; 153(5): 589-603. doi: 10.1530/REP-16-0677

39. Shuang L, Jidong W, Hongjuan P, Zhenwei Y. Effects of apelin on proliferation and apoptosis in rat ovarian granulosa cells. *Clin Exp Obst Gynecol.* 2016; 43(3): 409-413.

40. Altinkaya SÖ, Nergiz S, Küçük M, Yüksel H. Apelin levels in relation with hormonal and metabolic profile in patients with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obst Gynecol Reprod Biol.* 2014; 176: 168-172. doi: 10.1016/j.ejogrb.2014.02.022

41. Chang CY, Tsai YC, Lee CH, Chan TF, Wang SH, Su JH. Lower serum apelin levels in women with polycystic ovary syndrome. *Fert Steril.* 2011; 95(8): 2520-2523. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.04.044

42. Gören K, Sağsöz N, Noyan V, Yücel A, Çağlayan O, Bostancı MS. Plasma apelin levels in patients with polycystic ovary syndrome. *J Turk Germ Gynecol Assoc.* 2012; 13(1): 27-31. doi: 10.5152/jtgga.2011.74

43. Olszanecka-Glinianowicz M, Madej P, Nylec M, Owczarek A, Szanecki W, Skalba P, et al. Circulating apelin level in relation to nutritional status in polycystic ovary syndrome and its association with metabolic and hormonal disturbances. *Clin Endocrinol.* 2013; 79(2): 238-242. doi: 10.1111/cen.12120

44. Sun X, Wu X, Zhou Y, Yu X, Zhang W. Evaluation of apelin and insulin resistance in patients with PCOS and therapeutic effect of drospirenone-ethinylestradiol plus metformin. *Med Sci Monitor.* 2015; 21: 2547-2552. doi: 10.12659/MSM.894926

45. Ozkan ZS, Cilgin H, Simsek M, Cobanoglu B, Ilhan N. Investigation of apelin expression in endometriosis. *J Reprod Infert.* 2013; 14(2): 50-55.

46. Hoffmann M, Fiedor E, Ptak A. Bisphenol A and its derivatives tetrabromobisphenol A and tetrachlorobisphenol A induce apelin expression and secretion in ovarian cancer cells through a peroxisome proliferator-activated receptor gamma-dependent mechanism. *Toxicol Lett.* 2017; 269: 15-22. doi: 10.1016/j.toxlet.2017.01.006

47. Picault FX, Chaves-Almagro C, Progetti F, Prats H, Masri B, Audigier Y. Tumour co-expression of apelin and its

receptor is the basis of an autocrine loop involved in the growth of colon adenocarcinomas. *Eur J Cancer*. 2014; 50(3): 663-674. doi: 10.1016/j.ejca.2013.11.017

48. Sandal S, Tekin S, Seker FB, Beytur A, Vardi N, Colak C, et al. The effects of intracerebroventricular infusion of apelin-13 on reproductive function in male rats. *Neurosci Lett*. 2015; 602: 133-138. doi: 10.1016/j.neulet.2015.06.059

49. Tekin S, Erden Y, Sandal S, Etem Onalan E, Ozyalin F, Ozen H, et al. Effects of apelin on reproductive functions: relationship with feeding behavior and energy

metabolism. *Arch Physiol Biochem*. 2017; 123(1): 9-15. doi: 10.1080/13813455.2016.1211709

50. Medhurst AD, Jennings CA, Robbins MJ, Davis RP, Ellis C, Winborn KY, et al. Pharmacological and immunohistochemical characterization of the APJ receptor and its endogenous ligand apelin. *J Neurochem*. 2003; 84(5): 1162-1172. doi: 10.1046/j.1471-4159.2003.01587.x

51. Pope GR, Roberts EM, Lolait SJ, O'Carroll AM. Central and peripheral apelin receptor distribution in the mouse: species differences with rat. *Peptides*. 2012; 33(1): 139-148. doi: 10.1016/j.peptides.2011.12.005

Сведения об авторах

Шпаков Александр Олегович – доктор биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной эндокринологии и нейрохимии, ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, e-mail: alex_shpakov@list.ru; <http://orcid.org/0000-0002-4293-3162>; SCOPUS ID: 35231150500, РИНЦ SPIN-код: 6335-8311, Author ID: 87662

Деркач Кира Викторовна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эндокринологии и нейрохимии, ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, e-mail: derkach_k@list.ru; <http://orcid.org/0000-0001-6555-9540>; SCOPUS ID: 6603743572; РИНЦ SPIN-код: 6925-1558; Author ID: 83183

Information about the authors

Aleksandr O. Shpakov – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Molecular Endocrinology and Neurochemistry, Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, e-mail: alex_shpakov@list.ru; <http://orcid.org/0000-0002-4293-3162>; SCOPUS ID: 35231150500, RSCI SPIN Code: 6335-8311, Author ID: 87662

Kira V. Derkach – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Molecular Endocrinology and Neurochemistry, Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, e-mail: derkach_k@list.ru; <http://orcid.org/0000-0001-6555-9540>; SCOPUS ID: 6603743572; RSCI SPIN Code: 6925-1558; Author ID: 83183

Статья получена: 28.01.2019. Статья принята: 17.04.2019. Статья опубликована: 26.06.2019.
Received: 28.01.2019. Accepted: 17.04.2019. Published: 26.06.2019.

БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ BIOLOGY AND MEDICAL BIOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.3.2

Коррекция пищевой гиперчувствительности как основной принцип иммунодиетологии в лечении ожирения и метаболических нарушений

Новиков П.С.

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

Автор, ответственный за переписку: Новиков Павел Сергеевич, e-mail: Pavel.N1234@yandex.ru

Резюме

Обоснование. Ни одна из предложенных в мире диет или систем питания до сих пор не решает проблемы профилактики и системы контроля ожирения. В предлагаемой гипотезе причина неудачи классических методов в борьбе с ожирением кроется в полном игнорировании активного участия иммунной системы в процессах пищеварения с учётом влияния пищевой антигенной нагрузки, которую несёт организм человека вследствие питания. Новое направление Иммунодиетология™ базируется на математически корректном расчёте индивидуальных реакций иммунной системы организма на пищевые антигены и является перспективным направлением для современной диетологии в решении вопросов профилактики и контроля ожирения.

Цель исследования: изучение особенностей гиперчувствительности к пищевым антигенам как основного триггера хронического воспаления в развитии ожирения и метаболических нарушений для возможностей обоснования персонализированных принципов иммунодиетологии.

Методы. Исследование пищевой гиперчувствительности проводилось по методике Immunohealth™, использовался иммуноферментный анализ на специфические IgG к 111 пищевым антигенам. Также методом иммуноферментного анализа в сыворотке крови определялись: ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-17, ТТГ, свободный ТЗ, инсулин. Оценивались ряд биохимических параметров и общий анализ крови.

Результаты. В работе был проведён сравнительный анализ частоты встречаемости кластеров пищевой гиперчувствительности выделенных групп продуктов между волонтерами с повышенным индексом массы тела, по сравнению с волонтерами с нормальным индексом массы тела. Установлена корреляция между гиперчувствительностью к казеину и повышением концентраций ИЛ-6 ($R_s = 0,30$ ($p < 0,05$)); ИЛ-17 ($R_s = 0,32$ ($p < 0,05$)), а также пищевой гиперчувствительностью (тип III) к казеину и развитием атерогенных изменений ($OR = 2,7$ (1,2; 6,3)).

Заключение. Таким образом, результаты показали, что принципы диагностики и оценки, персонализированной пищевой гиперчувствительности являются основой нового направления Иммунодиетология™, которое может являться перспективным направлением современной диетологии в контроле ожирения.

Ключевые слова: пищевые антигены, гиперчувствительность, метаболический синдром, ожирение, иммунодиетология

Для цитирования: Новиков П.С. Коррекция пищевой гиперчувствительности как основной принцип иммунодиетологии в лечении ожирения и метаболических нарушений. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 18-22. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.2

Correction of Food Hypersensitivity as the Main Principle of Immunodietology in the Treatment of Obesity and Metabolic Disorders

Novikov P.S.

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

Corresponding author: Pavel S. Novikov, e-mail: Pavel.N1234@yandex.ru

Abstract

It can be assumed that the reason of failure of classical methods to combat obesity lies in the complete disregard of active involvement of the immune system in the processes of digestion, considering influence of food antigenic load, that is carried by the human body. The new technology Immunodietology™, based on a mathematically correct calculation of the individual response of the body's immune system to food antigens, is a promising trend for modern dietetics in addressing issues of prevention and control of obesity.

Aim. To study the features of hypersensitivity to food antigens, as the main trigger of chronic inflammation in the development of obesity and metabolic disorders, to substantiate the personified principles of immunodietology application.

Methods. The study of food hypersensitivity was carried out according to the methodology of Immunohealth™. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used for specific IgG to 111 food antigens, distributed over antigenic clusters, to create an individual adaptation diet, based on the mathematically-based criterion "norm – anomaly". We determined IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TSH, free T3, insulin in serum by means of ELISA.

Results. A correlation was established between casein hypersensitivity and an increase in IL-6 concentrations ($R_s = 0.30$ ($p < 0.05$)); IL-17 ($R_s = 0.32$ ($p < 0.05$)), as well as food hypersensitivity (Type III) to casein and the development of atherogenic changes ($OR = 2.7$ (1.2; 6.3)).

Conclusions. Thus, the results showed that the principles of diagnosis and evaluation, personalized food hypersensitivity are the basis of the new Immunodietology™ technology, which may be a promising trend in modern dietetics to control obesity.

Key words: food antigens, hypersensitivity, metabolic syndrome, obesity, immunodietology

For citation: Novikov P.S. Correction of Food Hypersensitivity as the Main Principle of Immunodietology in the Treatment of Obesity and Metabolic Disorders. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 18-22. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.2

ОБОСНОВАНИЕ

В существующих рамках стандартных представлений ожирение рассматривается как результат нерационального питания с отсутствием контроля калорий, несоблюдением соотношения белков – жиры – углеводы и прочих нутриентов. При этом ни одна из предложенных в мире диет или систем питания до сих пор не решает проблемы профилактики и системы контроля ожирения. В предлагаемой гипотезе причина неудачи классических методов борьбы с ожирением кроется в полном игнорировании активного участия иммунной системы в процессах пищеварения с учётом влияния пищевой антигенной нагрузки, нарушении иммунной регуляции контроля пищевой толерантности, отсутствии оценки транзиторных и манифестированных реакций гиперчувствительности на пищевые антигены (ПАГ), отражающей эпигенетические воздействия ПАГ, которые несёт организм человека вследствие питания [1].

Перспективным маркером оценки влияния иммунной системы на процессы пищеварения являются показатели IgG-опосредованной гиперчувствительности к пищевым антигенам (ПАГ), которые могут служить доступным критерием оценки влияния пищевой нагрузки на иммунную систему, связанной с количественными и качественными характеристиками пищевых продуктов, особенностями их переваривания, состоянием иммунной системы кишечника и пищевой толерантностью [2]. Пищевая толерантность – динамический активный процесс в жизни человека. Система контроля за пищевыми антигенами объединяет генетику ферментов пищеварения, иммуногенетику цитокинов, функциональные и количественные особенности фенотипа микробиоты, показатели врождённого иммунологического контроля, а именно экспрессию рецепторов на энтероцитах (TLR2, TLR4), активность лимфоцитов (ILC2, ILC3), функции дендритных и М-клеток, количественные характеристики секреторного IgA, IgG, особенности субпопуляций Т-лимфоцитов (Tx1, Tx2, Tx17) по отношению к Treg и метаболизму витаминов А и D [3, 4]. Методология Immunohhealth™ позволяет рассчитать специфические суммарные концентрации IgG, ограниченные персонифицированным пределом нормальных и абнормальных интервалов. Суммарные значения специфических IgG, попавшие в абнормальный интервал, отражают активность гуморального иммунного контроля (специфическими IgG) за частью причинных ПАГ и образование высокоаффинных соединений в виде иммунных комплексов, которые образуются в условиях *in vitro*. В условиях *in vivo* как образование, так и последующая физиологическая элиминация иммунных комплексов являются условно-защитными реакциями иммунной системы, так как, с одной стороны, направлены на поддержание постоянства антигенного присутствия, контроля механизмов пищевой толерантности на территории слизистой кишечника, а с другой – связаны

с такими характеристиками или свойствами антигенов, как специфичность, иммуногенность, критическая масса антигенной детерминанты и персистенция хронического поступления в определённую шоковую зону [5, 6].

Особый интерес представляют IL-17 и IL-6, с которыми связывают не только поддержание иммунного гомеостаза на территории слизистой кишечника, но и развитие системных воспалительных реакций в организме в целом [7, 8]. Интерлейкин-17 стимулирует развитие воспаления путём активации синтеза провоспалительных цитокинов в частности IL-6, а также влияет на проницаемость стенки кишечника, участвуя в регуляции выработки дефензинов и влияет на активность Treg [9].

Методика Immunohhealth™ представляет корректно выполненный отчёт на основе математически обоснованного критерия «норма – аномалия» специфической IgG-опосредованной гиперчувствительности, что позволяет вводить критерии индивидуальной адаптационной диеты или особенностей пищевого стола. В связи с отсутствием нормы IgG для ПАГ методика Immunohhealth™ позволяет выявлять индивидуальные особенности IgG-опосредованной пищевой гиперчувствительности, которые заключаются в виде выявления гиперчувствительности к конкретным пищевым антигенам относительно персонифицированной нормы для ПАГ с последующим их анализом и выявлением связей с патологическими состояниями [10].

Изменения индивидуальной гиперчувствительности на ПАГ в зависимости от локальной среды пребывания человека должны исследоваться и контролироваться динамически в течение жизни. Особенности цитокинового профиля и показатели биохимических и метаболических маркеров, связанные с оценкой пищевой гиперчувствительности, представляют перспективный интерес в вопросах изучения причин повышения массы тела, развития метаболического синдрома, поисков критериев профилактики и контроля.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение особенностей гиперчувствительности к пищевым антигенам как основного триггера хронического воспаления в развитии ожирения и метаболических нарушений для возможностей обоснования персонифицированных принципов иммунодиетологии.

МЕТОДЫ

Для выявления связи между гиперчувствительностью (тип III) к пищевым антигенам и метаболическими нарушениями в нашей работе исследовались персонифицированные иммунологические показатели, связанные с системными воспалительными реакциями в группе волонтеров с повышенным индексом массы тела и в группе сравнения с нормальным индексом массы тела на статистически достоверных выборках. Набор волонтеров и основная

часть исследований проводилось на базе медицинского объединения ООО «Центр семейной медицины» г. Томска.

Данное исследование было одобрено Этическим комитетом ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (Протокол № 5880; дата регистрации 16.04.2018 г.).

Диагностика персонифицированной гиперчувствительности (Тип III) иммунной системы испытуемых к 111 тестируемым пищевым антигенам (ПАГ) проводилась на основе многокомпонентного ИФА (BloodScan™Test, Biomerica, США).

Для определения индивидуальных «кластеров» интолерантности использовались методология и специальные алгоритмы обработки результатов ИФА, описанная нами ранее. Кластеры продуктов, показанные на диаграммах (рис. 1, 2), состоят из следующих продуктов:

- молочные продукты (казеин, молоко коровье, творог, сыр твёрдый);
- зерновые (глютен, пшеница, овёс, рожь, пшено);
- паслёновые (картофель, помидор, баклажан, перец сладкий, перец чили);
- бобовые (соя, фасоль, горох).

Волонтеры контрольной группы: женщины 20–55 лет, 18,5 < ИМТ < 25 ($n = 17$); мужчины 20–55 лет, 18,5 < ИМТ < 25 ($n = 17$). Основным критерием в анамнезе для волонтеров с нормальным ИМТ было отсутствие заболеваний желудочно-кишечного тракта. Волонтеры исследуемой группы: женщины 20–55 лет, ИМТ > 27 ($n = 35$); мужчины 20–60 лет, ИМТ > 27 ($n = 35$). У волонтеров с ИМТ > 29,9 окружность талии составила > 94 см у мужчин и > 80 см у женщин.

Индекс массы тела свыше 27 был взят для исследуемой группы в связи с имеющимися данными о том, что у волонтеров с ИМТ > 27 появляется заметный рост частоты развития гипертонии, болезней сердца и диабета [11].

При представлении результатов специфической гиперчувствительности к пищевым антигенам деление обследованных на группы происходило только по ИМТ. Все волонтеры подписывали информированное согласие, заполняли анкету, проходили взвешивание, сдавали венозную кровь натощак. В ходе анкетирования и сбора анамнеза (наличие данных ФЭГДС) было выявлено, что у части пациентов исследуемой группы (ИМТ > 27) наблюдался атрофический гастрит поверхностного типа. Расширенный анализ крови проводили с использованием гематологического анализатора HEMOLUX. Определение холестерина, триглицеридов, ЛПВП, ЛПНП, глюкозы, АлАТ, АсАТ, С-реактивного белка (Срб) осуществляли с помощью биохимического анализатора Accsent 200 и диагностических наборов Вектор-Бест (Новосибирск). Методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием анализатора Stat Fax и диагностических наборов Вектор-Бест (Новосибирск), Cloud-Clone Corp. (США) в сыворотке крови определяли концентрации ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-17, ТТГ, свободный Т3, инсулин, рассчитывали индексы инсулинорезистентности и атерогенности. Статистическую обработку данных проводили в программах Statistica 6.0, SPSS 19.0 с использованием U-критерия Манна – Уитни, коэффициента ранговой корреляции Спирмена, критерия Фишера (двустороннего) и отношения шансов (OR).

РЕЗУЛЬТАТЫ

При сравнении изучаемых показателей: холестерина, ЛПНП, триглицеридов, глюкозы, АЛТ, инсулина, индекса инсулинорезистентности, индекса атерогенности, Срб, общего количества лейкоцитов, концентрации ИЛ-6, ИЛ-17 было выявлено статистически значимое повышение по-

Лабораторные показатели у волонтеров с нормальным и повышенным ИМТ, Me (P25–P75)

Таблица 1

Table 1

Laboratory indicators of volunteers with elevated and normal body mass index, Me (P25–P75)

Показатели	Референсные значения	Женщины с нормальным ИМТ ($n = 15$)	Женщины с повышенным ИМТ ($n = 35$)	Мужчины с нормальным ИМТ ($n = 15$)	Мужчины с повышенным ИМТ ($n = 35$)
Холестерин, ммоль/л	< 5,2	4,3 (4,0–4,9)	5,5 (5,1–5,9)*	4,8 (4,7–5,2)	5,6 (4,9–6,2)*
Триглицериды, ммоль/л	< 1,71	0,6 (0,4–1,1)	1,3 (0,9–1,6)**	0,9 (0,6–1,1)	1,8 (1,4–2,7)**
ЛПВП, ммоль/л	жен. 1,0–2,1 муж. 0,9–1,8	1,7 (1,5–2,0)	1,4 (1,2–1,7)*	1,4 (1,3–1,6)	1,2 (1,0–1,3)*
ЛПНП, ммоль/л	< 3,5	2,9 (2,1–3,1)	3,6 (3,1–4,2)**	3,0 (2,8–3,5)	3,5 (3,1–4,4)*
Индекс атерогенности	< 3,0	1,4 (1,1–2,1)	3,0 (2,1–3,6)**	2,4 (2,1–2,8)	3,8 (3,2–4,7)**
АЛТ, Е/л	жен.: < 31 муж.: < 40	14 (10–16)	23 (16–34) **	19 (14–27)	32 (21–47)**
Уровень глюкозы натощак, ммоль/л	3,5–6,1	4,2 (4,0–4,8)	5,5 (4,7–5,8)*	4,8 (4,5–5,4)	5,2 (4,9–5,4)*
Инсулин натощак, мкЕд/мл.	2,7–10,4	5,5 (4,1–9,1)	6,9 (5,4–16,7)*	5,1 (3,9–6,7)	9,7 (6,3–16,9)**
Индекс инсулинорезистентности	< 2,7	1,1 (0,6–1,6)	1,8 (1,3–3,8)*	1,1 (0,8–1,3)	2,5 (1,4–3,9) **
ОКЛ, Г/л	4–8	5,5 (5,2–7,2)	6,5 (5,7–8,9)*	5,3 (5,1–5,7)	6,0 (5,3–9,2)*
Срб, мг / л	0–5	1,1 (0,5–1,7)	2,8 (1,7–3,1)*	0,9 (0,3–1,4)	2,4 (1,1–2,9) *
IL-4, пг/мл	0–10	0,7 (0,0–1,3)	0,9 (0,4–1,5)	0,8 (0,7–1,2)	0,4 (0,0–1,2)
IL-6, пг/мл	0–10	0,8 (0,3–1,5)	2,2 (0,9–3,5)**	0,9 (0,2–2,1)	2,1 (1,4–3,2) *
IL-10, пг/мл	0–20	2,7 (0,9–5,2)	1,2 (0,6–2,7) *	4,0 (1,0–5,4)	2,1 (0,9–4,8) *
IL-17, пг/мл	0–20	0 (0–0,1)	0,2 (0,1–2,2) *	0 (0–0,1)	0,3 (0–0,5)*
Inf-γ, пг/мл	0–10	0 (0–0,1)	0 (0–0,2)	0 (0–0,1)	0 (0–0,1)

Примечание. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$, по сравнению с контрольной группой (женщины и мужчины с нормальным ИМТ).

казателей ($p < 0,05$) у волонтеров с ИМТ > 27 относительно группы сравнения (табл. 1).

Также происходило статистически значимое ($p < 0,05$) снижение таких показателей, как ЛПВП и IL-10 (табл. 1).

При анализе частоты встречаемости IgG-опосредованной пищевой гиперчувствительности в группах сравнения ведущее положение заняли пищевые антигены и продукты, содержащие белки коровьего молока – 38 % и 7 % соответственно, антигены продуктов семейства бобовых – 37 % и 16 % соответственно (рис. 1, 2).

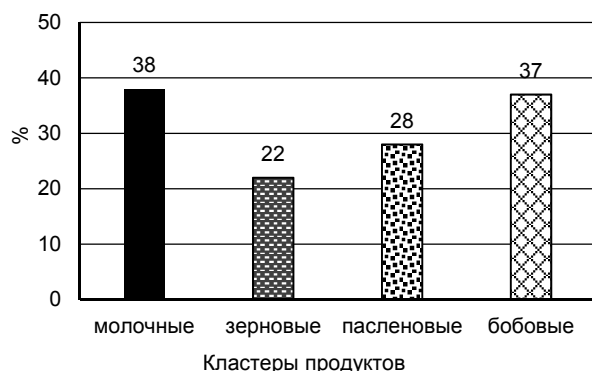


Рис. 1. Частота встречаемости кластеров пищевой гиперчувствительности выделенных групп продуктов в исследуемой группе

Fig. 1. Frequency of specific hypersensitivity to different groups of food antigens in volunteers with increased body mass index

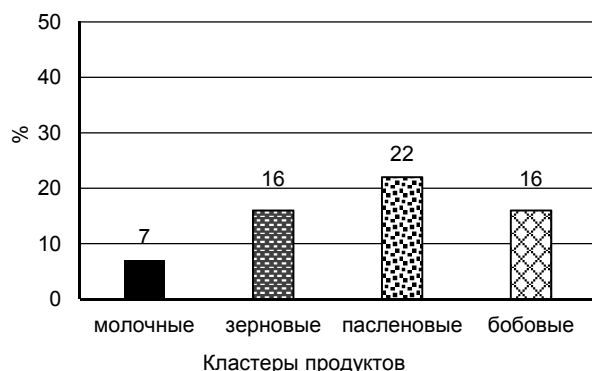


Рис. 2. Частота встречаемости кластеров пищевой гиперчувствительности выделенных групп продуктов в контрольной группе

Fig. 2. Frequency of specific hypersensitivity to different groups of food antigens in volunteers with normal body mass index

Установлена корреляция между гиперчувствительностью к казеину и повышением концентраций IL-6 ($R_s = 0,30$; $p < 0,05$), IL-17 ($R_s = 0,32$; $p < 0,05$), а также пищевой гиперчувствительностью (Тип III) к казеину и развитием атерогенных изменений ($OR = 2,7$ (1,2; 6,3)). Также наблюдалась связь между развитием инсулинорезистентности и повышением IL-6 в сыворотки крови.

ОБСУЖДЕНИЕ

Приведённые данные показывают вклад пищевых антигенов в развитие ожирения и метаболических нарушений. Наиболее часто встречалась IgG-опосредованная гиперчувствительность у людей с повышенным ИМТ, по сравнению с группой сравнения к пАГ молочной группы (казеин, молоко коровье, творог, сыр твёрдый) и бобовым (соя, фасоль, горох), что подтверждается данными литера-

туры о роли казеина и сои в развитии ожирения [12, 13]. Статистически значимое повышение показателей липидного профиля, глюкозы, С-реактивного белка, общего количества лейкоцитов, IL-6, IL-17, а также корреляций между индексом инсулинорезистентности, индексом атерогенности и IL-6 свидетельствуют о наличии системных метаболических нарушений, связанных с показателями воспаления. Не стоит забывать, что IL-6 также несёт ответственность за липидные нарушения: такое предположение основано на данных о повышенных концентрациях в крови IL-6 и маркеров острофазного ответа, включая С-реактивный белок с параллельным повышением концентрации в плазме холестерина ЛПНП и ТГ, что подтверждают наши данные. Тем самым полученные нами данные показывают связь между выраженностью основных клинико-лабораторных проявлений метаболического синдрома и уровнем маркеров системного воспаления.

Наличие статистически значимой связи между IL-6, IL-17 и IgG-опосредованной гиперчувствительностью к казеину, а также гиперчувствительности к казеину и развитием атерогенных изменений говорит о непосредственной связи между пищевой гиперчувствительностью, цитокинами воспаления и развитием атерогенных изменений. На наш взгляд, казеин, являясь сложным белком, наиболее тяжело расщепляется в желудке вследствие снижения кислотности и атрофических изменений слизистой желудка, происходящих с возрастом [12]. В связи с этим нерасщеплённые фрагменты казеина попадают в кишечник с последующим транскитоном в кровотоке с образованием циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). В последующем ЦИК потенциально запускают воспаление в мелких сосудах по III типу иммунопатологических реакций, привлекая в очаг нейтрофилы, тромбоциты, приводя к образованию кислородных продуктов микробицидной активности, оксида азота и NO-синтазы, запуская процессы атерогенеза [14].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Можно предположить, что рост ожирения и связанных с ожирением метаболических расстройств происходит из-за быстрой смены современного антигенного разнообразия пищевой среды и современной культуры питания пищей, богатой такими белками, как казеин, соя, глютен. В связи с этим ПАГ служат триггерами в развитии иммунологических реакций, связанных с процессами пищеварения и, как следствие, метаболических расстройств. Важное значение имеет выявленная связь пищевой гиперчувствительности и ключевыми цитокинами воспаления – IL-6 и IL-17. Установленное повышение показателя IL-6 связано с развитием инсулинорезистентности, поддержкой синтеза иммуноглобулинов В-лимфоцитами, а IL-17 может являться одним из маркеров пищевой гиперчувствительности, активируя также участие нейтрофилов как основных систем элиминации иммунных комплексов.

Результаты проведённых исследований позволяют признать роль пищевой гиперчувствительности в инициации воспаления и метаболических нарушений, а также оценить особенности иммунного реагирования на ПАГ для обоснования персонализированных принципов иммунодиетологии.

Исследование на данном этапе продолжается.

Конфликт интересов

Автор данной статьи сообщает об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Burks AW, Laubach S, Jones SM. Oral tolerance, food allergy, and immunotherapy: Implications for future treatment. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 121(6): 1344-1350. doi: 10.1016/j.jaci.2008.02.037
2. Guo H, Jiang T, Wang J, Chang Y, Guo H, Zhang W. The value of eliminating foods according to food-specific immunoglobulin g antibodies in irritable bowel syndrome with diarrhea. *J Int Med Res.* 2012; 40(1): 204-210. doi: 10.1177/147323001204000121
3. Ussar S, Griffin NW, Bezy O, Fujisaka S, Vienberg S, Softic S, et al. Interactions between gut microbiota, host genetics and diet modulate the predisposition to obesity and metabolic syndrome. *Cell Metabolism.* 2015; 22(3): 516-530. doi: 10.1016/j.cmet.2015.07.007
4. Киселева Е.П. Акцептивный иммунитет – основа симбиотических взаимоотношений. *Инфекция и иммунитет.* 2015; 5(2): 113-130. doi: 10.15789/2220-7619-2015-2-113-130
5. Розенштейн М.Ю., Розенштейн А.З., Кондаков С.Э., Черевко Н.А. Современные лабораторные методы диагностики пищевой непереносимости. *Бюллетень сибирской медицины.* 2016; 15(1): 69-78. doi: 10.20538/1682-0363-2016-1-69-78
6. Лохов П.Г., Лисица А.В., Арчаков А.И. Метаболомный анализ крови: назначение, реализация, интерпретация данных. *Биомедицинская химия.* 2017; 63(3): 232-240. doi: 10.18097/PBMC20176303232
7. Шварц В.Я. Синдром хронического воспаления в жировой ткани. *Патологическая физиология и экспериментальная медицина.* 2014; 58(1): 85-90.
8. Фатхуллина А.Р., Пешкова Ю.О., Кольцова Е.К. Роль цитокинов в развитии атеросклероза (обзор). *Биохимия.* 2016; 81(11): 1614-1627.
9. Насонов Е.Л., Денисов Л.Н., Станислав М.Л. Интерлейкин 17 – новая мишень для антицитокиновой терапии иммуновоспалительных ревматических заболеваний. *Научно-практическая ревматология.* 2013; 51(5): 545-552. doi: 10.14412/1995-4484-2013-1547
10. Розенштейн М.Ю., Розенштейн А.З., Кондаков С.Э., Черевко Н.А. Методологический подход к созданию персонализированной элиминационной диеты при пищевой непереносимости, обусловленной иммунопатологическими реакциями III типа. *Бюллетень сибирской медицины.* 2015; 14(4): 60-67. doi: 10.20538/1682-0363-2015-4-60-67
11. Барановский А.Ю., Ворохобина Н.В. (ред.) *Ожирение (клинические очерки).* СПб.: Диалект; 2007.
12. Insulin: An undeserved bad reputation, Part 3. URL: <https://weightology.net/insulin-an-undeserved-bad-reputation-part-3-mooooo>.
13. Truswell AS. The A2 milk case: a critical review. URL: <http://www.nature.com/ejcn/journal/v59/n5/full/1602104a.html>.
14. Снегова В.А., Пигаревский П.В. Роль лимфоцитов при атерогенезе. *Цитокины и воспаление.* 2018; 17(1-4): 26-30.

REFERENCES

1. Burks AW, Laubach S, Jones SM. Oral tolerance, food allergy, and immunotherapy: Implications for future treatment. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 121(6): 1344-1350. doi: 10.1016/j.jaci.2008.02.037
2. Guo H, Jiang T, Wang J, Chang Y, Guo H, Zhang W. The value of eliminating foods according to food-specific immunoglobulin g antibodies in irritable bowel syndrome with diarrhea. *J Int Med Res.* 2012; 40(1): 204-210. doi: 10.1177/147323001204000121
3. Ussar S, Griffin NW, Bezy O, Fujisaka S, Vienberg S, Softic S, et al. Interactions between gut microbiota, host genetics and diet modulate the predisposition to obesity and metabolic syndrome. *Cell Metabolism.* 2015; 22(3): 516-530. doi: 10.1016/j.cmet.2015.07.007
4. Kiseleva EP. Acceptive immunity – a basis for symbiotic relationships. *Infektsiya i immunitet.* 2015; 5(2): 113-130. doi: 10.15789/2220-7619-2015-2-113-130 (In Russ.)
5. Rosensteyn MYr, Rosensteyn AZ, Kondakov SE, Cherevko NA. Modern methods of food intolerance testing. *Byulleten' sibirskoy meditsiny.* 2016; 15(1): 69-78. doi: 10.20538/1682-0363-2016-1-69-78. (In Russ.)
6. Lkhov PG, Lisitsa AV, Archakov AI. Metabolomic blood test: purpose, implementation, interpretation of data. *Biomeditsinskaya khimiya.* 2017; 63(3): 232-240. doi: 10.18097/PBMC20176303232. (In Russ.)
7. Schwartz VYa. The syndrome of chronic inflammation of adipose tissue. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya meditsina.* 2014; 58(1): 85-90. (In Russ.)
8. Fatkhullina AR, Peshkova YuO, Koltsova EK. The role of cytokines in the development of atherosclerosis (review). *Biokhimiya.* 2016; 81(11): 1614-1627. (In Russ.)
9. Nasonov EL, Denisov LN, Stanislav ML. Interleukin-17 is a new target for anti-cytokine therapy of immune inflammatory rheumatic diseases. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya.* 2013; 51(5): 545-552. doi: 10.14412/1995-4484-2013-1547. (In Russ.)
10. Rosensteyn MYu, Rosensteyn AZ, Kondakov SE, Cherevko NA. New methodological approach to the creation of a personalized elimination diet in food intolerance caused by type III immunopathological reactions. *Byulleten' sibirskoy meditsiny.* 2015; 14(4): 60-67. doi: 10.20538/1682-0363-2015-4-60-67. (In Russ.)
11. Baranovsky AY, Vorokhobina NV. (ed.) *Obesity (clinical essays).* Saint-Petersburg: Dialect; 2007. (In Russ.)
12. Insulin: An undeserved bad reputation, Part 3. URL: <https://weightology.net/insulin-an-undeserved-bad-reputation-part-3-mooooo>.
13. Truswell AS. The A2 milk case: a critical review. URL: <http://www.nature.com/ejcn/journal/v59/n5/full/1602104a.html>.
14. Snegova VA, Pigarevsky PV. The role of lymphocytes in atherogenesis. *Tsitokiny i vospalenie.* 2018; 17(1-4): 26-30. (In Russ.)

Информация об авторе

Новиков Павел Сергеевич – аспирант кафедры патофизиологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (634055, г. Томск, ул. Московский тракт, 2; e-mail: Pavel.N1234@yandex.ru)

Information about the author

Pavel S. Novikov – Postgraduate at the Department of Pathophysiology, Siberian State Medical University (634055, Tomsk, ul. Moskovskiy trakt, 2; e-mail: Pavel.N1234@yandex.ru)

Статья получена: 24.10.2018. Статья принята: 24.04.2019. Статья опубликована: 26.06.2019.
Received: 24.10.2018. Accepted: 24.04.2019. Published: 26.06.2019.

ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ INTERNAL DISEASES

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.3.3

Индекс массы тела и показатели липидного обмена при стеатозе печени алкогольного и неалкогольного генеза у жителей сельской местности: сходство и различия

Михайлова Н.В.¹, Петрунько И.Л.²

¹ ОГБУЗ «Усольская городская больница» (665459, г. Усолье-Сибирское, ул. Куйбышева, 4, Россия); ² Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Петрунько Ирина Леонидовна, e-mail: petrunkoirina@mail.ru

Резюме

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) и алкогольная болезнь печени (АБП) являются серьёзными проблемами здоровья во всём мире. Особенности течения стеатоза печени (СП) вследствие НАЖБП и АБП в сельской местности, в том числе и показатели липидного обмена в зависимости от индекса массы тела (ИМТ), изучены недостаточно.

Цель исследования: изучить у жителей терапевтического участка сельской местности особенности липидного обмена в зависимости от ИМТ при СП вследствие НАЖБП и АБП.

Материалы и методы. Обследованы 1152 жителя сельского терапевтического участка. Проведён анализ липидограмм и ИМТ у больных СП при НАЖБП и АБП.

Результаты. Пациентов со СП и сниженным ИМТ на сельском врачебном участке не было. Среди больных СП на фоне НАЖБП лица с ИМТ ≥ 25 (98,2 %) встречаются статистически значимо чаще, чем на фоне АБП (55,1 %) ($p < 0,001$). Больных с нормальным ИМТ было больше при АБП (44,9 %), чем при НАЖБП (1,8 %) ($p < 0,001$). Статистически значимых различий по возрасту у больных СП при НАЖБП в зависимости от ИМТ не было ($p > 0,05$). Больные СП на фоне АБП с повышенным ИМТ были старше, чем те, у кого индекс был нормальным ($p < 0,05$). Различий в липидограммах при СП на фоне НАЖБП и АБП в зависимости от ИМТ не выявлено ($p > 0,05$). При СП на фоне АБП уровень триглицеридов (ТГ) и коэффициент атерогенности были статистически значимо выше ($p < 0,05$ в обоих случаях), чем у больных СП на фоне НАЖБП.

Выводы. Нарушения липидного обмена свойственны больным как с повышенным, так и с нормальным ИМТ. На сельском терапевтическом участке больные СП на фоне АБП имели более выраженные нарушения липидного обмена, чем при НАЖБП, независимо от ИМТ.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, алкогольная болезнь печени, стеатоз печени, индекс массы тела, липидный обмен, сельское население

Для цитирования: Михайлова Н.В., Петрунько И.Л. Индекс массы тела и показатели липидного обмена при стеатозе печени алкогольного и неалкогольного генеза у жителей сельской местности: сходство и различия. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 23-27. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.3

Body Mass Index and Indicators of Lipid Exchange in Liver Steatosis of Alcoholic and Nonalcoholic Genesis in Residents of Rural Area: Similarities and Differences

Mikhaylova N.V.¹, Petrunko I.L.²

¹ Usolye-Sibirskoye City Hospital (ul. Kuibysheva 4, Usolye-Sibirskoye 665459, Russian Federation); ² Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

Corresponding author: Irina L. Petrunko, e-mail: petrunkoirina@mail.ru

Abstract

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and alcoholic liver disease (ALD) are serious health problems. Features of liver steatosis (LS) due to NAFLD and ALD in rural areas, including lipid metabolism indicators, depending on body mass index (BMI), have not been thoroughly studied.

Aim. To study the features of lipid metabolism in residents of rural area in LS due to NAFLD and ALD depending on the BMI.

Materials and Methods: 1152 residents of a rural therapeutic site were surveyed. Lipidograms and BMI were analyzed in patients with LS at NAFLD and ALD.

Results. There were no patients with a reduced BMI in the rural medical site. Persons with BMI ≥ 25 among patients with LS on the background of NAFLD (98.2 %) are significantly more frequent than on the background of ALD (55.1 %)

($p < 0.001$). Among subjects with normal BMI there were more patients with ALD (44.9 %) than with NAFLD (1.8 %) ($p < 0.001$). There were no significant differences in age in patients with in NAFLD depending on BMI ($p > 0.05$). Patients with LS of ALD with an increased BMI were older than those with a normal index ($p < 0.05$). Also, there were no differences in lipidograms with LS on the background of NAFLD and ALD depending on BMI ($p > 0.05$). Triglyceride levels (TG) and atherogenic coefficient (AC) were significantly higher ($p < 0.05$ in both cases) in LS with ALD than in patients with NAFLD.

Findings. Disorders of lipid metabolism were found in patients with LS with both increased BMI and normal. At the rural therapeutic site, patients with LS due to ALD have more pronounced lipid metabolism disorders than those ones with NAFLD, regardless of BMI.

Key words: non-alcoholic fatty liver disease, alcoholic liver disease, liver steatosis, body mass index, lipid metabolism, rural population

For citation: Mikhaylova N.V., Petrunko I.L. Body Mass Index and Indicators of Lipid Exchange in Liver Steatosis of Alcoholic and Nonalcoholic Genesis in Residents of Rural Area: Similarities and Differences. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 23-27. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.3

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) и алкогольная болезнь печени (АБП) являются серьёзными проблемами во всём мире. Эти два заболевания имеют похожие патологические спектры, начиная от простого стеатоза печени (СП) до стеатогепатита, цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы [1]. Примечательно, что как АБП, так и НАЖБП часто сопровождаются внепеченочными осложнениями, включая сердечно-сосудистые заболевания и злокачественные новообразования, которые могут повлиять на выживаемость пациентов [1]. Независимо от этиологии процесса дислипидемия, гиперхолестеринемия и ожирение способствуют повышенному накоплению жировой ткани в печени [1, 2, 3]. АБП и НАЖБП, как правило, связаны с нездоровыми привычками и образом жизни, включая чрезмерное потребление алкоголя или пищи. Эти оба заболевания, вероятно, будут иметь важное значение для здоровья населения в будущем.

Существуют данные [1, 4, 5, 6], показывающие негативное влияние дислипидемии и избыточного веса на прогрессирование стеатоза печени. При анализе показателей липидограмм у больных с ожирением и гипертонической болезнью выявлен статистически значимо более неблагоприятный липидный профиль [7]. Опубликовано исследование, свидетельствующее о «парадоксе ожирения» – лучшей выживаемости больных с ожирением. В то же время не доказано, что индекс массы тела (ИМТ) 25–35 кг/м² без учёта метаболических изменений приводит к увеличению выживаемости [8].

Недостаточно изучены особенности течения СП вследствие НАЖБП и АБП в сельской местности, в том числе и показатели липидного обмена в зависимости от ИМТ при этих заболеваниях.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить у жителей терапевтического участка сельской местности особенности липидного обмена в зависимости от индекса массы тела при стеатозе печени вследствие неалкогольной жировой болезни печени и алкогольной болезни печени.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами был проведён анализ ИМТ, липидограмм у больных НАЖБП и АБП, проживающих на сельском терапевтическом участке. Из 1568 человек, проживающих на нём, 1152 согласились на исследование. Диагностика НАЖБП и АБП проводилась в соответствии с клиническими рекомендациями для терапевтов по клинике, диагностике, лечению этих заболеваний [5, 6, 7]. Всем пациентам

было проведено дополнительное обследование – сбор субъективных данных, в том числе подробный алкогольный анамнез (под злоупотреблением алкоголя понимали употребление более 20 мл этанола для женщин и более 40 мл для мужчин в сутки и/или более 140 мл для женщин и 210 мл для мужчин в неделю (в прошлом и/или настоящем)).

Проводились общий осмотр, антропометрия (рост, вес, вычисление ИМТ), общий анализ крови, биохимическое исследование крови: сахар, общий холестерин (ОХ), липопротеиды высокой плотности (ЛПВП), липопротеиды низкой плотности (ЛПНП), триглицериды (ТГ), гаммаглутамилтрансфераза, щелочная фосфатаза, альбумин, протромбин, фибриноген, аланинаминотрансфераза (АсАТ), аспартатаминотрансфераза (АлАТ), АЛТ/АСТ, международное нормализованное отношение, билирубин [7]. Принято считать, что вероятность неалкогольного стеатогепатита (НАСГ) выше, если активность сывороточных трансаминаз превышает верхнюю границу нормальных значений более чем в 2 раза [6]. Исследовались маркёры вирусных гепатитов В и С. Пациенты с вирусной этиологией жирового поражения печени в данной статье не рассматриваются.

Наличие признаков СП по данным ультразвукового исследования (УЗИ) при неизменённых лабораторных тестах является достаточным критерием для постановки этого диагноза [5]. Учитывались основные ультразвуковые признаки СП:

- дистальное затухание эхосигнала;
- диффузная гиперэхогенность печени («яркая белая печень»);
- увеличение эхогенности печени по сравнению с почками;
- нечёткость и обеднение сосудистого рисунка.

Для верификации цирроза печени кроме УЗИ проводили фиброгастродуоденоскопию, эластографию печени.

Статистическая обработка проводилась с использованием следующих критериев: t-критерий Стьюдента, U-критерий Манна – Уитни, χ^2 ; различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$ (95%-й уровень значимости).

На публикацию статьи получено разрешение Комитета по этике научных исследований Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования (Протокол заседания № 3 от 28 марта 2019 г.).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Из согласившихся на исследование 1152 жителей сельского врачебного участка НАЖБП была выявлена

у 247 (21,4 %), АБП – у 276 (24,0 %) ($p > 0,05$). В данной статье приводится анализ показателей липидограмм и ИМТ у пациентов со стеатозом печени (СП) на фоне НАЖБП и АБП. Больных СП вследствие НАЖБП было 224 человека. Среди них достоверно ($p < 0,001$) преобладали лица с ИМТ ≥ 25 – 220 человек (98,2 %), средний возраст – $59,8 \pm 11,1$ года. Пациентов с нормальным ИМТ (18,50–24,99) было 4 (1,8 %), их средний возраст ($54,0 \pm 12,5$ года) не отличался от имевших повышенный ИМТ ($p > 0,05$). Достоверных различий в показателях липидограмм в зависимости от ИМТ выявлено не было ($p > 0,05$ во всех случаях) (табл. 1). Пациентов со сниженным ИМТ не было.

Далее нами были проанализированы показатели липидограмм и ИМТ при СП на фоне АБП (167 человек). Пациентов с пониженным ИМТ среди них также не было. Больных с ИМТ ≥ 25 было 92 (55,1 %), средний возраст – $54,8 \pm 10,2$ года. Лиц с нормальным ИМТ было меньше – 75 (44,9 %), но разница не достоверна ($p > 0,05$). Больные СП на фоне АБП с повышенным ИМТ были старше, чем те, у кого индекс был нормальным ($44,9 \pm 9,9$ года) ($p < 0,05$). Достоверных различий в липидограммах при АБП в зависимости от ИМТ не выявлено ($p > 0,05$ во всех случаях) (табл. 2).

Мы решили сравнить полученные данные ИМТ, липидного профиля между больными СП при АБП и НАЖБП.

Таблица 1
Показатели липидограммы у населения сельского терапевтического участка в зависимости от ИМТ при стеатозе печени на фоне НАЖБП

Table 1
Indicators of lipid profile in the population of the rural area depending on the body mass index in case of hepatic steatosis on the background of non-alcoholic fatty liver disease

Индекс массы тела абс. (%) $n = 224$	Общий холестерин, ммоль/л	Триглицериды, ммоль/л	Липопротеиды высокой плотности, ммоль/л	Липопротеиды низкой плотности, ммоль/л	Коэффициент атерогенности
≥ 25 220 (98,2 %)	$5,7 \pm 0,7$	$1,6 \pm 0,4$	$1,2 \pm 0,2$	$3,5 \pm 0,5$	$4,0 \pm 0,7$
< 25 4 (1,8 %)	$4,7 \pm 0,7$	$1,5 \pm 0,4$	$1,0 \pm 0,2$	$2,7 \pm 0,9$	$3,6 \pm 0,8$
p	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$

Таблица 2
Показатели липидограммы у населения сельского терапевтического участка в зависимости от ИМТ при СП на фоне АБП

Table 2
Indicators of lipid profile in the population of the rural area depending on the body mass index in case of hepatic steatosis on the background of alcoholic liver disease

Индекс массы тела, абс. (%) $n = 167$	Общий холестерин, ммоль/л	Триглицериды, ммоль/л	Липопротеиды высокой плотности, ммоль/л	Липопротеиды низкой плотности, ммоль/л	Коэффициент атерогенности
≥ 25 92 (55,1 %)	$5,7 \pm 0,8$	$1,8 \pm 0,4$	$1,1 \pm 0,2$	$3,5 \pm 0,5$	$4,6 \pm 0,9$
< 25 75 (44,9 %)	$5,2 \pm 0,7$	$1,7 \pm 0,3$	$1,0 \pm 0,2$	$3,3 \pm 0,5$	$4,6 \pm 0,7$
p	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$

Таблица 3
Показатели липидограммы у больных СП на фоне АБП и НАЖБП с ИМТ ≥ 25 , проживающих на сельском терапевтическом участке

Table 3
Indicators of lipid profile in patients with liver steatosis on the background of ALD and NAFLD with BMI ≥ 25 , living in a rural area

Нозологическая форма	Общий холестерин, ммоль/л	Триглицериды, ммоль/л	Липопротеиды высокой плотности, ммоль/л	Липопротеиды низкой плотности, ммоль/л	Коэффициент атерогенности
Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП)	$5,7 \pm 0,7$	$1,6 \pm 0,4$	$1,2 \pm 0,2$	$3,5 \pm 0,5$	$4,0 \pm 0,7$
Алкогольная болезнь печени (АБП)	$5,7 \pm 0,8$	$1,8 \pm 0,4$	$1,1 \pm 0,2$	$3,5 \pm 0,5$	$4,6 \pm 0,9$
p	$> 0,05$	$> 0,05$	$< 0,05$	$> 0,05$	$< 0,05$

Таблица 4
Показатели липидограммы у больных СП на фоне АБП и НАЖБП с нормальным ИМТ, проживающих на сельском терапевтическом участке

Table 4
Indicators of lipid profile in patients with liver steatosis on the background of ALD and NAFLD with a normal BMI level and living in a rural area

Нозологическая форма	Общий холестерин, ммоль/л	Триглицериды, ммоль/л	Липопротеиды высокой плотности, ммоль/л	Липопротеиды низкой плотности, ммоль/л	Коэффициент атерогенности
Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП)	$4,7 \pm 0,7$	$1,5 \pm 0,4$	$1,0 \pm 0,2$	$2,7 \pm 0,9$	$3,6 \pm 0,8$
Алкогольная болезнь печени (АБП)	$5,2 \pm 0,7$	$1,7 \pm 0,3$	$1,0 \pm 0,2$	$3,3 \pm 0,5$	$4,6 \pm 0,7$
p	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$

Среди больных СП на фоне НАЖБП лица с ИМТ ≥ 25 преобладали (98,2 %), тогда как при СП на фоне АБП их доля была меньше (55,1 %) ($p < 0,001$). Больные с нормальным ИМТ чаще ($p < 0,001$) встречались при АБП (44,9 %), чем при НАЖБП (1,8 %). Достоверных различий по возрасту у больных СП при АБП и НАЖБП с ИМТ ≥ 25 и с нормальным индексом не было ($p > 0,05$ в обоих случаях). У больных СП на фоне АБП уровни ТГ и КА были достоверно выше ($p < 0,05$ в обоих случаях), чем на фоне НАЖБП. По остальным показателям липидограммы достоверных различий не было ($p > 0,05$) (табл. 3). При сравнении липидограмм у больных СП с нормальным ИМТ на фоне АБП и НАЖБП достоверных различий не выявлено (табл. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

По данным различных исследований, лиц, страдающих ожирением, распространённость НЖБП значительно выше, чем в общей популяции и достигает 62–93 %, ожирение выявляют у 30–100 % больных НАЖБП [5, 9]. В нашем исследовании получены аналогичные результаты: при НАЖБП преобладали больные с ИМТ ≥ 25 ($p < 0,001$), а при АБП разница в ИМТ была недостоверна ($p > 0,05$). Литературных данных о преобладании больных с нормальным ИМТ при СП вследствие АБП нами не найдено. Было установлено, что только у трети больных АБП имеется повышенный ИМТ [10]. Известно, что при злоупотреблении алкоголем наблюдаются трофологические нарушения, связанные с хроническим недоеданием и нарушением кишечной абсорбции питательных веществ [11, 12]. При таких нарушениях ИМТ снижается.

По литературным данным, прогрессированию как НАЖБП, так и АБП, способствует возникновение нарушений в липидном обмене [11, 12, 13]. На сельском терапевтическом участке у больных СП на фоне НАЖБП и АБП достоверных различий в липидограмме в зависимости от ИМТ не выявлено ($p > 0,05$ по всем показателям липидограммы).

При сравнении пациентов с СП при НАЖБП и АБП было установлено, что при НАЖБП больные с ИМТ ≥ 25 преобладают (98,2 %) ($p < 0,001$), что соотносится с литературными данными – при НАЖБП повышенный ИМТ имеют до 100 % больных, а при АБП – третья часть [5, 9, 10]. У больных СП на фоне АБП уровни ТГ и КА были выше, чем на фоне НАЖБП ($p < 0,05$ в обоих случаях). В литературе имеются данные о повышении в крови содержания триглицеридов и общего холестерина при хронической алкогольной интоксикации [10]. По остальным показателям липидограммы достоверных различий между пациентами с НЖБП и АБП не было ($p > 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Среди больных СП на фоне НАЖБП лиц с ИМТ ≥ 25 достоверно больше (98,2 %), чем на фоне АБП (55,1 %) ($p < 0,001$). Доля пациентов со СП и с нормальным ИМТ на фоне НАЖБП (1,8 %) была много меньше, чем на фоне АБП (44,9 %) ($p < 0,001$). Возрастных различий при СП на фоне НЖБП в зависимости от ИМТ не выявлено ($p > 0,05$). Больные СП на фоне АБП с повышенным ИМТ были старше, чем те, у кого индекс был нормальным ($p < 0,05$).

На сельском терапевтическом участке у больных СП на фоне НАЖБП и АБП достоверных различий в липидограмме в зависимости от ИМТ не установлено ($p > 0,05$).

У больных СП на фоне АБП уровни ТГ и КА были достоверно выше ($p < 0,05$ в обоих случаях), чем на фоне НАЖБП.

ВЫВОДЫ

На сельском терапевтическом участке нарушения липидного обмена выявлены у пациентов как с повышенным ИМТ, так и с нормальным. Больные СП на фоне АБП имели более выраженные нарушения липидного обмена, чем при НАЖБП, независимо от ИМТ.

Источники финансирования

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Toshikuni N, Tsutsumi M., Arisawa T. Clinical differences between alcoholic liver disease and nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014; 20(26): 8393-8406. doi: 10.3748/wjg.v20.i26.8393
2. Byrne CD, Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol*. 2015; 62 (1 Suppl): S47-S64. doi: 10.1016/j.jhep.2014.12.012
3. Polyzos SA, Kountouras J, Zavos C. Nonalcoholic fatty liver disease: the pathogenetic roles of insulin resistance and adipocytokines. *Curr Mol Med*. 2009; 9(3): 299-314. doi: 10.2174/156652409787847191
4. Лазебник Л.Б., Радченко В.Г., Голованова Е.В., Звенигородская Л.А., Конев Ю.В., Селиверстов П.В., и др. Неалкогольная жировая болезнь печени: клиника, диагностика, лечение (рекомендации для терапевтов, 2-я версия). *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2017; 138(2): 22-37.
5. Ивашкин В.Т., Маевская М.В., Павлов Ч.С., Тихонов И.Н., Широкова Е.Н., Буевых А.О., и др. Клинические рекомендации по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2016; 26(2): 24-42. doi: 10.22416/1382-4376-2016-26-2-24-42
6. Ивашкин В.Т., Маевская М.В., Павлов Ч.С., Сиволап Ю.П., Луньков В.Д., Жаркова М.С., и др. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени по ведению взрослых пациентов с алкогольной болезнью печени. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2017; 27(6): 20-40. doi: 10.22416/1382-4376-2017-27-6-20-40
7. Ковалёва О.Н., Ащеулова Т.В., Иванченко С.В., Гончарь А.В. Несфатин-1 и особенности липидного профиля у больных гипертонической болезнью, ассоциированной с ожирением и избыточной массой тела. *Научные ведомости Белгородского Государственного университета. Серия: Медицина. Фармация*. 2016; (26): 44-49.
8. Самородская И.В. Индекс массы тела и парадокс ожирения. *Русский медицинский журнал*. 2014; 22(2): 170-175.
9. Ивашкин В.Т., Драпкина О.М., Маев И.В., Трухманов А.С., Блинов Д.В., Пальгова Л.К., и др. Распространенность неалкогольной жировой болезни печени у пациентов амбулаторно-поликлинической практики в Российской Федерации: результаты исследования DIREG 2. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2015; 25(6): 31-41.

10. Махов В.М. Алкогольная болезнь печени и не-алкогольная жировая болезнь печени – общность и различия. *Лечащий врач*. 2012; (7): 22.

11. Буеверов А.О., Маевская М.В., Ивашкин В.Т. Алкогольная болезнь печени. *Русский медицинский журнал. Приложение «Болезни органов пищеварения»*. 2001; 3(2): 61.

12. Маев И.В., Андреев Д.Н., Дичева Д.Т., Абдурахманов Д.Т. Алкогольная болезнь печени: современное состояние проблемы. *Терапевтический архив*. 2014; 86(4): 108-116.

13. Куимов А.Д., Кривошеев А.Б., Попов К.В., Ложкина Н.Г., Богорянова П.А., Кондратова М.А., и др. Возрастные и гендерные особенности неалкогольной жировой болезни печени. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2017; 37(1): 48-54.

REFERENCES

1. Toshikuni N, Tsutsumi M., Arisawa T. Clinical differences between alcoholic liver disease and nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2014; 20(26): 8393-8406. doi: 10.3748/wjg.v20.i26.8393

2. Byrne CD, Targher G. NAFLD: a multisystem disease. *J Hepatol*. 2015; 62 (1 Suppl): S47-S64. doi: 10.1016/j.jhep.2014.12.012

3. Polyzos SA, Kountouras J, Zavos C. Nonalcoholic fatty liver disease: the pathogenetic roles of insulin resistance and adipocytokines. *Curr Mol Med*. 2009; 9(3): 299-314. doi: 10.2174/156652409787847191

4. Lazebnik LB, Radchenko VG, Golovanova EV, Zvenigorodskaya LA, Konev YuV, Seliverstov PV, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: clinic, diagnostics, treatment (guidelines for the specialists on internal medicine). *Экспериментальная и Клиническая Gastroenterология*. 2017; 138(2): 22-37. (In Russ.)

5. Ivashkin VT, Mayevskaya MV, Pavlov ChS, Tikhonov IN, Shirokova EN, Buyeverov AO, et al. Diagnostics and treatment of non-alcoholic fatty liver disease: clinical guidelines of the Russian Scientific Liver Society and the

Russian gastroenterological association. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2016; 26(2): 24-42. doi: 10.22416/1382-4376-2016-26-2-24-42 (In Russ.)

6. Ivashkin VT, Mayevskaya MV, Pavlov CS, Sivolap YP, Lunkov VD, Zharkova MS, et al. Management of adult patients with alcoholic liver disease: clinical guidelines of the Russian Scientific Liver Society. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2017; 27(6): 20-40. doi: 10.22416/1382-4376-2017-27-6-20-40 (In Russ.)

7. Kovaleva ON, Ashcheulova TV, Ivanchenko SV, Gonchar AV. Nesfatin-1 and features of a lipidic profile at patients with the hypertension associated with obesity and excess body weight. *Nauchnye vedomosti Belgorodskogo Gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Meditsina. Farmatsiya*. 2016; (26): 44-49. (In Russ.)

8. Samorodskaya IV. Body mass index and paradox of obesity. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*. 2014; 22 (2): 170-175. (In Russ.)

9. Ivashkin VT, Drapkina OM, Maev IV, Truhmanov AS, Blinov DV, Palgova LK, et al. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in patients of outpatient practice in the Russian Federation: results Research DIREG 2. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2015; 25(6): 31-41. (In Russ.)

10. Makhov VM. Alcoholic liver disease and non-alcoholic fat liver disease – generality and differences. *Lechashchiy vrach*. 2012; (7): 22. (In Russ.)

11. Buyeverov AO, Mayevskaya MV, Ivashkin VT. Alcoholic liver disease. *Russkiy meditsinskiy zhurnal. Prilozhenie «Bolezni organov pishchevareniya»*. 2001; 3(2): 61. (In Russ.)

12. Maev IV, Andreev DN, Dicheva DT, Abdurakhmanov DT. Alcoholic liver disease: State-of-the-art. *Terapevticheskiy arkhiv*. 2014; 86(4): 108-116. (In Russ.)

13. Kuimov AD, Krivosheev AB, Popov KV, Lozhkina NG, Bogorjanova PA, Kondratova MA, et al. Age and gender features of non-alcoholic fatty liver disease. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal*. 2017; 37(1): 48-54. (In Russ.)

Сведения об авторах

Михайлова Наталья Владимировна – участковый врач-терапевт ОГБУЗ «Усольская городская больница», e-mail: vra-ahh2012@ya.ru

Петрунько Ирина Леонидовна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой медицинской экспертизы Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования – филиала ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава Российской Федерации, e-mail: petrunkoirina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6239-4859>

Information about the authors

Natalya V. Mikhailova – Physician, Usolskaja City Hospital, e-mail: vra-ahh2012@ya.ru

Irina L. Petrunko – Dr. Sc. (Med.), Associate Professor, Head of Department of Medical Examination, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; e-mail: petrunkoirina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6239-4859>

Статья получена: 24.10.2018. Статья принята: 22.04.2019. Статья опубликована: 26.06.2019.
Received: 24.10.2018. Accepted 22.04.2019. Published: 26.06.2019.

ГЕНЕТИКА, ПРОТЕОМИКА И МЕТАБОЛОМИКА GENETICS, PROTEOMICS AND METABOLOMICS

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.3.4

Врождённый спастический церебральный паралич: генетические аспекты патогенеза

Притыко А.Г.¹, Чебаненко Н.В.¹, Соколов П.Л.¹, Зыков В.П.², Климчук О.В.¹, Канивец И.В.³

¹ ГБУЗ «Научно-практический центр специализированной помощи детям имени Н.В. Войно-Ясенецкого Департамента здравоохранения г. Москвы» (119619, г. Москва, ул. Авиаторов, 38, Россия); ² Кафедра неврологии детского возраста ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (125373, г. Москва, ул. Героев Панфиловцев, 28, Россия); ³ ООО «Геномед» (115093, г. Москва, Подольское шоссе, д. 8, корп. 5, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Соколов Павел Леонидович, e-mail psok.sci@gmail.com

Резюме

Врождённый спастический церебральный паралич представляет собой большую группу непрогрессирующих расстройств нервной системы, в основе которой лежат воздействия многих факторов. Многообразие клинической картины заболевания и синдромальный принцип классифицирования определяют массу неясностей и неопределённостей в диагностике состояний данной группы. Мультифакториальность лежащих в основе поражений головного мозга очевидна и не вызывает сомнений. Накопленный к настоящему времени объём информации не позволяет исключить роль и значимость непосредственного воздействия острой асфиксии в родах на нормально сформированный в процессе беременности плод, роли инфекционных поражений головного мозга, нарушений нейрональной миграции. Столь же затруднительно проигнорировать зависимость клинической картины заболевания от того, на каком этапе онтогенеза происходит воздействие повреждающего агента. Как один из патогенетических факторов справедливо рассматривается генетическая детерминированность фенотипа клинической картины заболевания. Настоящий обзор посвящён генетическим аспектам патогенеза этой патологии. Подробно проанализирована информация по моногенным механизмам наследования. Отдельно рассмотрены данные близнецовых исследований. В рамках проводимого изучения полиморфизмов прослежено их влияние на гомеостаз, иммунореактивность и формирование воспалительных реакций. Проанализированы данные о влиянии полиморфизмов на молекулярные механизмы, лежащие в основе повреждающего воздействия ишемии, как на уровне нейрона, так и на уровне нейрона. Рассмотрено влияние на формирование фенотипа детского церебрального паралича полиморфизма генов, регулирующих обмен липопротеинов и транспортных мембранных белков. Отдельно рассматриваются эпигенетические влияния на формирование фенотипа врождённого церебрального паралича, механизмы их реализации и перспективы коррекции генома с помощью молекулярных технологий.

Ключевые слова: врождённый спастический церебральный паралич, гены-кандидаты, секвенирование

Для цитирования: Притыко А.Г., Чебаненко Н.В., Соколов П.Л., Зыков В.П., Климчук О.В., Канивец И.В. Врождённый спастический церебральный паралич: генетические аспекты патогенеза. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 28-39. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.4

Genetic Aspects of Pathogenesis of Congenital Spastic Cerebral Paralysis

Prityko A.G.¹, Chebanenko N.V.¹, Sokolov P.L.¹, Zykov V.P.², Klimchuk O.V.¹, Kanivets I.V.³

¹ Scientific-Practical Center for Specialized Assistance for Children named after N.V. Voino-Yasenetsky of Department of Healthcare of Moscow, (ul. Aviatorov 38, Moscow 119619, Russian Federation); ² Department of Children's Neurology, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (ul. Geroev Panfilovtsev 28, Moscow 125373, Russian Federation); ³ ООО Genomed (Podolskoye shosse build. 8, korp. 5, Moscow 5115093, Russian Federation)

Corresponding author: Pavel L. Sokolov, e-mail psok.sci@gmail.com

Abstract

Congenital spastic cerebral palsy (CP) is a large group of non-progressive disorders of the nervous system. The basis of the pathogenesis of these conditions is considered the impact of many factors. The clinical diversity of the disease and the syndromic principle of classification determine the existing uncertainties in the diagnosis of these diseases. The multifactorial nature of the underlying brain lesions is obvious and beyond doubt. The volume of information accumulated to date does not allow one to exclude the role and significance of the direct effect of acute asphyxiation in childbirth on a fetus normally formed during pregnancy, the role of infectious brain lesions, and disorders of neuronal migration. It is impossible to ignore the dependence of the clinical picture of the disease on what stage of ontogenesis the impact of the damaging agent occurs.

As one of the pathogenetic factors, the genetic determinism of the phenotype of the clinical picture of a disease is fairly considered.

This review focuses on the genetic aspects of the pathogenesis of this pathology. The information on monogenic mechanisms of inheritance is analyzed in detail. Such genetically determined mechanisms of pathogenesis as the inheritance of prerequisites for brain trauma in the perinatal period are considered separately.

The new clinically significant variants of chromosomal mutations found in patients with CP are reviewed in detail, the evidence of the influence of genetic factors on the development of cerebral palsy in the absence of a pronounced monogenic cause of the disease, obtained through twin studies, is reviewed.

Lit search of polymorphisms markers of predisposition to the development of cerebral palsy genes of the folate cycle, genes of glutamate receptors, the gene of apolipoprotein and of the gene for the transcription factor of oligodendrocytes (OLIG2) in Detail the role of epigenetic effects on the activity of genes coding for mitochondrial proteins.

Key words: cerebral palsy, pathogenesis, candidate genes, sequencing

For citation: Prityko A.G., Chebanenko N.V., Sokolov P.L., Zykov V.P., Klimchuk O.V., Kanivets I.V. Genetic aspects of pathogenesis of congenital spastic cerebral paralysis. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 28-39. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.4

АКТУАЛЬНОСТЬ

Детским церебральным параличом именуют большой, весьма многообразный синдромологически, комплекс поражений центральной нервной системы различной природы с ведущими в клинике двигательными расстройствами. «Поломка» онтогенеза в данном случае может происходить и внутриутробно, и интранатально, и в период раннего развития ребёнка.

Известно это заболевание в силу своеобразности и грубости клинических проявлений довольно давно – первое из известных нам его описание сделано английским врачом Литтлом в середине прошлого века [1].

Термин «детский церебральный паралич» (нем. *infantiler zerebrallaehmung*) введён в практику З. Фрейдом в 1893 г. [2] и по сей день широко используется в мировой литературе, поскольку другого, всесторонне характеризующего это патологическое состояние, до настоящего времени не предложено.

Клиническая картина двигательных, психических и речевых расстройств зависит от характера и степени функционального дистресса тех или иных звеньев нейромоторного аппарата [3, 4]. Она настолько разнообразна, что до настоящего времени классифицируются эти нарушения в основном по синдромальному преобладанию. Многочисленность существующих классификаций ДЦП свидетельствует, прежде всего, об отсутствии устоявшихся взглядов на патогенетическую обусловленность тех или иных моторно-дисфункциональных феноменов [5, 6, 7].

В настоящее время общепринятой является точка зрения о полиэтиологичности детского церебрального паралича [8, 9].

Изначально предложенные в виде гипотезы основные моменты патогенеза остаются актуальными и по сей день – это касается повреждающего воздействия на плод различных неблагоприятных факторов во время беременности и натальной (родовой) травмы.

Проблемы этиологии и патогенеза ДЦП рассмотрены и обобщены в многочисленных трудах отечественных и зарубежных исследователей. В настоящее время детский церебральный паралич принято считать следствием неблагоприятного стечения массы обстоятельств, именуемых повреждающими факторами, воздействие которых пришлось на ранние этапы развития плода, натальный и ранний постнатальный периоды [10, 11].

Среди факторов воздействия на плод выделяются прямые (приводящие к собственно натальной травматизации) и действующие опосредованно со стороны матери.

Факторами прямого повреждающего действия считаются механическая травма головки плода в процессе родовой деятельности [12], внутричерепные геморагии [8, 13], а также асфиксия в родах.

Повреждение мозга на ранних этапах онтогенеза и развитие компенсаторных процессов в период роста и формирования ребёнка приводит к своеобразному патологическому развитию ЦНС [8, 14], что является причиной полиморфности клинической картины. Выделяется роль не только самого факта поражения определённых структур, но и влияния на формирование клинической картины нарушения динамики постнатального онтогенеза.

Различные факторы могут проявлять своё повреждающее влияние на основных этапах развития ребёнка, причём пренатальные воздействия отмечаются в 37–60 %, интранатальные – в 27–40 %, постнатальные – в 3,6–25 %.

Более чем у половины доношенных детей с ДЦП выявить этиологический фактор развития заболевания не удаётся [15].

Естественным в таких случаях направлением поиска является изучение возможной генетической детерминированности развития патологии. Бурное развитие методов генетических исследований в последние годы позволило продвинуться в проблематике стойких поражений ЦНС при перинатальной патологии.

Уже сейчас мы можем выделить несколько направлений научного поиска:

1. Поиск особенностей генома, непосредственно детерминирующих развитие клинических проявлений ДЦП.
2. Поиск генетически детерминированных нарушений обмена, опосредованно способствующих повреждению тем или иным патогенетическим фактором головного мозга плода.
3. Поиск генетически детерминированных особенностей обмена, способствующих повышению устойчивости тканей центральной нервной системы плода к повреждающему воздействию.

В настоящем обзоре мы постарались представить современные представления о результатах научных исследований во всех этих направлениях, а также предложить варианты использования научных данных в повседневной клинической практике.

1. МОНОГЕННЫЕ ФАКТОРЫ РАЗВИТИЯ ДЦП

В 2004 г. был идентифицирован первый ген, ответственный за развитие ДЦП. Исследователи сообщили о двух родственных семьях, в которых был обнаружен врождённый спастический ДЦП неизвестной этиологии у 6 человек [16]. Все пациенты характеризовались задерж-

кой общего развития, от умеренной до тяжёлой степени выраженности, той или иной степени недоразвитием речи и спастичностью с оживлёнными рефлексами, преимущественно в нижних конечностях.

Используя для картирования 290 полиморфных ДНК-маркеров, исследователи идентифицировали на 2-й хромосоме область 2q24-q25, содержащую ген *GAD1*, кодирующий экспрессирующуюся в мозге изоформу глутаматдекарбоксилазы. Прямое секвенирование *GAD1* у больных и здоровых членов семей позволило обнаружить гомозиготную миссенс-мутацию, ассоциированную со специфическим фенотипом ДЦП. Глутаматдекарбоксилаза ответственна за образование γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) – важного ингибирующего нейротрансммиттера, а баланс между возбуждающим и ингибирующим нейротрансммиттерами, модулированный частично *GAD1*, как известно, имеет решающее значение для нормального развития мозга [17].

Через год после открытия первого гена, связанного с развитием ДЦП, была описана родословная большой семьи, включавшей 4 поколения, в которой диагноз ДЦП был поставлен у 9 [18]. Все больные дети родились после нормально протекавшей беременности и имели врождённую мышечную гипотонию, которая на первом году жизни трансформировалась в спастическую тетраплегию. Исследования генома выявили делецию 225 кб в 9p24.3, захватывающую ген *KANK1* и не наблюдавшуюся в контрольной группе. Ген *KANK1* экспрессируется в развивающемся мозге, предположительно, участвуя в белок-белковом взаимодействии и в образовании адгезионных комплексов, регулируя полимеризацию актина и миграцию клеток [19].

В 2009 г. появилось сообщение о марокканской семье, в которой пять братьев и сестёр имели диагноз ДЦП [20]. Так же, как и в описанном ранее случае, первым признаком заболевания была инфантильная мышечная гипотония, которая трансформировалась в спастическую тетраплегию с гипертонией и гиперрефлексией, с отсутствием возможности самостоятельной ходьбы. Также наблюдались и речевые нарушения. При нейровизуализации было отмечено диффузное снижение плотности белого вещества, вентрикуломегалия в сочетании с атрофией мозжечка. При аутопсии одного из этих пациентов, умершего в 17 месяцев от аспирационной пневмонии, были выявлены нарушения миелинизации в церебральном белом веществе и признаки аномальной арборизации (ветвления) нейронов мозжечка. Последующее секвенирование гена-кандидата выявило гомозиготную мутацию в гене *AP4M1*, кодирующем μ -субъединицу переходного белкового комплекса-4 (AP-4).

На основании полученных данных было сделано предположение о том, что нарушение любой из четырёх субъединиц AP-4 (*AP4E1*, *AP4M1*, *AP4B1* и *AP4S1*) приводит к дисфункции всего комплекса и аутосомно-рецессивному синдрому церебрального паралича («синдрому дефицита AP-4») [21].

Эта гипотеза была подтверждена недавним исследованием 8 пациентов с ДЦП схожего фенотипа – путём секвенирования были идентифицированы нарушения в генах *AP4E1*, *AP4B1* и *AP4S1*.

Вполне вероятно, что по мере применения современных методик генетического анализа, список моногенных причин ДЦП увеличится, и данные разновидности

церебрального паралича смогут быть выделены из общей массы в виде отдельных синдромов с доказанной генетической детерминированностью.

Кроме того, необходимо отметить, что многообразие вариантов наследования фенотипа детского церебрального паралича не исключает необходимости дифференцирования ДЦП с другими поражениями центральной нервной системы, имеющими сходную клиническую картину.

2. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ДЦП

Современный анализ генома позволяет получить новые данные, указывающие, что крупные хромосомные аномалии могут быть вовлечены в этиологию церебрального паралича.

Недавние исследования по секвенированию экзома 183 пациентов с ДЦП [22] показали значительную генетическую гетерогенность церебрального паралича и позволили определить ранее не описанные мутации некоторых генов (например, *AGAP1*, *L1CAM*, *PAK3*, *TENM1* и *TUBA1A*) с потенциальной функциональной значимостью. Так, было выявлено десять новых мутаций в трёх ранее выявленных генах с известным клиническим значением (*TUBA1A* ($n=2$), *SCN8A* ($n=1$) и *KDM5C* ($n=1$)). Определены потенциально патогенные мутации в шести «генах-кандидатах» (*AGAP1*, *JHDM1D*, *MAST1*, *NAA35*, *RFX2* и *WIP12*). Кроме этого, удалось выделить четыре потенциально патогенных гомизиготных варианта на X-хромосоме в двух известных генах (*L1CAM* и *PAK3*) и два новых гена-кандидата: *CD99L2* и *TENM1*. В общей сложности хромосомные аномалии выявлены в 14 % случаев. Половину из них составили мутации «de novo». К примеру, у женщины со спастической тетраплегией (GMFCS V уровень) выявлена новая гетерозиготная делеция 25,5 Мб в области 4p16.3-4p15.2, захватывающая 134 гена; и 8,1 Мб (*KANK1* и 38 других генов; 9p24.3-9p24.1). У мужчины со спастической тетраплегией (GMFCS IV) выявлена новая делеция 12.1 Мб в области 2p25.3, захватывающая 9 генов.

РЕЗУЛЬТАТЫ БЛИЗНЕЦОВЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

О наличии генетической предрасположенности к заболеванию часто судят по исследованиям, проведённым на близнецах, по которым можно выявить и в достаточной мере оценить количественно степень участия генетических факторов.

Наследственный материал монозиготных близнецов, как правило, идентичен, кроме того, относительно одинаковы и условия внутриутробного развития, и факторы внешней среды, действующие непосредственно после родов, тогда как дизиготные близнецы, имея идентичные условия внутриутробного развития и схожие факторы внешней среды, генетически различны. Таким образом, сравнение частоты развития ДЦП в парах монозиготных и дизиготных близнецов позволяет оценить значение наследственных и средовых факторов в развитии фенотипа человека. К настоящему времени проведено довольно много работ по развитию ДЦП у близнецов, и получены интересные результаты.

Например, в одном из масштабных популяционных когортных исследований, проведённых в Норвегии, определялся семейный риск развития ДЦП у 2 036 741 новорождённого, родившихся с 1967 по 2002 г. [23]. В этой выборке было 3649 детей с ДЦП, то есть 1,8 слу-

чая на 1000 новорождённых. Среди 45 116 близнецов (22 558 пар) было 228 новорождённых с ДЦП (5,1 случая на 1000 новорождённых), при этом в 9 парах близнецов диагноз ДЦП был поставлен обоим детям. Таким образом, беременность двойней – фактор, сам по себе увеличивающий риск развития ДЦП в 2,8 раза.

Относительный риск рождения в группе близнецов обоих детей с ДЦП составил 15,6 (95%-ный доверительный интервал 9,8–24,8). Относительный риск рождения ребёнка с ДЦП в семье, в которой уже есть ребёнок с ДЦП, составил 9,5 (95% ДИ 6,6–13,5) и снижался при уменьшении степени родства с пациентом, имеющим ДЦП: близнец с ДЦП > брат/сестра с ДЦП > родитель/родители с ДЦП > единоутробный(ая)/единокровный(ая) брат/сестра с ДЦП.

При наличии более дальних родственников с ДЦП (тёти, дяди, племянники, племянницы, двоюродные братья/сестры) риск развития ДЦП был отмечен немного более высоким, чем в популяции в целом, но достоверность этих данных оказалась ниже.

К сожалению, в данном исследовании не проводилось сравнения между монозиготными и дизиготными близнецами, однако именно исследования ДЦП у монозиготных близнецов, а также повышенный риск развития ДЦП при кровнородственных браках изначально дали основание говорить о наличии генетических факторов предрасположенности к данному заболеванию.

В одной из публикаций [24] авторы пришли к выводу, согласно которому определённый поначалу круг генетических предикторов развития ДЦП проявил слабую ассоциированность с заболеваемостью, а многочисленные проверки привели к ещё большему ослаблению их обоснованности, что, однако, не отрицает правильность выбранного направления. Ожидается, что в ближайшем будущем будет произведена оценка существующих генов-кандидатов, а их число существенно возрастет, что позволит нам лучше разобраться в патогенезе ДЦП.

Роль генетических полиморфизмов в формировании фенотипа ДЦП

В настоящее время определены некоторые не-прямые генетические факторы, которые могут играть важную роль в предрасположенности к возникновению церебрального паралича в перинатальном и постнатальном периодах.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ ГЕМОСТАЗ

Метилентетрагидрофолатредуктаза, кодируемая геном *MTHFR*, является ферментом фолатного цикла. Снижение её активности, в том числе и генетически детерминированное, приводит к накоплению гомоцистеина, приводящего к нарушениям гемостаза [25]. Есть данные, связывающие полиморфизмы *MTHFR* (в частности, с.66A>G, с.677C>T, с.1298A>C, с.2756A>G) с такими патологическими состояниями, как развитие тромбозов у беременных, невынашивание беременности, дефекты развития плода. Поэтому предположение о том, что носительство минорных аллелей данного гена может повышать риск рождения детей с ДЦП, видится вполне обоснованным.

В одном из недавних исследований, выполненных китайскими учёными, был проведён сравнительный анализ встречаемости аллелей по полиморфизмам rs1476413 и

rs9651118 гена *MTHFR*, а также по двум полиморфизмам фактора некроза опухоли альфа (ФНОα) *TNFA* в исследованной группе ($n = 114$) пациентов с ДЦП и в контрольной группе ($n = 114$). В ходе работы была установлена ассоциация полиморфизма rs9651118 и ДЦП. Также наблюдалось значительное увеличение риска возникновения ДЦП при сочетанном действии полиморфизмов в генах rs1799724 *TNFA* и rs9651118 *MTHFR* (OR = 2,75; 95% ДИ 1,23–6,13) [26].

В одном из американских исследований типа «случай – контроль» был проведён анализ более 30 полиморфизмов, вероятно предрасполагающих к формированию фенотипа ДЦП [27]. В исследование было включено 96 детей с диагнозом ДЦП и 119 здоровых. Среди тестируемых полиморфизмов оказались многие известные маркеры, ассоциированные с риском развития ряда патологических состояний, например, хронической болезни лёгких, гипертонии, бронхиальной астмы. В итоге исследователи обнаружили ассоциации той или иной степени между ДЦП и:

- полиморфизмом гена эндотелиальной NO-синтазы 3 – *eNOS3* (с.-922A>G);
- двумя полиморфизмами гена фактора свёртывания крови VII – *F7* (с.-325_-324insCCTATATCCT), а также однонуклеотидной заменой, приводящей к аминокислотной замене p.Arg353Gln;
- двумя полиморфизмами гена ингибитора активатора плазминогена *SERPINE1* – с.-820_-817G(4_5)) и с.11053G>T; 32.

Полиморфизм генов, регулирующих иммунный ответ и воспаление

В 2014 г. в Китае проводилось исследование, объединяющее полиморфизмы гена интерлейкина-6 и их роль в формировании ДЦП [12].

В общей сложности исследовано пять полиморфизмов гена IL-6 (rs1800796, rs2069837, rs2066992, rs2069840 и rs10242595). В исследовании принимало участие 713 пациентов с диагнозом «детский церебральный паралич». Из них отобрано 87 пациентов для анализа сывороточного IL-6. Для контроля отобрано 77 здоровых пациентов. Диагноз выставлялся после клинического обследования. Возраст детей колебался от 5 месяцев до 36 месяцев. Дети с острыми респираторными заболеваниями или какими-либо другими признаками инфекции в течение последних трёх месяцев были исключены из исследования.

Анализ в подгруппах показал, что уровень IL-6 был выше у пациентов со спастическими формами церебрального паралича по сравнению с контрольной группой. Кроме того, уровень IL-6 у больных ДЦП был связан с гестационным возрастом пациентов, и значительное увеличение наблюдалось у доношенных детей, имеющих диагноз детский церебральный паралич.

Анализ гаплотипов для rs1800796, rs2069837 и rs2066992 показал, что гаплотипы "CAT" и "GGG" (rs1800796, rs2069837 и rs2066992) были обнаружены у пациентов мужского пола со спастическими формами детского церебрального паралича (гаплотипы с частотой < 0,03 были исключены из анализа). Обнаружено, что у данных пациентов генотип rs1800796 (C-572G) оказывает влияние на сывороточные уровни IL-6 по сравнению с GG генотипом. Это говорит о том, что G аллель rs1800796 может привести к снижению транскрипционной активности промотора IL-6. Также обнаружено, что уровень IL-6 в плазме у детей с ДЦП, имеющих генотип CC в

rs1800796, rs2069837 AA в и TT в rs2066992 был выше, чем в контрольной группе. Было предположено, что генетическая вариация может усилить или ослабить воспалительную реакцию в мозговой ткани, а также то, что С-аллель rs1800796, аллель из rs2069837 и Т-аллель rs2066992 могут быть факторами риска развития детского церебрального паралича.

В качестве такового рассматривается также полиморфизм гена лимфотоксина-альфа, цитокина относящегося к факторам некроза опухоли (ФНО) – *LTA* p.Thr26Asn; [27].

Полиморфизм генов, регулирующих обмен липо-протеинов

В Норвегии в 2015 г. проводилось обширное исследование генетической детерминированности регулирования продукции гена, кодирующего аполипопротеин Е с развитием фенотипа ДЦП [23].

Была изучена роль гена аполипопротеина Е, который является основным транспортером липидов и холестерина в головном мозге, необходимых для синтеза миелина мембраны и формирования синапса, в возникновении и тяжести ДЦП [28, 29].

Также указывается на существование 14 новых мутаций, имеющих возможное отношение к этиологии ДЦП. Все 14 мутаций обнаружены в генах, имеющих отношение к функционированию головного мозга, некоторые из которых принимают участие в патогенезе неврологических расстройств. К ним относится *ACOX1157* (кодирует первый фермент в процессе пероксисомного бета-окисления длинноцепочечных жирных кислот).

Аутосомно-рецессивные мутации в *ACOX1* вызывают дефицит пероксисом-ацил-СоА-оксидазы (OMIM 264470) в нервной системе. Клинические фенотипы с дефицитом *ACOX1* включают аномалии белого вещества, мышечную гипотонию в раннем возрасте, неонатальные судороги и задержку психомоторного развития.

Ген *COPS3* кодирует включающий в себя восемь субъединиц белковый комплекс КС9, участвующий в различных клеточных обменных процессах и в проведении импульса в центральной нервной системе. Предыдущие исследования показали, что отсутствие какой-либо из его восьми субъединиц может дестабилизировать структуру всего комплекса. Причиной может быть в том числе и делеция экзонов 4–6-го генов *COPS3* [28].

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ ОБМЕН ТРАНСПОРТНЫХ МЕМБРАННЫХ БЕЛКОВ

В работе Moreno-De-Luca A et al. [21] исследован ген *AP4*, кодирующий субъединицу адаптерного белкового комплекса-4 (AP-4), гетеротетрамер которого состоит из четырех субъединиц: *AP4E1*, *AP4B1*, *AP4M1* и *AP4S1*.

На настоящий момент предположение о том, что дефицит *AP4E1* является основным генетическим механизмом, ответственным за формирование клинической картины спастической параплегии, практически не подвергается сомнению [30].

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ РЕАКЦИЮ НА ГИПОКСИЮ-ИШЕМИЮ НА УРОВНЕ ГЛИИ

Морфологической основой развития клинической картины ДЦП являются довольно существенные структурные изменения в головном мозге ребёнка, являющи-

еся следствием катастроф, затрагивающих практически все клеточные элементы в ЦНС, как нейрональные, так и глиальные. Кроме того, не вызывает на настоящий момент сомнения роль микроглии в формировании гипоксически-ишемического поражения головного мозга у новорождённого ребёнка [31].

Нарушение обмена γ-аминомасляной кислоты (ГАМК) участвует в патогенезе большого числа патологических состояний в ЦНС. Мы уже упоминали о гомозиготной миссенс-мутации, ассоциированной со специфическим фенотипом ДЦП [17]. Дальнейшие исследования показали возможность ассоциации фенотипа ДЦП с полиморфизмом гена основного транспортера глутамата *EAAT2* (обеспечивает 90 % транспорта). Всего дифференцировано пять классов основных высокоаффинных транспортеров глутамата *EAAT* (от англ. «excitatory amino acid transporter»): *EAAT1*, *EAAT2*, *EAAT3*, *EAAT4*, *EAAT5*, которые переносят глутамат через клеточную мембрану [32].

Транспортеры *EAAT1* (GLAST) и *EAAT2* во взрослом мозге локализованы преимущественно в глиальных клетках [33].

При проведении генетического анализа 541 случая детей, родившихся на сроке ранее 30 недель [34], ДЦП был диагностирован в 8 % случаев. Анализ двух однонуклеотидных полиморфизмов гена *EAAT2*, rs1835740 (с.-181A>C) и rs116392274 (с.-200C>A), для которых показана вовлеченность в поддержание гомеостаза глутамата, позволил обнаружить ассоциацию данных полиморфизмов с развитием ДЦП у недоношенных детей. Встречаемость замен с.-181A>C и с.-200C>A достаточно высока, частота минорных аллелей составила 0,44 для аллеля -181C и 0,47 для аллеля -200A.

В экспериментах с трансфекцией конструкций на основе вектора pRL-TK в первичную культуру астроцитов с использованием гена люциферазы полипов-альционарий рода *Renilla* в качестве репортерного гена [24] было установлено, что промотор гена *EAAT2* с генотипом -181A + -200C в 4–4,5 раза активнее чем промотор с генотипом -181C + -200A. Однако было показано, что вероятность возникновения ДЦП у недоношенных детей может быть в данном случае связана не столько с гаплотипами, сколько с носительством А-аллелей по обоим полиморфизмам, что может объясняться невозможностью метилирования данных аллелей по цитозину и, соответственно, невозможностью выключения гена *EAAT2*. В работе было продемонстрировано достоверное увеличение риска развития ДЦП при носительстве трёх аллелей «А» из четырёх. Возможно, что эти полиморфизмы могут служить маркерами для оценки риска развития ДЦП, а также других неврологических нарушений [35].

Фактор транскрипции олигодендроцитов (OLIG2) представляет собой белок, который экспрессируется в клетках олигодендроцитов головного мозга и участвует в восстановлении нейрона после поражения. При исследовании гена, регулирующего его экспрессию, у 763 детей с ДЦП и 738 здоровых обнаружена связь SNP rs6517135 с ДЦП ($p = 0,044$) на уровне генотипа. Она была существенно усилена у детей грудного возраста, перенёвших гипоксически-ишемическое поражение ЦНС, с $p = 0,003$ (OR = 0,558) на уровне аллеля и $p = 0,007$ на уровне генотипа, что указывает на связанную с риском роль Т-аллеля SNP rs6517135 в условиях гипоксически-ишемического поражения ЦНС. Гаплотип CTTG для rs6517135-rs1005573-

rs6517137-rs9653711 в *OLIG2* также был достоверно связан с развитием картины ДЦП у детей, перенёвших гипоксически-ишемическое поражение ЦНС ($p = 0,01$, OR = 0,521), на основании чего был сделан вывод о возможности использования данных о полиморфизме *OLIG2* как о факторе риска развития ДЦП при перинатальных гипоксически-ишемических поражениях мозга и индивидуальном планировании лечения и выхаживания детей данной группы. Видится целесообразным послеродовой скрининг детей с перенесёнными гипоксически-ишемическими поражениями ЦНС по данному признаку [36].

Прослеживается параллельная вовлеченность отдельных генов как в формирование инфекционного процесса, так и в реализацию патогенетических схем гипоксически-ишемической природы.

Так, ген *Pam3CSK4* (*P3C*) ответственен за Toll-like receptor 2 (TLR2), играющий ключевую роль в идентификации микоплазм и грамположительных бактерий, а также в инициации воспалительного процесса. Его (гена) системная активация снижает выраженность поражения мозговой ткани и демиелинизации в рамках гипоксически-ишемического поражения центральной нервной системы (данные получены в экспериментах на мышах) [37].

Результаты этого эксперимента не только указывают на плюрипотентность гена, но и являются ярким примером генетической детерминированности не столько собственно ДЦП, сколько предпосылок к его развитию.

В эксперименте на мышах определены три типа реакции глии на повреждение мозговой ткани – репарация мозговой ткани без глияльной реакции, региональный глиоз и реактивный глиоз при глубоком экспериментальном некрозе, причём выраженность этих изменений в различном гестационном возрасте была различной, что указывает на то, что реактивность глии нарастает по завершении процессов нейрональной миграции [38].

Полиморфизм генов, регулирующих реакцию на гипоксию-ишемию на уровне нейрона

Упоминание скорости накопления мутаций в митохондриальной ДНК как показателя, имеющего отношение к нейропротекции, непосредственно подводит нас к цитохимическим и цитогенетическим аспектам формирования повреждения мозговой ткани и их отношения к геному.

Тем самым можно констатировать, что на настоящий момент формируется представление о широком спектре молекулярных взаимодействий, направленность и интенсивность которых определяется не только генетической детерминированностью, но и является ситуационно обусловленной в конкретных патогенных схемах. Но и ситуационно обусловленная реактивность должна иметь свои механизмы реализации и свой материальный субстрат.

На сегодняшний день накоплено довольно много данных о влиянии степени экспрессии гена на ход основных цитохимических реакций, составляющих основу формирования поражения ЦНС гипоксическим и ишемическим факторами.

Прежде всего это относится к митохондриальным протеинам.

Митохондрии являются основным регулятором и эффектором обменно-энергетических процессов в клетке. Они же определяют и её стресс-реактивность при различных неблагоприятных воздействиях, в том числе при гипоксии-ишемии.

В качестве одного из ключевых механизмов повреждения мозга при гипоксически-ишемическом воздействии в последние годы рассматривается участие т.н. «запускающих смерть клетки протеинов», или, как можно назвать их иначе, «медиаторов клеточной смерти» таких, как цитохром-С и апоптоз-индуцирующий фактор (AIF), выходящие при клеточном стрессе в цитозоль через митохондриальную мембрану и запускающие каспаза-зависимый и каспаза-независимый механизмы апоптоза. Считается, что эти механизмы во многом применимы к пониманию патогенеза перинатального гипоксически-ишемического повреждения мозговой ткани [39].

AIF – внутримембранный белок, впервые идентифицированный как эффектор каспаза-независимого механизма апоптоза. Исследования на мышах показали, что AIF играет важную роль в выживании, пролиферации и дифференцировке клеток, участвуя в метаболизме митохондрий [19, 35, 40, 41, 42].

Снижение активности AIF уменьшает количество комплексов белков дыхательной цепи, что ставит под угрозу процесс окислительного фосфорилирования [19, 43, 44].

Кроме того, AIF является причиной гибели нейронов и повреждения головного мозга [45, 46] и в процессе реализации роли AIF происходит его взаимодействие с циклофилином А с целью запуска деградации хроматина [45].

Взаимодействие с циклофилином А не является единственным проявлением реактивности AIF, и сам он находится под влиянием белка CHCHD4. Так, снижение уровня CHCHD4 сопровождается подавлением активности AIF. Кроме того, сверхэкспрессия CHCHD4 противодействует потере респираторных субъединиц, которая обычно наблюдается после истощения AIF. В здоровой клетке высвобождение AIF из митохондрий и перемещение его в ядро вызывает инъекция фермента поли(АДФ-рибоза)-полимеразы [47].

CHCHD4 является ключевым компонентом системы митохондриальных белков, влияющих на энергетику митохондрий, импорт белков, гомеостаз липидов, антиоксидантную реактивность. Сообщалось также, что этот белок контролирует перемещение ионов Ca^{++} через внутренние мембраны и что CHCHD4 контролирует HIF-1 α -зависимую индикацию гипоксии путём регулирования потребления кислорода. При этом не только CHCHD4 влияет на AIF, отмечено и обратное взаимовлияние, что говорит о существовании «сбалансированности» и наличия тесной взаимосвязи между этими двумя митохондриальными субстанциями. AIF снижает уровень CHCHD4 путём уменьшения его митохондриального импорта [23]. Кроме того, подавление AIF оказывает нейропротективное действие при гипоксии в мозге новорождённого млекопитающего [45, 46]. И, наконец, в 2017 г. определено участие CHCHD4 в нейропротективных механизмах посредством уменьшения высвобождения митохондриальных межмембранных белков [39].

Перечисление «медиаторов клеточной смерти» не исчерпывается белками AIF и CHCHD4. В задействованности реализации механизма клеточной смерти, в т.ч. в результате гипоксически-ишемического поражения мозга, предполагается белок-супрессор опухоли p53. Ядерный p53 вызывает апоптоз посредством таких механизмов, как, например, остановка клеточного цикла, регулирова-

ние аутофагии [48], трансактивации проапоптотического и подавляющего антиапоптотическую активность генов [49]. Существует несколько причин подозревать участие p53 в клеточной смерти в при гипоксически-ишемических поражениях мозга новорождённого.

Во-первых, ген TP53 и некоторые из его нижестоящих генов индуцируются в мозге новорождённых после гипоксически-ишемического поражения [50, 51].

Во-вторых, p53 накапливается в цитозоле и транслируется через митохондриальную мембрану внутрь органеллы при экспериментальном гипоксически-ишемическом воздействии на мозг [51, 52].

В-третьих, ингибирование NFκB (регулятора p53) уменьшает уровни p53, а затем освобождает цитохром C и повреждение головного мозга в модели гипоксически-ишемического поражения мозга новорождённого [52, 53].

Наконец, Pifithrin-μ (PFT-μ, ингибитор митохондриального действия p53 [54] блокирует накопление митохондрий p53, а за ним – выделение цитохрома и последующую активацию каспазы-3, существенно уменьшая повреждение мозга новорождённых [53].

Тем не менее, в доступной литературе удалось обнаружить минимум две статьи, авторы которых не нашли достоверных свидетельств задействованности p53 в процессе гибели нейрона при гипоксически-ишемическом поражении мозга новорождённого [55]. Также не удалось выявить существенных изменений в экспрессии гена TP53 белка при экспериментальной гипоксии-ишемии [39].

Тем самым, вопрос об участии p53 в патогенезе гипоксически-ишемического поражения головного мозга пока остаётся открытым.

При рассмотрении «медиаторов клеточной смерти» нельзя не упомянуть металлопротеиназу-9 (MMP-9). Ингибирование матричной металлопротеиназы-9 (MMP-9) защищает мозг взрослого человека после церебральной ишемии. При исследовании активности этого фермента в экспериментальных моделях с угнетением гена, кодирующего MMP-9, при гипоксии-ишемии головного мозга мышей первых недель жизни на 9-й день производилось лигирование сонной артерии с индуцированием гипоксии. Было выявлено повышение активности MMP-9 в течение 24 часов после патогенного воздействия и клетки с активированным ферментом были сококализованы с активированной микроглией.

При контроле через 7 дней в группе животных с угнетённой MMP-9 было выявлено снижение объёмной потери мозговой ткани в сравнении с группой контроля. В качестве объяснения отмеченного эффекта авторы выдвигают гипотезу о меньшей проницаемости гемато-энцефалического барьера и снижением выраженности воспалительных изменений (видимо, по выраженности микроглиальной реакции) при угнетении MMP-9.

Кроме того, по мнению авторов, каспаза-зависимый и каспаза-независимый механизмы апоптоза в данном случае не являются определяющими степень поражения мозга, то же можно сказать и о собственно апоптозе. Поскольку выраженность гипоксического поражения в эксперименте была ниже именно в модели с угнетением MMP-9, не влияющей на упомянутые механизмы повреждения клетки [55].

С учётом уже упомянутых данных о регулирующих взаимодействиях рассматриваемых митохондриальных белков, возникает вполне закономерный вопрос о влиянии на их первичную активность. В числе таких регуляторов в последние годы рассматриваются, прежде всего, генетические, в том числе эпигенетические, механизмы.

Так, в уже цитировавшихся нами исследованиях Yanyan Sun et al. [39] в качестве фактора, стимулирующего активность CHCHD4, определяется гаплонедостаточность. Согласно нынешним взглядам на проблематику регулирования генной активности, блокировка тем или иным образом (эти механизмы будут рассмотрены ниже) одной копии гена из диплоидного набора не в состоянии обеспечить функциональную активность генома в отношении кодируемого белка (в нашем случае – CHCHD4). Более того, гаплонедостаточность обычно наследуется доминантно, аутомомно либо по X-сцепленному механизму, что определяет сложную взаимосвязь и взаимозависимость генома как «стратегического» хранителя исчерпывающей информации о биологическом объекте, так и механизмов, регулирующих его «использование» в тактических целях (на протяжении жизни не вида, а отдельного организма).

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ УПРАВЛЕНИЯ ЭКСПРЕССИЕЙ ГЕНОВ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНЕТИКИ ДЦП

На настоящий момент известны в общих чертах механизмы управления экспрессией генов. Оно осуществляется через метильные группы посредством гипо- и гиперметилирования. Процесс осуществляется добавлением метильной группы к цитозину (одному из 4 нуклеотидов ДНК). Гипометилирование приводит к включению, а гиперметилирование – к выключению метильных групп. Таким образом реализуется активация/деактивация определённых генов.

При этом речь идёт о гистонах, так как именно эти белки «упаковывают» нити ДНК в хромосомы. Гистоны располагаются на поверхности нуклеосом. Набор данных модификаций (метилование, фосфорилирование, ацетилование) именуется гистоновым кодом, и от него зависит доступ к молекуле ДНК регуляторных факторов, а значит – экспрессия генов. Кроме метилирования, на модификацию белков оказывают влияние фосфорилирование и ацетилование. Стоит отметить, что большую часть гистонового кода составляет метилирование. В сущности, именно гистоновый код и является эпигенетическим инструментом влияния на гены. От него зависит включение/выключение и передача данной «программы» по наследству [56].

Последние экспериментальные работы на свободноживущих нематодах позволили выявить один из интимных механизмов эпигенетического влияния на геном: показано, что у этих животных геном упаковывается при сперматогенезе в нуклеосомы и несёт генетическую память, в основе которой упоминаются гистоны генов. Показано также, что эпигенетическая информация отцов крайне важна для правильного развития зародышевых клеток у потомства. Тем самым практически установлен режим влияния жизненного опыта отца на здоровье потомства [57].

На настоящий момент уже описываются способы и методы воздействия на эпигеном, в качестве воздействующего фактора в которых используются известные физические и химические феномены.

Исследователи описывают успешное использование электромагнитных волн с целью включения синтеза инсу-

лина у мышей с моделью диабета. Их система включает в себя природную содержащую оксид железа наночастицу – ферритин, – активирующую ионный канал TRPV1, т.е. производящая дистанционную стимуляцию экспрессии трансгена в инсулине с помощью воздействия электромагнитных волн высокой частоты или магнитного поля. То есть, по сути, речь идёт о наномеханизме, который может быть использован в качестве триггера экспрессии генов [56].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На настоящий момент накоплен огромный объём материалов исследований генетической детерминированности церебральных параличей. Полученные результаты часто противоречат друг другу (к примеру, определение роли в патогенезе перинатальных поражений мозга белка p53 и экспрессии кодирующего его гена), поэтому основной вопрос, стоящий в настоящее время перед исследователями, заключается в том, является ли данная противоречивость следствием наблюдаемых артефактов, или же есть ситуации, при которых реально существующие ассоциации перестают наблюдаться.

Обе возможности в равной степени правдоподобны. Закладываемый статистическими методами уровень значимости ($p < 0,05$) не исключает фиксации в некоторых случаях ложноположительных ассоциаций, которые привлекают внимание, имеют большой резонанс в научном сообществе, и, в случае ещё одного повтора артефактного результата, отсутствие ассоциации может быть доказано только при значительном числе скрупулёзных и сопоставимых по содержанию работ, итоги которых могут быть подведены с помощью мета-анализа. С другой стороны, множественность причин возникновения ДЦП предполагает то, что конкретные генетические факторы могут участвовать в патогенезе одних пациентов и не участвовать у других.

В таком случае необходим доскональный генетический анализ, по сотням тысяч полиморфизмов, с применением методов полногеномного поиска ассоциаций (GWAS), при которых осуществляется генотипирование больших выборок хорошо охарактеризованных пациентов, данные которых, сохраняясь в больших информационных базах, могли бы использоваться в дальнейшем для формирования специализированных выборок, объединяющих пациентов с диагнозом ДЦП одинакового генеза. Такой подход может способствовать дальнейшей глубокой классификации ДЦП и ведёт к персонализированному подходу оценки всех факторов, участвующих в патогенезе заболевания у конкретного пациента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Little WJ. Course of lectures on deformities of the human frame. *The Lancet*. 1843; 41(1058): 318-322. doi: 10.1016/S0140-6736(02)73824-5
2. Freud S. Les diplegies cérébrales infantiles. *Revue Neurologique*. 1893; 1: 177-183.
3. Бадалян Л.О. *Детская неврология*. М.: Медицина; 1984.
4. Семенова К.А., Махмудова Н.М. *Медицинская реабилитация и социальная адаптация больных детским церебральным параличом*. Ташкент: Медицина; 1979.
5. Бадалян Л.О., Журба Л.Т., Тимонина О.В. *Детские церебральные параличи*. Киев: Здоров'я; 1988.

6. Цукер М.Б. *Клиническая невропатология детского возраста*. М.: Медицина; 1972.
7. Balf C, Ingram T. Problems in the classification of cerebral palsy. *Brit Med J*. 1955; 2(4932): 163-166. doi: 10.1136/bmj.2.4932.163
8. Семенова К.А., Мастюкова Е.М., Смуглин М.Я. *Клиника и реабилитационная терапия детских церебральных параличей*. М.: Медицина; 1972.
9. Батышева Т.Т., Быкова О.В., Тюрина Е.М., Виноградов А.В. Детский церебральный паралич – актуальное обозрение. *Доктор.Ру Неврология*. 2012; (5): 40-44.
10. Blair E, Stanley F. Intrauterine growth and spastic cerebral palsy II. The association with morphology at birth. *Early Hum Dev*. 1992; 28(2): 91-103. doi: 10.1016/0378-3782(92)90104-0
11. Bobath K, Bobath B. The facilitation of normal postural reactions and movements in the treatment of cerebral palsy. *Physiotherapy*, 1964; 50: 246-262.
12. Bi D, Chen M, Zhang X, Wang H, Xia L, Shang Q, et al. The association between sex-related interleukin-6 gene polymorphisms and the risk for cerebral palsy. *J. Neuroinflammation*. 2014; 11: 100. doi: 10.1186/1742-2094-11-100
13. Muller D. *Neurologische Untersuchung und Diagnostik im Kindesalter*. Wien – New York; 1968.
14. Козловская И.Б. *Афферентный контроль произвольных движений*. М.: Наука; 1976.
15. Bruun TUJ, DesRoches CL, Wilson D, Chau V, Nakagawa T, Yamasaki M, et al. Prospective cohort study for identification of underlying genetic causes in neonatal encephalopathy using whole-exome sequencing. *Genet Med*. 2018; 20(5): 486-494. doi: 10.1038/gim.2017.129
16. Lynex CN, Carr IM, Leek JP, Achuthan R, Mitchell S, Maher ER, et al. Homozygosity for a missense mutation in the 67 kDa isoform of glutamate decarboxylase in a family with autosomal recessive spastic cerebral palsy: parallels with Stiff-Person Syndrome and other movement disorders. *BMC Neurol*. 2004; 4(1): 20. doi: 10.1186/1471-2377-4-20
17. Hyde TM, Lipska BK, Ali T, Mathew SV, Law AJ, Metitiri OE, et al. Expression of GABA signaling molecules KCC2, NKCC1, and GAD1 in cortical development and schizophrenia. *J Neurosci*. 2011; 31(30): 1088-11095. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1234-11.2011
18. Lerer I, Sagi M, Meiner V, Cohen T, Zlotogora J, Abeiovich D. Deletion of the ANKRD15 gene at 9p24.3 causes parent-of-origin-dependent inheritance of familial cerebral palsy. *Hum Mol Genet*. 2005; 14(24): 3911-3920. doi: 10.1093/hmg/ddi415
19. Hangen E, Blomgren K, Benit P, Kroemer G, Modjtahedi N. Life with or without AIF. *Trends Biochem Sci*. 2010; 35(5): 278-287. doi: 10.1016/j.tibs.2009.12.008
20. Kakinuma N, Zhu Y, Wang Y, Roy BC, Kiyama R. Kank proteins: structure, functions and diseases. *Cell Mol Life Sci*. 2009; 66(16): 2651-2659. doi: 10.1007/s00018-009-0038-y
21. Moreno-De-Luca A, Helmers SL, Mao H, Burns TG, Melton AM, Schmidt KR, et al. Adaptor protein complex-4 (AP-4) deficiency causes a novel autosomal recessive cerebral palsy syndrome with microcephaly and intellectual disability. *J Med Genet*. 2011; 48(2): 141-144. doi: 10.1136/jmg.2010.082263
22. McMichael G, Bainbridge MN, Haan E, Corbett M, Gardner A, Thompson S, et al. Whole-exome sequencing points to considerable genetic heterogeneity of cerebral palsy. *Mol Psychiatry*. 2015; 20(2): 176-182. doi: 10.1038/mp.2014.189

23. Tollånes MC, Wilcox AJ, Lie RT, Moster D. Familial risk of cerebral palsy: population based cohort study. *BMJ*. 2014; 349: g 4294. doi: 10.1136/bmj.g4294
24. MacLennan AH, Thompson SC, Gecz J. Cerebral palsy: causes, pathways, and the role of genetic variants. *Am J Obstet Gynecol*. 2015; 213(6): 779-788. doi: 10.1016/j.ajog.2015.05.034
25. Чегодаев Д.А., Львова О.А., Баранов Д.А. Генетические аспекты патогенеза детского церебрального паралича. *Системная интеграция в здравоохранении*. 2012; (3): 52-60.
26. Hou R, Ren X, Wang J, Guan X. TNF- α and MTHFR polymorphisms associated with cerebral palsy in Chinese infants. *Mol Neurobiol*. 2016; 53(10): 6653-6658. doi: 10.1007/s12035-015-9566-7
27. Nelson KB, Dambrosia JM, Iovannisci DM, Cheng S, Grether JK, Lammer E. Genetic polymorphisms and cerebral palsy in very preterm infants. *Pediatr Res*. 2005; 57(4): 494-499. doi:10.1203/01.PDR.0000156477.00386.E7
28. Lien E, Andersen G, Bao Y, Gordish-Dressman H, Skranes JS, Blackman JA, Vik T. Genes determining the severity of cerebral palsy: the role of single nucleotide polymorphisms on the amount and structure of apolipoprotein E. *Acta Paediatr*. 2015; 104(7): 701-706. doi: 10.1111/apa.12983
29. Mahley RW, Weisgraber KH, Huang Y. Apolipoprotein E4: a causative factor and therapeutic target in neuropathology, including Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006; 103(15): 5644-5651. doi: 10.1073/pnas.0600549103
30. Ebrahimi-Fakhari D, Behne R, Davies AK, Hirst J. AP-4-associated hereditary spastic paraplegia. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, Amemiya A (eds.). *GeneReviews® [Internet]*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2019.
31. Baburamani AA, Supramaniam VG, Hagberg H, Mallard C. Microglia toxicity in preterm brain injury. *Reprod Toxicol*. 2014; 48: 106-112. doi: 10.1016/j.reprotox.2014.04.002
32. Danbolt NC. Glutamate uptake. *Prog Neurobiol*. 2001; 65(1): 1-105. doi: 10.1016/S0301-0082(00)00067-8
33. Chaudhry FA, Lehre KP, van Lookeren Campagne M, Ottersen OP, Danbolt NC, Storm-Mathisen. Glutamate transporters in glial plasma membranes: highly differentiated localizations revealed by quantitative ultrastructural immunocytochemistry. *Neuron*. 1995; 15(3): 711-720. doi: 10.1016/0896-6273(95)90158-2
34. Rajatileka S, Odd D, Robinson MT, Spittle AC, Dwo-moh L, Williams M, et al. Variants of the EAAT2 glutamate transporter gene promoter are associated with cerebral palsy in preterm infants. *Mol Neurobiol*. 2018; 55(3): 2013-2024. doi: 10.1007/s12035-017-0462-1
35. Klein JA, Longo-Guess CM, Rossmann MP, Seburn KL, Hurd RE, Frankel WN, et al. The harlequin mouse mutation down regulates apoptosis-inducing factor. *Nature*. 2002; 419(6905): 367-374. doi: 10.1038/nature01034
36. Sun L, Xia L, Wang M, Zhu D, Wang Y, Bi D, et al. Variants of the OLIG2 Gene are associated with cerebral palsy in Chinese Han infants with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Neuromolecular Med*. 2018; 21(3): 75-84. doi: 10.1007/s12017-018-8510-1
37. Mottahedin A, Svedin P, Nair S, Mohn CJ, Wang X, Hagberg H, et al. Systemic activation of Toll-like receptor 2 suppresses mitochondrial respiration and exacerbates hypoxic-ischemic injury in the developing brain. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2017; 37(4): 1192-1198. doi: 10.1177/0271678X17691292
38. Kálmán M1, Ajtai BM, Sommernes JH. Characteristics of glial reaction in the perinatal rat cortex: Effect of lesion size in the 'critical period'. *Neural Plast*. 2000; 7(3): 147-165. doi: 10.1155/NP.2000.147
39. Sun Y, Li T, Xie C., Xu Y, Zhou K, Rodriguez J., et al. Haploinsufficiency in the mitochondrial protein CHCHD4 reduces brain injury in a mouse model of neonatal hypoxia-ischemia. *Cell Death and Disease*. 2017; 8(5): 2781. doi: 10.1038/cddis.2017.196
40. Vahsen N, Candé C, Brière JJ, Benit P, Joza N, Larochette N, et al. AIF deficiency compromises oxidative phosphorylation. *EMBO J*. 2004; 23(23): 4679-4689. doi:10.1038/sj.emboj.7600461
41. Osato K, Sato Y, Ochiishi T, Osato A, Zhu C, Sato M, et al. Apoptosis-inducing factor deficiency decreases the proliferation rate and protects the subventricular zone against ionizing radiation. *Cell Death Dis*. 2010; 1: e 84. doi: 10.1038/cddis.2010.63
42. Ishimura R, Martin GR, Ackerman SL. Loss of apoptosis-inducing factor results in cell-type specific neurogenesis defects. *J Neurosci*. 2008; 28(19): 4938-4948. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0229-08.2008
43. Hangen E, Blomgren K, Benit P, Kroemer G, Modjtahedi N. Life with or without AIF. *Trends Biochem Sci*. 2010; 35(5): 278-287. doi: 10.1016/j.tibs.2009.12.008
44. Hangen E, Feraud O, Lachkar S, Mou H, Doti N, Fimia GM, et al. Interaction between AIF and CHCHD4 regulates respiratory chain biogenesis. *Mol Cell*. 2015; 58(6): 1001-1014. doi: 10.1016/j.molcel.2015.04.020
45. Zhu C, Wang X, Huang Z, Qiu L, Xu F, Vahsen N, et al. Apoptosis-inducing factor is a major contributor to neuronal loss induced by neonatal cerebral hypoxia-ischemia. *Cell Death Differ*. 2007; 14(4): 775-784. doi: 10.1038/sj.cdd.4402053
46. Youn HJ, Kim S, Jeon MH, Lee JH, Seo YJ, Lee YJ, Lee JH. Induction of caspase-independent apoptosis in H9c2 cardiomyocytes by adriamycin treatment. *Mol Cell Biochem*. 2005; 270(1-2): 13-19.
47. Moll UM, Wolff S, Speidel D, Deppert W. Transcription-independent pro-apoptotic functions of p53. *Curr Opin Cell Biol*. 2005; 17(6): 631-636. doi: 10.1016/j.ceb.2005.09.007
48. Riley T, Sontag E, Chen P, Levine A. Transcriptional control of human p53-regulated genes. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008; 9(5): 402-412. doi: 10.1038/nrm2395
49. Hedtjarn M, Mallard C, Eklind S, Gustafson-Brywe K, Hagberg H. Global gene expression in the immature brain after hypoxia-ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2004; 24(12): 1317-1332. doi: 10.1097/01.WCB.0000141558.40491.75
50. Bolouri H, Savman K, Wang W, Thomas A, Maurer N, Dullaghan E, et al. Innate defense regulator 1018 protects against perinatal brain injury. *Ann Neurol*. 2014; 75(3): 395-410. doi: 10.1002/ana.24087
51. Nijboer CH, Heijnen CJ, Groenendaal F, May MJ, van Bel F, Kavelaars A. Strong neuroprotection by inhibition of NF-kappaB after neonatal hypoxia-ischemia involves apoptotic mechanisms but is independent of cytokines. *Stroke*. 2008; 39(7): 2129-2137. doi: 10.1161/STROKEA-HA.107.504175
52. Голубев А.М., Москалева Е.Ю., Северин С.Е., Веснянко Т.П., Кузовлев А.Н., Алкадарский А.С., и др. Апоптоз при критических состояниях. *Общая реаниматология*.

2006; 2(6): 184-190. doi.org/10.15360/1813-9779-2006-6-184-190

53. Obermann-Borst SA, Isaacs A, Younes Z, van Schaik RH, van der Heiden IP, van Duyn CM, et al. General maternal medication use, folic acid, the MDR1 C3435T polymorphism, and the risk of a child with a congenital heart defect. *Am J Obstet Gynecol.* 2011; 204(3): 236.e1-8. doi: 10.1016/j.ajog.2010.10.911

54. Nijboer CH, Heijnen CJ, van der Kooij MA, Zijlstra J, van Velthoven CT, Culmsee C, et al. Targeting the p53 pathway to protect the neonatal ischemic brain. *Ann Neurol.* 2011; 70: 255-264. doi: 10.1002/ana.22413

55. Strom E, Sathe S, Komarov PG, Chernova OB, Pavlovskaya I, Shyshynova I, et al. Small-molecule inhibitor of p53 binding to mitochondria protects mice from gamma radiation. *Nat Chem Biol.* 2006; 2(9): 474-479. doi: 10.1038/nchembio809

56. Svedin P, Hagberg H, Savman K, Zhu C, Carina Mallard C. Matrix metalloproteinase-9 gene knock-out protects the immature brain after cerebral hypoxia-ischemia. *J Neuroscience.* 2007; 27(7): 1511-1518. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4391-06.2007

57. Stanley SA, Sauer J, Kane RS, Dordick JS, Friedman JM. Remote regulation of glucose homeostasis in mice using genetically encoded nanoparticles. *Nat Med.* 2015; 21(1): 92-98. doi: 10.1038/nm.3730

58. Tabuchi TM, Rechtsteiner A, Jeffers TE, Egelhofer TA, Murphy CT, Strome S. Caenorhabditis elegans sperm carry a histone-based epigenetic memory of both spermatogenesis and oogenesis. *Nat Commun.* 2018; 9(1): 4310. doi: 10.1038/s41467-018-06236-8

REFERENCES

1. Little WJ. Course of lectures on deformities of the human frame. *The Lancet.* 1843; 41(1058): 318-322. doi: 10.1016/S0140-6736(02)73824-5

2. Freud S. Les diplegies cérébrales infantiles. *Revue Neurologique.* 1893; 1: 177-183.

3. Badalyan LO. *Pediatric neurology.* Moscow: Meditsina; 1984. (In Russ.)

4. Semenova KA, Makhmudova NM. *Medical rehabilitation and social adaptation of patients with cerebral palsy.* Tashkent: Meditsina; 1979. (In Russ.)

5. Badalyan LO, Zhurba LT, Timonina OV. *Cerebral palsies.* Kiev: Zdorov'ya, 1988. (In Russ.)

6. Tsuker MB. *Clinical neuropathology at children's age.* Moscow: Meditsina; 1972. (In Russ.)

7. Balf C, Ingram T. Problems in the classification of cerebral palsy. *Brit Med J.* 1955; 2(4932): 163-166. doi: 10.1136/bmj.2.4932.163

8. Semenova KA, Mast'yukova EM, Smuglin MYa. *Clinic and rehabilitation therapy of cerebral palsies.* Moscow: Meditsina; 1972. (In Russ.)

9. Batysheva TT, Bykova OV, Tyurina EM, Vinogradov AV. Cerebral palsy - actual review. *Doktor.Ru Nevrologiya.* 2012; (5): 40-44. (In Russ.)

10. Blair E, Stanley F. Intrauterine growth and spastic cerebral palsy II. The association with morphology at birth. *Early Hum Dev.* 1992; 28(2): 91-103. doi: 10.1016/0378-3782(92)90104-O

11. Bobath K, Bobath B. The facilitation of normal postural reactions and movements in the treatment of cerebral palsy. *Physiotherapy.* 1964; 50: 246-262.

12. Bi D, Chen M, Zhang X, Wang H, Xia L, Shang Q, et al. The association between sex-related interleukin-6 gene polymorphisms and the risk for cerebral palsy. *J. Neuroinflammation.* 2014; 11: 100. doi: 10.1186/1742-2094-11-100

13. Muller D. *Neurologische Untersuchung und Diagnostik im Kindesalter.* Wien – New York; 1968.

14. Kozlovskaya IB. *Afferent control of any movements.* Moscow: Nauka; 1976. (In Russ.)

15. Bruun TUJ, DesRoches CL, Wilson D, Chau V, Nakagawa T, Yamasaki M, et al. Prospective cohort study for identification of underlying genetic causes in neonatal encephalopathy using whole-exome sequencing. *Genet Med.* 2018; 20(5): 486-494. doi: 10.1038/gim.2017.129

16. Lynex CN, Carr IM, Leek JP, Achuthan R, Mitchell S, Maher ER, et al. Homozygosity for a missense mutation in the 67 kDa isoform of glutamate decarboxylase in a family with autosomal recessive spastic cerebral palsy: parallels with Stiff-Person Syndrome and other movement disorders. *BMC Neurol.* 2004; 4(1): 20. doi: 10.1186/1471-2377-4-20

17. Hyde TM, Lipska BK, Ali T, Mathew SV, Law AJ, Metitiri OE, et al. Expression of GABA signaling molecules KCC2, NKCC1, and GAD1 in cortical development and schizophrenia. *J Neurosci.* 2011; 31(30): 1088-11095. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1234-11.2011

18. Lerer I, Sagi M, Meiner V, Cohen T, Zlotogora J, Abelevich D. Deletion of the ANKRD15 gene at 9p24.3 causes parent-of-origin-dependent inheritance of familial cerebral palsy. *Hum Mol Genet.* 2005; 14(24): 3911-3920. doi: 10.1093/hmg/ddi415

19. Hangen E, Blomgren K, Benit P, Kroemer G, Modjtahedi N. Life with or without AIF. *Trends Biochem Sci.* 2010; 35(5): 278-287. doi: 10.1016/j.tibs.2009.12.008

20. Kakinuma N, Zhu Y, Wang Y, Roy BC, Kiyama R. Kank proteins: structure, functions and diseases. *Cell Mol Life Sci.* 2009; 66(16): 2651-2659. doi: 10.1007/s00018-009-0038-y

21. Moreno-De-Luca A, Helmers SL, Mao H, Burns TG, Melton AM, Schmidt KR, et al. Adaptor protein complex-4 (AP-4) deficiency causes a novel autosomal recessive cerebral palsy syndrome with microcephaly and intellectual disability. *J Med Genet.* 2011; 48(2): 141-144. doi: 10.1136/jmg.2010.082263

22. McMichael G, Bainbridge MN, Haan E, Corbett M, Gardner A, Thompson S, et al. Whole-exome sequencing points to considerable genetic heterogeneity of cerebral palsy. *Mol Psychiatry.* 2015; 20(2): 176-182. doi: 10.1038/mp.2014.189

23. Tollånes MC, Wilcox AJ, Lie RT, Moster D. Familial risk of cerebral palsy: population based cohort study. *BMJ.* 2014; 349: g 4294. doi: 10.1136/bmj.g4294

24. MacLennan AH, Thompson SC, Gecz J. Cerebral palsy: causes, pathways, and the role of genetic variants. *Am J Obstet Gynecol.* 2015; 213(6): 779-788. doi: 10.1016/j.ajog.2015.05.034

25. Chegodayev DA, Lvova OA, Baranov DA. Cerebral palsy – genetic aspects of pathogenesis. *Sistemnaya integratsiya v zdravookhraneni.* 2012; (3): 52-60. (In Russ.)

26. Hou R, Ren X, Wang J, Guan X. TNF- α and MTHFR polymorphisms associated with cerebral palsy in Chinese infants. *Mol Neurobiol.* 2016; 53(10): 6653-6658. doi: 10.1007/s12035-015-9566-7

27. Nelson KB, Dambrosia JM, Iovannisci DM, Cheng S, Grether JK, Lammer E. Genetic polymorphisms and cerebral palsy in very preterm infants. *Pediatr Res.* 2005; 57(4): 494-499. doi:10.1203/01.PDR.0000156477.00386.E7

28. Lien E, Andersen G, Bao Y, Gordish-Dressman H, Skranes JS, Blackman JA, Vik T. Genes determining the severity of cerebral palsy: the role of single nucleotide polymorphisms on the amount and structure of apolipoprotein E. *Acta Paediatr.* 2015; 104(7): 701-706. doi: 10.1111/apa.12983
29. Mahley RW, Weisgraber KH, Huang Y. Apolipoprotein E4: a causative factor and therapeutic target in neuropathology, including Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006; 103(15): 5644-5651. doi: 10.1073/pnas.0600549103
30. Ebrahimi-Fakhari D, Behne R, Davies AK, Hirst J. AP-4-associated hereditary spastic paraplegia. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, Amemiya A (eds.). *GeneReviews® [Internet]*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2019.
31. Baburamani AA, Supramaniam VG, Hagberg H, Mallard C. Microglia toxicity in preterm brain injury. *Reprod Toxicol.* 2014; 48: 106-112. doi: 10.1016/j.reprotox.2014.04.002
32. Danbolt NC. Glutamate uptake. *Prog Neurobiol.* 2001; 65(1): 1-105. doi: 10.1016/S0301-0082(00)00067-8
33. Chaudhry FA, Lehre KP, van Lookeren Campagne M, Ottersen OP, Danbolt NC, Storm-Mathisen. Glutamate transporters in glial plasma membranes: highly differentiated localizations revealed by quantitative ultrastructural immunocytochemistry. *Neuron.* 1995; 15(3): 711-720. doi: 10.1016/0896-6273(95)90158-2
34. Rajatileka S, Odd D, Robinson MT, Spittle AC, Dwo-moh L, Williams M, et al. Variants of the EAAT2 glutamate transporter gene promoter are associated with cerebral palsy in preterm infants. *Mol Neurobiol.* 2018; 55(3): 2013-2024. doi: 10.1007/s12035-017-0462-1
35. Klein JA, Longo-Guess CM, Rossmann MP, Seburn KL, Hurd RE, Frankel WN, et al. The harlequin mouse mutation down regulates apoptosis-inducing factor. *Nature.* 2002; 419(6905): 367-374. doi: 10.1038/nature01034
36. Sun L, Xia L, Wang M, Zhu D, Wang Y, Bi D, et al. Variants of the OLIG2 Gene are associated with cerebral palsy in Chinese Han infants with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Neuromolecular Med.* 2018; 21(3): 75-84. doi: 10.1007/s12017-018-8510-1
37. Mottahedin A, Svedin P, Nair S, Mohn CJ, Wang X, Hagberg H, et al. Systemic activation of Toll-like receptor 2 suppresses mitochondrial respiration and exacerbates hypoxic-ischemic injury in the developing brain. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2017; 37(4): 1192-1198. doi: 10.1177/0271678X17691292
38. Kálmán M1, Ajtai BM, Sommers JH. Characteristics of glial reaction in the perinatal rat cortex: Effect of lesion size in the 'critical period'. *Neural Plast.* 2000; 7(3): 147-165. doi: 10.1155/NP.2000.147
39. Sun Y, Li T, Xie C, Xu Y, Zhou K, Rodriguez J, et al. Haploinsufficiency in the mitochondrial protein CHCHD4 reduces brain injury in a mouse model of neonatal hypoxia-ischemia. *Cell Death and Disease.* 2017; 8(5): 2781. doi: 10.1038/cddis.2017.196
40. Vahsen N, Candé C, Brière JJ, Bénit P, Joza N, Larochette N, et al. AIF deficiency compromises oxidative phosphorylation. *EMBO J.* 2004; 23(23): 4679-4689. doi:10.1038/sj.emboj.7600461
41. Osato K, Sato Y, Ochiishi T, Osato A, Zhu C, Sato M, et al. Apoptosis-inducing factor deficiency decreases the proliferation rate and protects the subventricular zone against ionizing radiation. *Cell Death Dis.* 2010; 1: e 84. doi: 10.1038/cddis.2010.63
42. Ishimura R, Martin GR, Ackerman SL. Loss of apoptosis-inducing factor results in cell-type specific neurogenesis defects. *J Neurosci.* 2008; 28(19): 4938-4948. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0229-08.2008
43. Hangen E, Blomgren K, Benit P, Kroemer G, Modjtahedi N. Life with or without AIF. *Trends Biochem Sci.* 2010; 35(5): 278-287. doi: 10.1016/j.tibs.2009.12.008
44. Hangen E, Feraud O, Lachkar S, Mou H, Doti N, Fimia GM, et al. Interaction between AIF and CHCHD4 regulates respiratory chain biogenesis. *Mol Cell.* 2015; 58(6): 1001-1014. doi: 10.1016/j.molcel.2015.04.020
45. Zhu C, Wang X, Huang Z, Qiu L, Xu F, Vahsen N, et al. Apoptosis-inducing factor is a major contributor to neuronal loss induced by neonatal cerebral hypoxia-ischemia. *Cell Death Differ.* 2007; 14(4): 775-784. doi: 10.1038/sj.cdd.4402053
46. Youn HJ, Kim S, Jeon MH, Lee JH, Seo YJ, Lee YJ, Lee JH. Induction of caspase-independent apoptosis in H9c2 cardiomyocytes by adriamycin treatment. *Mol Cell Biochem.* 2005; 270(1-2): 13-19.
47. Moll UM, Wolff S, Speidel D, Deppert W. Transcription-independent pro-apoptotic functions of p53. *Curr Opin Cell Biol.* 2005; 17(6): 631-636. doi: 10.1016/j.ceb.2005.09.007
48. Riley T, Sontag E, Chen P, Levine A. Transcriptional control of human p53-regulated genes. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008; 9(5): 402-412. doi: 10.1038/nrm2395
49. Hedtjarn M, Mallard C, Eklin S, Gustafson-Brywe K, Hagberg H. Global gene expression in the immature brain after hypoxia-ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2004; 24(12): 1317-1332. doi: 10.1097/01.WCB.0000141558.40491.75
50. Bolouri H, Savman K, Wang W, Thomas A, Maurer N, Dullaghan E, et al. Innate defense regulator 1018 protects against perinatal brain injury. *Ann Neurol.* 2014; 75(3): 395-410. doi: 10.1002/ana.24087
51. Nijboer CH, Heijnen CJ, Groenendaal F, May MJ, van Bel F, Kavelaars A. Strong neuroprotection by inhibition of NF-kappaB after neonatal hypoxia-ischemia involves apoptotic mechanisms but is independent of cytokines. *Stroke.* 2008; 39(7): 2129-2137. doi: 10.1161/STROKEAHA.107.504175
52. Golubev AM, Moskaleva EY, Severin SE, Vesnyanko TP, Kouzovlev AN, Alkadarsky AS, et al. Apoptosis in critical conditions. *Obshchaya reanimatologiya.* 2006; 2(6): 184-190. (In Russ.) doi: 10.15360/1813-9779-2006-6-184-190
53. Obermann-Borst SA, Isaacs A, Younes Z, van Schaik RH, van der Heiden IP, van Duyn CM, et al. General maternal medication use, folic acid, the MDR1 C3435T polymorphism, and the risk of a child with a congenital heart defect. *Am J Obstet Gynecol.* 2011; 204(3): 236.e1-8. doi: 10.1016/j.ajog.2010.10.911
54. Nijboer CH, Heijnen CJ, van der Kooij MA, Zijlstra J, van Velthoven CT, Culmsee C, et al. Targeting the p53 pathway to protect the neonatal ischemic brain. *Ann Neurol.* 2011; 70: 255-264. doi: 10.1002/ana.22413
55. Strom E, Sathe S, Komarov PG, Chernova OB, Pavlovskaya I, Shyshynova I, et al. Small-molecule inhibitor of p53 binding to mitochondria protects mice from gamma radiation. *Nat Chem Biol.* 2006; 2(9): 474-479. doi: 10.1038/nchembio809
56. Svedin P, Hagberg H, Savman K, Zhu C, Carina Mallard C. Matrix metalloproteinase-9 gene knock-out protects the immature brain after cerebral hypoxia-ischemia. *J Neuroscience.* 2007; 27(7): 1511-1518. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4391-06.2007

57. Stanley SA, Sauer J, Kane RS, Dordick JS, Friedman JM. Remote regulation of glucose homeostasis in mice using genetically encoded nanoparticles. *Nat Med.* 2015; 21(1): 92-98. doi: 10.1038/nm.3730

58. Tabuchi TM, Rechtsteiner A, Jeffers TE, Egelhofer TA, Murphy CT, Strome S. Caenorhabditis elegans sperm carry a histone-based epigenetic memory of both spermatogenesis and oogenesis. *Nat Commun.* 2018; 9(1): 4310. doi: 10.1038/s41467-018-06236-8

Сведения об авторах

Притыко Андрей Георгиевич – доктор медицинских наук, профессор, директор ГБУЗ Научно-практический центр специализированной помощи детям имени Н.В. Воино-Ясенецкого Департамента здравоохранения г. Москвы, e-mail: npcprakt@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8899-4107>

Чебаненко Наталья Владимировна – кандидат медицинских наук, заведующая отделением общей психоневрологии ГБУЗ Научно-практический центр специализированной помощи детям имени Н.В. Воино-Ясенецкого Департамента здравоохранения г. Москвы, e-mail: npcprakt@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8344-500X>.

Соколов Павел Леонидович – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела лучевой диагностики ГБУЗ Научно-практический центр специализированной помощи детям имени Н.В. Воино-Ясенецкого Департамента здравоохранения г. Москвы, e-mail: psok.sci@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0625-1404>

Зыков Валерий Петрович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой неврологии детского возраста ГБОУ ДПО РМАПО МЗ России, e-mail: rmapo@rmapo.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1401-5479>

Климчук Олег Владимирович – кандидат медицинских наук, заведующий отделом лучевой диагностики ГБУЗ Научно-практический центр специализированной помощи детям имени Н.В. Воино-Ясенецкого Департамента здравоохранения г. Москвы, e-mail: klimcuko@mail.ru

Канивец Илья Вячеславович – кандидат медицинских наук, врач-генетик, руководитель отдела генетики медико-генетического центра «Геномед», <https://orcid.org/0000-0001-5821-9783>

Information about the authors

Andrey G. Prityko – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director of the Scientific-Practical Center for Specialized Assistance for Children named after N.V. Voino-Yasenetsky of Department of Healthcare of Moscow, e-mail: npcprakt@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8899-4107>

Natalya V. Chebanenko – Cand. Sc. (Med.), Head of the Department of General Psychoneurology, Scientific and Practical Center for Specialized Assistance for Children named after N.V. Voino-Yasenetsky of Department of Healthcare of Moscow, e-mail: npcprakt@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8344-500X>

Pavel L. Sokolov – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Department of Radiation Diagnostics, Scientific-Practical Center for Specialized Assistance for Children named after N.V. Voino-Yasenetsky of Department of Healthcare of Moscow, e-mail: psok.sci@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0625-1404>

Valery P. Zykov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Children Neurology, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: rmapo@rmapo.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1401-5479>

Oleg V. Klimchuk – Cand. Sc. (Med.), Head of the Department of Radiation Diagnostics, Scientific and Practical Center for Specialized Assistance for Children named after N.V. Voino-Yasenetsky of Department of Healthcare of Moscow, e-mail: klimcuko@mail.ru

Ilya V. Kanivets – Cand. Sc. (Med.), Geneticist, Head of the Genetics Department of the Genomed Medical Genetic Center, <https://orcid.org/0000-0001-5821-9783>

Статья получена: 06.02.2019. Статья принята: 18.04.2019. Статья опубликована: 26.06.2019.
Received: 06.02.2019. Accepted: 18.04.2019. Published: 26.06.2019.

Pharmacogenetic Warfarin Dosing Algorithm in the Russian Population

Bairova T.A.¹, Sambyalova A.Yu.¹, Rychkova L.V.¹, Novikova E.A.¹, Belyalov F.I.², Sargaeva D.S.⁷, Shchedreeva E.A.⁴, Ignatyeva T.G.³, Ershova O.A.¹, Pustozero V.G.^{2,3}, Kovaleva O.A.³, Rasputina I.V.⁴, Noskova I.A.⁵, Batogova T.V.⁴, Kuznetsova O.V.⁴, Bogoslova O.Yu.⁴, Kolesnikov S.I.^{1,6}

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

² Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation); ³ Regional Geriatric Centre (ul. Lenina 20A, Irkutsk 664025, Russian Federation); ⁴ City Clinical Hospital N 10 (b. Ryabikova 31A, Irkutsk 664043, Russian Federation); ⁵ Irkutsk Municipal Polyclinic N 4 (Baikalskaya 109, Irkutsk 664047, Russian Federation); ⁶ Lomonosov Moscow State University (Leninskie Gory 1, Moscow 119234, Russian Federation); ⁷ Republican Clinical Hospital (Pavlova 12, Ulan-Ude 670031, Russian Federation)

Corresponding author: Alexandra Yu. Sambyalova, e-mail: sambialova95@mail.ru

Abstract

Background. To date, there are many pharmacogenetic algorithms for selecting the dose of warfarin. However, there is very little information about the predictive accuracy of the algorithms. We decided to evaluate the predictive accuracy of the Gage algorithm, using a calculator, located on the web site (<http://www.warfarindosing.org>) in two ethnic groups (Caucasians and Asians), living in Russia.

Aim. To compare the actual warfarin dose (AWD) to the calculated warfarin dose (CWD), using the algorithm in two ethnic groups taking warfarin.

Materials and methods. We included 114 patients (66 Caucasians and 48 Asians): the mean age was 60.91 ± 12.34 years; 61 (53.51 %) men, and 53 (46.49 %) women. The comparative characteristics of the algorithm were tested using the mean absolute error (MAE) between AWD and CWD, and percentage of patients, whose CWD fell within 20 % of AWD (percentage within 20 %). Genotyping for CYP2C9*2, CYP2C9*3, CYP4F2 and VKORC1 was performed by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) method using Pharmacogenetics Warfarin reagent kits (DNA technology, Russia).

Results. The Gage algorithm produced the predictive accuracy with MAE = 1.02 ± 0.16 mg/day and percentage within 20 % for Asian patients was 39.6 %. We obtained MAE = 1.33 ± 0.16 mg/day and percentage within 20 % for Caucasian patients was 40.9 %. In two ethnic groups (Caucasians and Asians) of the Russian population, overall performance of warfarin pharmacogenetic dosing by the Gage algorithm was similar.

Conclusions. Despite the performance limitation of the current warfarin pharmacogenetic dosing Gage algorithm, constant international normalized ratio monitoring is important.

Key words: warfarin, biotransformation, CYP2C9, CYP4F2, VKORC1, pharmacogenetics, personalized medicine, Caucasians, Asians

For citation: Bairova T.A., Sambyalova A.Yu., Rychkova L.V., Novikova E.A., Belyalov F.I., Sargaeva D.S., Shchedreeva E.A., Ignatyeva T.G., Ershova O.A., Pustozero V.G., Kovaleva O.A., Rasputina I.V., Noskova I.A., Batogova T.V., Kuznetsova O.V., Bogoslova O.Yu., Kolesnikov S.I. Pharmacogenetic warfarin dosing algorithm in the Russian population. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 40-44. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.5

Фармакогенетический алгоритм дозирования варфарина в российской популяции

Баирова Т.А.¹, Самбялова А.Ю.¹, Рычкова Л.В.¹, Новикова Е.А.¹, Белялов Ф.И.², Саргаева Д.С.⁷, Щедреева Е.А.⁴, Игнатьева Т.Г.³, Ершова О.А.¹, Пустозеров В.Г.^{2,3}, Ковалева О.А.³, Распутина И.В.⁴, Носкова И.А.⁵, Батогова Т.В.⁴, Кузнецова О.В.⁴, Богослова О.Ю.⁴, Колесников С.И.^{1,6}

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

² Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия); ³ ГБУЗ «Областной гериатрический центр» (664025, г. Иркутск, ул. Ленина, 20а, Россия); ⁴ ОГАУЗ «Городская клиническая больница № 10» (664043, г. Иркутск, б. Рябикова, 31А, Россия); ⁵ ОГБУЗ «Иркутская городская поликлиника № 4» (664058, г. Иркутск, Первомайский, 23А, Россия); ⁶ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (119234, г. Москва, Ленинские Горы, 1, Россия); ⁷ Республиканская клиническая больница им. Н.А. Семашко (670031, г. Улан-Уде, ул. Павлова, 12, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Самбялова Александра Юрьевна, e-mail: sambialova95@mail.ru

Резюме

Обоснование. На сегодняшний день существует множество фармакогенетических алгоритмов подбора дозы варфарина. Тем не менее, очень мало информации о прогностической точности алгоритмов в реальной клинической практике. Мы решили оценить прогностическую точность алгоритма Gage et al., с помощью размещенного калькулятора на сайте (<http://www.warfarindosing.org>) в двух этнических группах (европеоиды и азиаты) российской популяции.

Целью данной работы было сравнить фактическую дозу варфарина (AWD) с рассчитанной дозой варфарина (CWD) с использованием алгоритма в двух этнических группах, принимающих варфарин.

Методы. Участники исследования – 114 пациентов (66 европеоидов, 48 азиатов), принимающих варфарин для профилактики тромбоэмболических осложнений: при фибрилляции предсердий – 92 (80,7 %) человека, при ишемической болезни сердца – 7 (6,14 %), после тромбоза в анамнезе – 8 (7,01 %), при аритмии – 3 (2,6 %) и др. Средний возраст обследованных составил $60,91 \pm 12,34$ года; 61 (53,51 %) мужчина, 53 (46,49 %) женщины. Сравнительные характеристики алгоритма были протестированы с использованием средней абсолютной ошибки (MAE) между фактической дозой варфарина и дозой, предсказанной с помощью алгоритма, и расчёта процента пациентов, у которых предсказанная доза не отличалась более чем на 20 % от фактической дозы.

Результаты. Фармакогенетический алгоритм Gage показал прогностическую точность с MAE $1,02 \pm 0,16$ мг/день и процент пациентов, у которых предсказанная доза не отличалась более чем на 20 % от фактической дозы составил 39,6 % для азиатских пациентов. Для европеоидов с MAE $1,33 \pm 0,16$ мг/день процент пациентов, у которых предсказанная доза не отличалась более чем на 20 % от фактической дозы, составил 40,9 %, что показало одинаковую производительность в двух этнических группах российской популяции.

Заключение. Прогностическая точность фармакогенетического калькулятора Gage et al. в реальной клинической практике в российской популяции невысокая, и поэтому всё ещё важным при терапии варфарином является контроль международного нормализованного отношения (МНО).

Ключевые слова: варфарин, европеоиды, азиаты, CYP2C9, CYP4F2, фармакогенетика, персонализированная медицина

Для цитирования: Баирова Т.А., Самбялова А.Ю., Рычкова Л.В., Новикова Е.А., Белялов Ф.И., Саграева Д.С., Щедреева Е.А., Игнатьева Т.Г., Ершова О.А., Пустозеров В.Г., Ковалева О.А., Распутина И.В., Носкова И.А., Батогова Т.В., Кузнецова О.В., Богослова О.Ю., Колесников С.И. Фармакогенетический алгоритм дозирования варфарина в российской популяции. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 40-44. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.5

INTRODUCTION

Warfarin is one of the most widely used oral anticoagulants in the treatment and prophylaxis of arterial and venous thromboembolic diseases [1, 2]. The warfarin has a narrow therapeutic range, its dosage is affected by genetic and non-genetic factors [3, 4]. Non-genetic factors are gender, age, diet, race, concomitant drugs, body surface area (BSA) [5]. Genetic factors such as polymorphisms in the cytochrome P450 (CYP2C9), (CYP4F2) and the vitamin K epoxide reductase complex 1 (VKORC1) genes may also influence patient's response to warfarin [6, 7]. Warfarin treatment is associated with interindividual variability in maintaining its effective dose, therapeutic warfarin doses differ between patients in 15–20 times [8]. High interindividual variability in warfarin doses has led to development of algorithms, scales, calculators for the selection of warfarin doses for anticoagulant therapy. Multiple genotype-based warfarin dosing algorithms have been published, however, the most cited is the Gage algorithm, since there is a simple calculator and it is freely available online (www.warfarindosing.org) [9]. The Gage algorithm is based on data from large, predominantly Caucasian, populations. This algorithm was derived from a population of over 1.000 patients, 83 % of which were Caucasians, and 2 % belonged to different races [10]. Little information is available on performance of published warfarin pharmacogenetic algorithms, and there is no data on performance of the Gage algorithm in Russian populations.

Aim of this study was to compare the actual warfarin dose (AWD) to the calculated warfarin dose (CWD), using the algorithm in two ethnic groups: Caucasians and Asians.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted from 2013 to 2018 years. We included patients with stable warfarin therapy. The study included 114 patients: 66 Caucasians and 48 Asians, 61 (53.51 %) men and 53 (46.49 %) women, mean age 60.91 ± 12.34 years. These patients were living in the Asian part of Russia (Irkutsk region and the Republic of Buryatia). They were diagnosed with: atrial fibrillation – 92 (80.7 %), coronary artery disease – 7 (6.14 %), arrhythmia – 3 (2.6 %), thrombosis in a patient's medical history – 8 (7.01 %), no data – 4 (3.5 %). We had accessed the data from medical history, which included: smoking – 21 (18.42 %), taking

amiodarone – 14 (12.28 %), and statins – 67 (58.77 %). Actual warfarin maintenance dose was defined as a stable dose for which the international normalized ratio (INR) measurements were within the therapeutic range (2–3) for the same mean daily dose during the last three clinic visits and is indicated as AWD in this study.

We excluded the patients if they had hepatic, thyroid (hypothyroidism or hyperthyroidism), renal diseases, decompensated heart failure, and patients taking warfarin interacting drugs, including Azoles and Trimethoprim-Sulfamethoxazole, because these drugs affected the metabolism of warfarin, and patients who did not comply with oral anticoagulant therapy (OAT).

Performance or percentage of compliance of the Gage algorithm was compared by calculating the percentage of patients, whose CWD was within 20 % of AWD, and mean absolute error (MAE). We defined MAE as the mean value of the difference between CWD and AWD. We chose the percentage of patients within 20 % of AWD (the percentage within 20 %), because a change in a warfarin dose greater than 20 % may be considered clinically significant, and this change was used in other studies [11, 12].

The study was approved by the local Research Ethics Committee of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, and all patients provided informed consent to participate in the study.

Four ml of venous blood were collected in EDTA tube from each participant and processed for genomic DNA extraction. The subjects were genotyped for CYP2C9 (*1, *2, *3), and CYP4F2 (1347 C>T) and VKORC1 (1639 G>A) by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) using Pharmacogenetics Warfarin reagent kits (DNA technology, Russia).

RESULTS

We calculated CWD for each patient using the Gage algorithm (Table 1). Results showed that the algorithm produced similar performance between CWD and AWD, observed in real clinical practice, and in two ethnic groups taking warfarin. We discovered that Asian patients had mean AWD = 3.58 ± 1.5 and, when compared with mean CWD = 3.76 ± 1.08 , we found no significant differences ($p = 0.502$). Mean AWD of the Caucasian patients was 4.02 ± 1.9 , so we did not find significant differences by comparing it with mean CWD = 4.56 ± 1.49 ($p = 0.072$).

Table 1

Performance of the Gage dosing algorithm in two ethnic groups (Caucasians and Asians) of the Russian population

	Daily warfarin dose (mean AWD \pm SD)	Daily warfarin dose (mean CWD \pm SD*)	MAE (mg/day) \pm SE**	Within 20 %
All (n = 114)	3.8 \pm 1.75	4.22 \pm 1.38	1.25 \pm 0.12	42.2 %
Asians (n = 48)	3.58 \pm 1.5	3.76 \pm 1.08	1.02 \pm 0.16	39.58 %
Caucasians (n = 66)	4.02 \pm 1.9	4.56 \pm 1.49	1.33 \pm 0.16	40.9 %

Note. *SD – Standard deviation, **SE – Standard error

The stable therapeutic dose was predicted with similar accuracy for two ethnic groups with MAE = 1.33 mg/day (SE = 0.16) in our Caucasian cohort and with MAE = 1.02 mg/day (SE = 0.16) in the Asian one ($p = 0.184$). We calculated the percentage of patients, AWD of who did not differ from CWD by more or less 20 % in the Caucasian cohort (40.9 %) and similarly in the Asian cohort (39.58 %), ($p = 0.959$). Comparison of the pharmacogenetic warfarin dosing using the Gage algorithm in two ethnic groups (Caucasians and Asians) of the Russian population showed that population overall performance of the algorithm was similar.

DISCUSSION

The history of the use of oral anticoagulants has more than half a century. Their effectiveness in the prevention of cardioembolic stroke was confirmed by clinical studies. However, warfarin therapy has several limitations: a "narrow therapeutic window", unpredictability of the anticoagulant response, interactions between food and drugs, and the need for regular international normalized ratio (INR) monitoring to maintain the effectiveness and safety of treatment. All the above stated determined the search for optimization of warfarin anticoagulant therapy, including the development of algorithms for drug therapy. One of the widely used algorithms is the calculator, developed by Gage et al. of the University of Washington in 2008.

In this study, we assessed the predictive accuracy of the pharmacogenetic warfarin dosing using the Gage algorithm, in real clinical practice in patients, living in the Asian part of Russia. The results indicated that the percentage within 20 % in the general population was 42.2 %. No differences between doses were found in Caucasians and Asians (40.9 % and 39.58 % respectively, $p = 0.959$). Data from similar studies are variable. In previous study of E. Kropachyova et al., in 283 patients from the Russian population living in Moscow, Arkhangelsk, Vyatka, Nizhny Novgorod, Novosibirsk, St. Petersburg, Chelyabinsk, the percentage within 20 % was 57 % (we compared the percentage with our own study in the Caucasian population, $p = 0.011$) [13]. Results, comparable to our data, were demonstrated by the researchers Jaekyu Shin and Diana Cao of the Department of Clinical Pharmacy San Francisco – 53.1 % ($p = 0.071$) [12]. Studies, conducted in the Turkish population, showed that the percentage within 20 % was 29 %, and MAE = 2.25 (SE = 0.23), which was significantly different from our results ($p = 0.009$) [14]. In the Asian population, we found that percentage within 20 % was 39.58 %, which was comparable with the data of Shin et al., for a sample of Asian patients – 48.1 % ($p = 0.33$). The results indicated the low prognostic significance of the Gage algorithm, possibly due to differentiation of functional significance of warfarin metabolizing genes and their involvement in the formation of phenotypes in different racial, ethnic and territorial populations.

CONCLUSIONS

The Gage algorithm was based on a mixed population and therefore we did not get the predictive accuracy of significant differences in two ethnic groups (Caucasians and Asians) of the Russian population. In conclusion, despite performance limitation of the current warfarin pharmacogenetic dosing using the Gage algorithm, close INR monitoring is essential.

Conflict of interests

The authors report no conflicts of interest in this work.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баирова Т.А., Новикова Е.А., Белялов Ф.И., Щедреева Е.А., Иевлева К.Д., Калюжная О.В., и др. Распространённость полиморфизмов генов цитохромов P450-метаболизаторов варфарина в Восточной Сибири. *Acta biomedical scientifica*. 2018; 3(5): 39-48. doi:10.29413/ABS.2018-3.5.6
2. Lemesle G, Ducrocq G, Elbez Y, Van Belle E, Goto S, Cannon CP, et al. Vitamin K antagonists with or without long-term antiplatelet therapy in outpatients with stable coronary artery disease and atrial fibrillation: association with ischemic and bleeding events. *Clin. Cardiol*. 2017; 40(10): 932-939. doi: 10.1002/clc.22750
3. Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF, Nickerson DA, Eby CS, McLeod HL, et al. Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med*. 2005; 352(22): 2285-2293. doi: 10.1056/NEJMoa044503
4. Wadelius M, Pirmohamed M. Pharmacogenetics of warfarin: current stat and future challenges. *Pharmacogenomics J*. 2007; 7(2): 99-111. doi: 10.1038/sj.tpj.6500417
5. Loebstein R, Yonath H, Peleg D, Almog S, Rotenberg M, Lubetsky A, et al. Interindividual variability in sensitivity to warfarin – Nature or nurture? *Clin Pharmacol Ther*. 2001; 70(2): 159-164. doi: 10.1067/mcp.2001.117444
6. Ayesha BM, Abu Shaaban AS, Abed AA. Evaluation of CYP2C9- and VKORC1-based pharmacogenetic algorithm for warfarin dose in Gaza-Palestine. *Future Science OA*, 2018; 4(3): FSO276. doi:10.4155/fsoa-2017-0112
7. Rychkova LV, Bairova TA, Novikova EA, Sargaeva DS, Ievleva KD, Kalyuzhnaya OV, et al. Prediction of bleeding complications during warfarin intake. In: Poster Session 2. *European Journal of Preventive Cardiology*. 2018; 25 (2suppl): S72-S105. doi: 10.1177/2047487318786182
8. Higashi MK, Veenstra DL, Kondo LM, Wittkowsky AK, Srinouanprachanh SL, Farin FM, et al. Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. *JAMA*. 2002; 287(13): 1690-1698. doi:10.1001/jama.287.13.1690
9. Gage BF, Eby C, Johnson JA, Deych E, Rieder MJ, Ridker PM, et al. Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin. *Clin Pharmacol Ther*. 2008; 84(3): 326-331. doi: 10.1038/clpt.2008.10

10. Selim TE, Azzam HA, Ghoneim HR, Mohamed AA, ElWakeel H, Abu Bakr HM. Pharmacogenetic warfarin dosing algorithms: validity in Egyptian patients. *Acta Haematologica*. 2018; 139(4): 255-262. doi:10.1159/000486889

11. The International Warfarin Pharmacogenetics Consortium. Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data. *N Engl J Med*. 2009; 360: 753-764. doi: 10.1056/NEJMoa0809329

12. Shin J, Cao D. Comparison of warfarin pharmacogenetic dosing algorithms in a racially diverse large cohort. *Pharmacogenomics*. 2011; 12(1): 125-134. doi:10.2217/pgs.10.168

13. Кропачева Е.С. Фармакогенетика варфарина. Атеротромбоз. 2015; (1): 107-111. doi: 10.21518/2307-1109-2015-1-107-111

14. Karaca S, Bozkurt NC, Cesuroglu T, Karaca M, Bozkurt M, Eskioglu E, et al. International warfarin genotype-guided dosing algorithms in the Turkish population and their preventive effects on major and life-threatening hemorrhagic events. *Pharmacogenomics*. 2015; 16(10): 1109-1118. doi:10.2217/pgs.15.58

REFERENCES

1. Bairova TA., Novikova EA, Belyalov FI, Shchedreeva EA, levleva KD, Kalyuzhnaya OV, et al. Frequencies of polymorphisms in the cytochrome's P450 genes of warfarin transformation in a European population of Eastern Siberia. *Acta biomedical scientifica*. 2018; 3(5): 39-48. doi:10.29413/ABS.2018-3.5.6 (In Russ.)

2. Lemesle G, Ducrocq G, Elbez Y, Van Belle E, Goto S, Cannon CP, et al. Vitamin K antagonists with or without long-term antiplatelet therapy in outpatients with stable coronary artery disease and atrial fibrillation: association with ischemic and bleeding events. *Clin.Cardiol*. 2017; 40(10): 932-939. doi: 10.1002/clc.22750

3. Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF, Nickerson DA, Eby CS, McLeod HL, et al. Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med*. 2005; 352(22): 2285-2293. doi: 10.1056/NEJMoa044503

4. Wadelius M, Pirmohamed M. Pharmacogenetics of warfarin: current stat and future challenges. *Pharmacogenomics J*. 2007; 7(2): 99-111. doi: 10.1038/sj.tpj.6500417

5. Loebstein R, Yonath H, Peleg D, Almog S, Rotenberg M, Lubetsky A, et al. Interindividual variability in sensitivity to warfarin – Nature or nurture? *Clin Pharmacol Ther*. 2001; 70(2): 159-164. doi: 10.1067/mcp.2001.117444

6. Ayesh BM, Abu Shaaban AS, Abed AA. Evaluation of CYP2C9- and VKORC1-based pharmacogenetic algorithm for warfarin dose in Gaza-Palestine. *Future Science OA*, 2018; 4(3): FSO276. doi:10.4155/fsoa-2017-0112

7. Rychkova LV, Bairova TA, Novikova EA, Sargaeva DS, levleva KD, Kalyuzhnaya OV, et al. Prediction of bleeding complications during warfarin intake. In: Poster Session 2. *European Journal of Preventive Cardiology*. 2018; 25 (2suppl): S72-S105. doi: 10.1177/2047487318786182

8. Higashi MK, Veenstra DL, Kondo LM, Wittkowsky AK, Srinouanprachanh SL, Farin FM, et al. Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. *JAMA*. 2002; 287(13): 1690-1698. doi:10.1001/jama.287.13.1690

9. Gage BF, Eby C, Johnson JA, Deych E, Rieder MJ, Ridker PM, et al. Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin. *Clin Pharmacol Ther*. 2008; 84(3): 326-331. doi: 10.1038/clpt.2008.10

10. Selim TE, Azzam HA, Ghoneim HR, Mohamed AA, ElWakeel H, Abu Bakr HM. Pharmacogenetic warfarin dosing algorithms: validity in Egyptian patients. *Acta Haematologica*. 2018; 139(4): 255-262. doi:10.1159/000486889

11. The International Warfarin Pharmacogenetics Consortium. Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data. *N Engl J Med*. 2009; 360: 753-764. doi: 10.1056/NEJMoa0809329

12. Shin J, Cao D. Comparison of warfarin pharmacogenetic dosing algorithms in a racially diverse large cohort. *Pharmacogenomics*, 2011; 12(1): 125-134. doi:10.2217/pgs.10.168

13. Kropacheva ES. Pharmacogenetics of warfarine. Атеротромбоз. 2015; (1): 107-111. doi: 10.21518/2307-1109-2015-1-107-111 (In Russ.)

14. Karaca S, Bozkurt NC, Cesuroglu T, Karaca M, Bozkurt M, Eskioglu E, et al. International warfarin genotype-guided dosing algorithms in the Turkish population and their preventive effects on major and life-threatening hemorrhagic events. *Pharmacogenomics*. 2015; 16(10): 1109-1118. doi:10.2217/pgs.15.58

Сведения об авторах

Баирова Татьяна Ананьевна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории персонализированной медицины ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: tbairova38@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3704-830X>

Самбьялова Александра Юрьевна – младший научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: sambialova95@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5790-6282>

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, директор ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

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

Белялов Фарид Исмагильевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры геронтологии и гериатрии, руководитель Кардиоаритмологического центра Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования – филиала ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, <https://orcid.org/0000-0001-9131-6534>

Саргеева Дарима Сергеевна – врач Республиканской клинической больницы им. Н.А. Семашко, e-mail: darimaSargaeva@mail.ru

Щедреева Елена Анатольевна – врач ОГАУЗ «Городская клиническая больница № 10»

Игнатъева Татьяна Геннадьевна – врач-кардиолог ГБУЗ «Областной гериатрический центр»

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

Пустозеров Виктор Георгиевич – кандидат медицинских наук, главный врач ГБУЗ «Областной гериатрический центр», заведующий кафедры геронтологии и гериатрии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования – филиала ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: Dr.Pystozеров@bk.ru

Ковалева Ольга Анатольевна – врач ГБУЗ «Областной гериатрический центр»

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

Носкова Инетта Александровна – врач ОГБУЗ «Иркутская городская поликлиника № 4»

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

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

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

Колесников Сергей Иванович – академик РАН, заместитель главного учёного секретаря Президиума РАН, профессор МГУ им. М.В. Ломоносова, e-mail: Sikolesnikov2012@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2124-6328>

Information about the authors

Tatiana A. Bairova – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: tbairova38@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3704-830X>

Alexandra Yu. Sambyalova – Junior Research Officer at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: sambialova95@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5790-6282>

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

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

Farid I. Belyalov – Dr. Sc. (Med.), Professor of the Department of Gerontology and Geriatrics, Head of Cardiac Center, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, <https://orcid.org/0000-0001-9131-6534>

Darima S. Sargaeva – Physician, Republican Clinical Hospital, e-mail: darimaSargaeva@mail.ru

Elena A. Shchedreva – Physician, City Clinical Hospital N 10

Tatyana G. Ignatyeva – Physician, Regional Geriatric Centre

Oksana A. Ershova – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: oksana111088@mail.ru

Viktor G. Pustozarov – Cand. Sc. (Med.), Chief Physician of Regional Geriatrics Center; Head of the Department of Gerontology and Geriatrics, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: Dr.Pustozarov@bk.ru

Olga A. Kovaleva – Physician, Regional Geriatrics Center

Irina V. Rasputina – Physician, City Clinical Hospital N 10

Inetta A. Noskova – Physician, Irkutsk Municipal Polyclinic N 4

Tatyana V. Batogova – Physician, City Clinical Hospital N 10

Olga V. Kuznetsova – Physician, City Clinical Hospital N 10

Olga Yu. Bogoslova – Physician, City Clinical Hospital N 10

Sergei I. Kolesnikov – Academician of RAS, Deputy Chief Secretary of Russian Academy of Sciences Presidium, Professor of Lomonosov Moscow State University, e-mail: Sikolesnikov2012@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2124-6328>

Вклад авторов

Баирова Т.А. – формирование идеи, дизайна, организации исследования

Самбялова А.Ю. – статистическая обработка, написание статьи

Рычкова Л.В. – согласование статьи

Новикова Е.А. – подготовка обзора литературы

Белялов Ф.И. – участие в формировании дизайна

Саргаева Д.С. – набор пациентов

Щедреева Е.А. – набор пациентов

Игнатъева Т.Г. – набор пациентов;

Ершова О.А. – проведение лабораторных исследований

Пустозеров В.Г. – набор пациентов

Ковалева О.А. – проведение лабораторных исследований

Распутина И.В. – набор пациентов

Носкова И.А. – набор пациентов

Батогова Т.В. – набор пациентов

Кузнецова О.В. – набор пациентов

Богослова О.Ю. – набор пациентов

Колесников С.И. – формирование концепции направления исследования

Статья получена: 14.04.19. Статья принята: 05.06.19. Статья опубликована: 26.06.19.

Received: 14.04.19. Accepted: 05.06.19. Published: 26.06.19.

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.3.6

Оценка относительного риска внутриутробной инфекции плода при цитомегаловирусной инфекции на ранних сроках беременности

Петрова К.К.

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

Автор, ответственный за переписку: Петрова Ксения Константиновна, e-mail: mdpetrova@bk.ru

Резюме

Обоснование. В структуре перинатальной заболеваемости и смертности одно из первых мест занимает внутриутробная инфекция (ВУИ), распространённой причиной которой является цитомегаловирус (ЦМВ). В литературе отсутствует оценка относительного риска ВУИ плода у ЦМВ-серопозитивных женщин с обострением ЦМВ-инфекции в I триместре беременности или латентным её течением.

Цель исследования: рассчитать относительные риски ВУИ плода у беременных с обострением ЦМВ-инфекции в I триместре беременности.

Методы. Был проведён ретроспективный анализ 104 историй родов и обменных карт ЦМВ-серопозитивных женщин, из них 50 случаев с обострением ЦМВ-инфекции в I триместре беременности (основная группа) и 54 случая – с латентным течением заболевания (группа сравнения).

Результаты. Проведён сравнительный анализ ультразвуковых и морфологических маркеров ВУИ с оценкой рисков в зависимости от характера течения ЦМВ-инфекции в I триместре беременности. Выявлен высокий риск развития нарушений в плаценте, амниотической жидкости и плодных оболочек, плодово-плацентарного кровотока, кист сосудистых сплетений головного мозга плода и задержки роста плода, статистически значимый в группе беременных с обострением ЦМВ-инфекции в I триместре беременности.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что обострение ЦМВ-инфекции на ранних сроках беременности является фактором риска ВУИ плода.

Ключевые слова: цитомегаловирусная инфекция, беременность, внутриутробная инфекция плода, ультразвуковые исследования

Для цитирования: Петрова К.К. Оценка относительного риска внутриутробной инфекции плода при цитомегаловирусной инфекции на ранних сроках беременности. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 44-51. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.6

Relative Risk Assessment of Intrauterine Infection of the Fetus During Cytomegalovirus Infection in Early Pregnancy

Petrova K.K.

Far Eastern Scientific Centre of Physiology and Pathology of Respiration (ul. Kalinina 22, Blagoveshchensk 675000, Russian Federation)

Corresponding author: Ksenia K. Petrova, e-mail: mdpetrova@bk.ru

Abstract

Background. Intrauterine fetal infection (IUI), the common cause of which is the cytomegalovirus (CMV), occupies one of the first places in the structure of perinatal morbidity and mortality. There are no data on the relative risk assessment of IUI at the exacerbation of CMV infection and its deliquescent course in first trimester of pregnancy in the literature.

Aim: to calculate the relative risks of fetal IUI in pregnant women with exacerbation of CMV infection in the first trimester of pregnancy.

Methods. A retrospective review of the labor and delivery medical records and prenatal records of 104 CMV-seropositive women was carried out. Fifty of these women had an exacerbation of CMV infection in the first trimester of pregnancy – main group and 54 of them were with deliquescent course of the disease (comparison group).

Results. A comparative analysis of ultrasound and morphological markers of IUI with risk assessment depending on the course of CMV infection in the first trimester of pregnancy has been carried out. A high risk of placental structure abnormalities, as well as amniotic fluid and fetal membranes, fetal and placental blood flow pathology, onset of choroid plexus cyst and fetal growth restriction was found, with a statistically significant difference in the group of pregnant women with exacerbation of CMV infection in the first trimester of pregnancy.

Conclusion. The findings suggest that the exacerbation of CMV infection in early pregnancy is a risk factor for IUI.

Key words: cytomegalovirus infection, pregnancy, intrauterine fetal infection, ultrasound investigation

For citation: Petrova K.K. Relative risk assessment of intrauterine infection of the fetus during cytomegalovirus infection in early pregnancy. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 44-51. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.6

ОБОСНОВАНИЕ

Актуальной проблемой современной медицины является неуклонно возрастающее число внутриутробной инфекции (ВУИ) плода и новорождённого. Частота ВУИ варьирует от 2,0 до 58 %, достигая 70 % среди недоношенных детей. Среди причин перинатальной смертности ВУИ составляют до 45 %, занимая третье место [1–4]. Среди причин ВУИ одно из немаловажных мест занимает цитомегаловирус (ЦМВ), выявляемый у 0,2–3,0 % живорождённых [5–7]. В социально и экономически развитых странах врождённая ЦМВ-инфекция выявляется у 0,3–2,4 % всех новорождённых [8, 9]. Вертикальная передача ЦМВ инфекции является причиной развития наиболее тяжёлых её форм [10]. Так, среди негенетических причин нейросенсорной тугоухости врождённая ЦМВ-инфекция занимает первое место, а также является ведущей среди известных вирусных причин умственной отсталости [9]. Примерно у 10–15 % новорождённых врождённая ЦМВ-инфекция сопровождается клиническими симптомами, чаще это нейросенсорная тугоухость, увеличение размеров внутренних органов, внутричерепные кальцификаты и хориоретинит, вызванные прямым вирусным цитопатическим эффектом на плод [12].

Известно, что наиболее часто к развитию ВУИ плода приводит первичное инфицирование беременной ЦМВ (40–50 % случаев). Обострение же ЦМВ-инфекции приводит к поражению плода лишь в 0,2–5 % случаев [10, 11]. Но развитию ВУИ плода, кроме того, может способствовать и суперинфекция другим штаммом ЦМВ [10].

Особый интерес к беременным – носителям семейства герпес-вирусов – ЦМВ, обусловлен высокой распространённостью инфекции среди них: по неполным данным сероэпидемиологических исследований, антитела к ЦМВ присутствуют у 50–95 % женщин детородного возраста, а также тяжестью осложнений, возникающих при внутриутробном инфицировании плода [13, 14, 15]. Вследствие неспецифичности клинических проявлений ВУИ во время беременности, диагностика её представляет некоторые затруднения. Сочетание клинических и лабораторно-инструментальных методов значительно облегчает постановку верного диагноза [16]. Доступным является метод ультразвуковой диагностики, позволяющий выявить и оценить патологию как со стороны плода и его оболочек, так и плаценты. Кроме того, у беременных с высоким инфекционным индексом с помощью данного метода можно установить наличие нарушений кровообращения в системе «мать – плацента – плод» и определить их степень [16]. Вместе с тем, отсутствует оценка факторов риска ВУИ плода у ЦМВ-серопозитивных женщин с обострением ЦМВ-инфекции в I триместре беременности или латентным её течением.

Цель исследования – рассчитать относительные риски ВУИ плода у беременных с обострением ЦМВ-инфекции в I триместре беременности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Ретроспективное исследование.

Критерии соответствия

Критериями включения в исследование явились: хроническая ЦМВ-инфекция (обострение или её латентное течение), стойкая клиническая ремиссия герпесвирусной инфекции в I триместре беременности.

Критерии исключения из исследования: первичная ЦМВ-инфекция, обострение других воспалительных экстрагенитальных заболеваний, наличие инфекций, передающихся половым путём, возраст старше 27 лет, аномалии развития половых органов, гестационный сахарный диабет.

Клинический диагноз первичной ЦМВ-инфекции устанавливался по наличию в периферической крови антител класса IgM к ЦМВ, низкоавидных IgG (индекс авидности менее 50 %), а также ДНК ЦМВ, выявленной методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в крови и моче; обострение хронической ЦМВ-инфекции – по наличию IgM к ЦМВ, высокоавидных IgG (индекс авидности более 50 %). Обследование проведено в соответствии с Приказом Минздрава России от 01.11.2012 № 572н (ред. от 17.01.2014 г.) «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология» (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)».

Условия проведения

Все женщины в I триместре беременности были обследованы на наличие ЦМВ-инфекции в условиях ДНЦ ФПД. В последующем они были родоразрешены в срок в ГАУЗ АО «Амурская областная клиническая больница», где в дальнейшем проведено настоящее исследование.

Продолжительность исследования

Проведён анализ медицинской документации за 2015–2017 годы.

Описание медицинского вмешательства

Взятие крови для ПЦР у обследуемых проводили в стандартные вакуумные пробирки с коагулянтом в количестве 5 мл. Для серологических исследований использовали кровь, не содержащую коагулянты, также в количестве 5 мл. Забор буккального эпителия и содержимого цервикального канала производили стерильным тупфером в стандартные пластиковые пробирки с физиологическим раствором объёмом 0,5 мл.

Для оценки функционального состояния фетоплацентарной системы использовалось ультразвуковое исследование при сроке беременности 30–34 недели.

Морфофункциональное исследование последа производилось после срочного родоразрешения. Гистологическое исследование плаценты и плодных оболочек проводили на парафиновых препаратах, изготовленных по общепринятой методике с окрашиванием гематоксилином-эозином.

Исходы исследования

Основной исход исследования

В результате анализа обработки крови получены показатели уровня типоспецифических антител иммуноглобулинов (Ig) класса М и G к ЦМВ, низкоавидных антител IgG к ЦМВ (индекс авидности).

При исследовании крови, буккального эпителия и содержимого цервикального канала методом ПЦР получены данные о наличии ДНК ЦМВ.

При изучении проведённых ультразвуковых исследований выявлены нарушения структуры плаценты, околоплодных вод, а также патология со стороны плода. Допплерометрическим методом проведена оценка изменений маточно-плодово-плацентарного кровотока.

Вследствие анализа морфологического исследования плаценты получены данные о наличии изменений в его структуре.

Дополнительных исходов исследования нет. Осложнений у обследованных нет.

Анализ в подгруппах

В исследование включены истории родов (форма № 096/у) и обменные карты (форма № 111/у) 104 ЦМВ-серопозитивных женщин, которые, в соответствии с дизайном исследования, были разделены на две группы: основную (50 случаев) – с обострением ЦМВ-инфекции в I триместре беременности и группу сравнения (54 случая) – с латентным течением инфекции.

Методы регистрации исходов

Определение титра антител IgM и IgG к ЦМВ, авидности антител класса IgG к ЦМВ в сыворотке крови проводилось с помощью стандартных тест-систем ЗАО Вектор-Бест (Россия) методами иммуноферментного анализа. Выявление ДНК ЦМВ в биологическом материале проводили методом ПЦР на аппарате ДТ-96 с использованием наборов НПО «ДНК-технология» (Россия). Ультразвуковые исследования проводились на аппарате Mindray DC-8 (Китай) в 2D-режиме и режимах импульсного и цветного доплеровского картирования.

Этическая экспертиза

Наличие информированного согласия на участие в исследовании являлось обязательной процедурой при включении пациентов в одну из групп исследования. Обследование проводили с учётом требований Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных исследований с участием человека в качестве субъекта» с поправками 2013 г. и правилам клинической практики в РФ, утверждёнными приказом Министерства РФ № 200н от 1 апреля 2016 г. Работа одобрена комитетом по био-медицинской этике при ДНЦ ФПД (протокол № 133 от 18.02.2019 г.).

Статистический анализ

Статистический анализ и обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoftInc., США) с соблюдением общих рекомендаций для медицинских и биологических исследований. С целью проверки равенства средних значений в двух выборках использовали t-критерий Стьюдента. Для оценки равенства дисперсий между независимыми выборками применяли критерий Фишера. Различия считали достоверными при уровне значимости $p = 0,05$. Анализ различия частот в двух независимых исследуемых группах проводился с помощью критерия χ^2 Пирсона, при значении абсолютных частот в таблицах сопряжённости меньше 10, использовался критерий с поправкой χ^2 Йейтса. Анализ относительных рисков (ОР) проводился с помощью четырёхпольных таблиц сопряжённости с 95%-ным доверительным интервалом (ДИ). Показатель ОР сравнивался с 1 для определения характера связи фактора и исхода: ОР = 1 – исследуемый фактор не влияет на вероятность исхода (отсутствие связи между фактором и исходом); ОР > 1 – фактор повышает частоту исходов (прямая связь); ОР < 1 – фактор снижает вероятность исхода (обратная связь). Подсчёт 95% ДИ для частот и долей производился онлайн-калькулятором, предложенным порталом Vassar Stats: Web Site for Statistical Computation (<http://vassarstats.net/>). В случае если оба значения – и нижней, и верхней границ ДИ – находились по одну сторону от 1, не включая 1, то делался вывод о статистической значимости выявленной связи между фактором

и исходом с вероятностью ошибки $p < 0,05$. Если нижняя граница 95% ДИ меньше 1, а верхняя – больше, то делался вывод об отсутствии статистической значимости влияния фактора на частоту исхода независимо от величины показателя ОР ($p > 0,05$). Размер выборки предварительно не рассчитывался.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Участники исследования

Средний возраст беременных женщин в основной группе составил $25,7 \pm 0,4$ года, в группе сравнения – $26,2 \pm 0,5$ года ($p = 0,44$).

Основные результаты исследования

Проведён сравнительный анализ ультразвуковых и морфологических маркеров внутриутробной инфекции плода с оценкой рисков по величине χ^2 в зависимости от характера течения ЦМВ-инфекции в I триместре беременности. Выявлен высокий риск развития нарушений в плаценте, амниотической жидкости и плодных оболочках, маточно-плодово-плацентарного кровотока, кист сосудистых сплетений головного мозга плода и задержки роста плода (ЗРП) со статистически значимым различием χ^2 в группе беременных с обострением ЦМВ-инфекции в I триместре беременности (основная группа).

По результатам ультразвукового исследования плаценты (табл. 1) в основной группе выявлена значимая зависимость частоты структурной патологии от обострения ЦМВ инфекции в I триместре беременности ($\chi^2 = 7,993$, $p < 0,05$). Вероятность её возникновения в основной группе в 5,04 раза (ОР = 5,04; 95% ДИ: 1,539–16,503) выше, чем в группе сравнения. Зависимость частоты изменения объёма и качества околоплодных вод от обострения ЦМВ-инфекции в I триместре беременности также статистически значима ($\chi^2 = 6,321$, $p < 0,05$) и риск развития составил 3,78 (ОР = 3,78; 95% ДИ: 1,333–10,721).

Необходимо отметить, что при ультразвуковом исследовании плодов специфических УЗ-маркеров врождённой ЦМВ инфекции (гиперэхогенный кишечник, внутрипечёночные кальцинаты, плевральный выпот, асцит или анасарка) в обследуемых группах установлено не было. Статистически значимые различия при сравнении групп были выявлены в частоте развития кист сосудистых сплетений ($\chi^2 = 4,200$, $p < 0,05$) и ЗРП ($\chi^2 = 4,906$, $p < 0,05$) (табл. 2). Риск развития кист сосудистых сплетений в основной группе по сравнению с группой сравнения составил 4,86 (95% ДИ: 1,103–21,417), а ЗРП – 8,64 (95% ДИ: 1,120–66,646), что, несомненно, свидетельствует о высокой степени значимости выявленных различий в группе беременных с обострением ЦМВ-инфекции в I триместре беременности.

При оценке данных доплерометрии (табл. 3) была установлена значимая зависимость нарушений маточно-плодово-плацентарного кровотока от обострения ЦМВ-инфекции в I триместре беременности ($\chi^2 = 10,364$, $p < 0,05$). Риск развития нарушений в основной группе по сравнению с группой сравнения составил 2,88 (95% ДИ: 1,485–5,586).

При морфологическом исследовании плацент у женщин основной группы признаки воспаления выявлены в 11 (22%) случаях, в то время как в группе контроля лишь в 1 (1,9%). Зависимость развития воспаления последа в основной группе по сравнению с группой сравнения была

Таблица 1

Эхографические признаки, характеризующие состояние плаценты и околоплодных вод

Table 1

Sonographic signs characterizing the state of the placenta and amniotic fluid

Выявленное изменение	Основная группа (n = 50)	Контрольная группа (n = 54)	p (χ ²)
Увеличение толщины плаценты	8 (16 %)	2 (3,7 %)	0,074
Расширение межворсинчатого пространства	6 (12 %)	1 (1,9 %)	0,095
Сочетание признаков	2 (4 %)	нет	0,442
Всего выявленных нарушений со стороны структурной организации плаценты	14 (28 %)	3 (5,6 %)	0,005
Маловодие	7 (14 %)	2 (3,7 %)	0,130
Многоводие	3 (6 %)	1 (1,9 %)	0,597
Гиперэхогенные включения	4 (8 %)	1 (1,9 %)	0,315
Сочетание признаков	2 (4 %)	нет	0,442
Всего выявленных изменений стороны объёма и качества околоплодных вод	14 (28 %)	4 (7,4 %)	0,012

Примечание. p – значимость различий при сравнении женщин с обострением ЦМВ-инфекции и её латентным течением.

Таблица 2

Эхографические признаки, характеризующие состояние плода

Table 2

Sonographic signs characterizing the state of the fetus

Выявленное изменение	Основная группа (n = 50)	Контрольная группа (n = 54)	p (χ ²)
Кисты сосудистых сплетений головного мозга плода	9 (18 %)	2 (3,7 %)	0,041
Задержка роста плода I степени	7 (14 %)	1 (1,9 %)	0,058
Задержка роста плода II степени	1 (2 %)	нет	0,970
Всего выявленная задержка роста плода	8 (16 %)	1 (1,9 %)	0,027

Примечание. p – значимость различий при сравнении женщин с обострением ЦМВ-инфекции и её латентным течением.

Таблица 3

Показатели доплерометрии в исследуемых группах

Table 3

Doppler data in the studied groups

Выявленное изменение	Основная группа (n = 50)	Контрольная группа (n = 54)	p (χ ²)
Нарушение кровотока IA степени (нарушение маточно-плацентарного кровотока при сохранённом плодово-плацентарном кровотоке)	16 (32 %)	7 (13 %)	0,036
Нарушение кровотока IB степени (нарушение плодово-плацентарного кровотока при сохранённом маточно-плацентарном кровотоке)	7 (14 %)	2 (3,7 %)	0,130
Нарушение кровотока II степени (одновременное нарушение маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотока, не достигающие критических изменений (сохранён конечный диастолический кровоток))	1 (2 %)	нет	0,970
Всего выявлено нарушений маточно-плацентарно-плодового кровотока	24 (48 %)	9 (17 %)	0,002

Примечание. p – значимость различий при сравнении женщин с обострением ЦМВ-инфекции и её латентным течением.

статистически значима ($\chi^2 = 8,446$, $p < 0,05$). Вероятность возникновения воспаления в плаценте основной группы была в 11,88 раза (ОР = 11,88; 95% ДИ: 1,591–88,725) выше, чем в группе сравнения.

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме основного результата исследования

Оценка риска ВУИ плода у ЦМВ-серопозитивных женщин с обострением инфекции в I триместре беременности свидетельствует о высокой степени значимости выявленных различий по сравнению с латентным течением заболевания: на первом месте – признаки воспаления (ОР = 11,88; 95% ДИ: 1,591–88,725) и структурной патологии плаценты (ОР = 5,04; 95% ДИ: 1,539–16,503), на втором – ЗРП (ОР = 8,64; 95% ДИ: 1,120–66,646) и кисты сосудистых сплетений головного мозга плода (ОР = 4,86; 95% ДИ:

1,103–21,417), на третьем – нарушения объёма и качества околоплодных вод (ОР = 3,78; 95% ДИ: 1,333–10,721) и маточно-плацентарно-плодового кровотока (ОР = 2,88; 95% ДИ: 1,485–5,586).

Обсуждение основного результата исследования

На сегодняшний день в мировой литературе существует значительное количество исследований, посвящённых изучению ЦМВ-инфекции и её влияния на плод, но в большей их части изучается влияние первичного инфицирования, так как в 35–50 % случаев инфекция передаётся плоду [7, 10, 17]. Однако значительно чаще у ЦМВ-серопозитивных беременных встречается обострение заболевания в период беременности, хотя данные о частоте её проявления противоречивы: от 3 до 28 %. Некоторые авторы указывают, что выделение ЦМВ из вагинального секрета коррелирует со сроком беремен-

ности: от 1,5 % – в I триместре и до 13,5 % – к концу беременности [18]. Согласно имеющимся исследованиям, специфическими эхографическими маркерами ВУИ при первичном инфицировании женщины ЦМВ в период беременности являются вентрикуломегалия, внутрипечёночные кальцинаты, микроцефалия, «гиперэхогенный» кишечник, плевральный выпот, асцит или анасарка [17]. Ультразвуковые изменения, изученные нами, не являются специфичными только для ЦМВ-инфекции – в той или иной степени они характерны и для других инфекций [16, 19], но исследований, касающихся оценки факторов риска ВУИ плода при обострении ЦМВ-инфекции в ранние сроки беременности, в настоящий момент в литературе нет.

В ходе исследования было выявлено, что основным фактором риска ВУИ плода при обострении ЦМВ-инфекции в I триместре беременности является воспалительный процесс в плаценте, а также изменения её структурной организации. Плацента занимает ведущее место в поддержании здоровой беременности. Она предотвращает отторжение полуаллогенного эмбриона, осуществляет дыхательный газообмен, питание и перенос иммуноглобулинов, секрецию пептидов и стероидных гормонов [7]. Воспалительные изменения, выявленные в плаценте, приводят к развитию первичной плацентарной недостаточности с гипоксическим поражением плода и задержкой его роста вследствие нарушения трансплацентарной доставки кислорода и питательных веществ. Таким образом, среди факторов риска ВУИ при обострении ЦМВ-инфекции в I триместре беременности второе место занимают ЗРП и развитие кист сосудистых сплетений головного мозга плода. В исследовании Е.С. Бикметовой с соавторами [20] также было установлено, что наличие TORCH-инфекции у беременных женщин является фактором риска ЗРП (ОШ = 2,82 [ДИ 1,35–3,54]). А при обследовании новорождённых от матерей с герпес-вирусной инфекцией ЗРП была выявлена в 20,4 % случаев, при этом кисты сосудистых сплетений головного мозга встречались только у детей с подтверждённой в первые дни жизни герпетической инфекцией [21].

Воспаление в плаценте способствует проникновению возбудителей через гемато-плацентарный барьер, о чём может свидетельствовать изменение показателей доплерометрии. Ранее было выявлено, что обострение ЦМВ-инфекции в I триместре беременности приводит к росту сосудистого сопротивления в обеих маточных артериях [22], а её реактивация во II триместре, кроме того, ведёт к повышению сосудистого сопротивления и в артерии пуповины, что указывает на дальнейшее развитие плацентарной недостаточности [23]. В данном исследовании выявлено, что изменение маточно-плодово-плацентарного кровотока, наряду с признаками амнионита, также являются факторами риска ВУИ при обострении ЦМВ в ранние сроки беременности, но они менее значимы по сравнению с плацентитом.

Изменения маточно-плацентарно-плодового кровотока не являются специфичными лишь для ВУИ, но демонстрируют происходящие нарушения системы, обеспечивающей жизнедеятельность плода, а, следовательно, указывают на необходимость определения тактики наблюдения и лечения беременной женщины, а также на решение вопроса о сроках и методе родоразрешения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных данных можно заключить, что совокупностью факторов риска ВУИ при обострении ЦМВ-инфекции в I триместре беременности являются воспаление и нарушение структурной патологии плаценты, ЗРП, развитие кист сосудистых сплетений головного мозга плода, изменение околоплодных вод и маточно-плацентарно-плодового кровотока. Наиболее значимые из них – патология плаценты, ЗРП и развитие кист головного мозга плода.

Конфликт интересов

Автор данной статьи подтвердил отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

- Надеев А.П., Травин М.А., Дробинская А.Н., Карпов М.А., Телятникова Н.В., Жукова В.А. и др. Особенности инфицирования плаценты цитомегаловирусом и вирусом простого герпеса второго типа при доношенной беременности. *Journal of siberian medical sciences*. 2015; (3): 83.
- Техова И.Г., Дарьина М.Г., Мовчан К.Н., Хрустаева Н.М., Горелик Ю.В., Русакевич К.И. Спорные вопросы медико-статистического учета внутриутробных инфекций. *Журнал инфектологии*. 2014; 6(4): 69-72. doi: org/10.22625/2072-6732-2014-6-4-69-72
- Ткаченко А.К., Романова О.Н., Марочкина Е.М. К понятию «внутриутробное инфицирование и внутриутробная инфекция». *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2017; 1: 103-109.
- Послова Л.Ю. Клинико-эпидемиологическая и этиологическая характеристика внутриутробных инфекций. *Медицинский альманах*. 2016; 3: 26-31. doi: org/10.21145/2499-9954-2016-3-26-31
- Адиева А.А., Нисевич Л.Л., Гаджиева З.С., Цибилова А.С., Климова Р.Р., Талалаев А.Г., и др. Выявление маркеров вируса простого герпеса и цитомегаловируса в материалах аутопсии плодов и умерших новорождённых. *Детские инфекции*. 2009; (3): 16-22.
- Benard M, Straat K, Omarsdottir S, Leghmari K, Bertrand J, Davrinche C, et al. Human cytomegalovirus infection induces leukotriene B4 and 5-lipoxygenase expression in human placenta and umbilical vein endothelial cells. *Placenta*. 2014; 35(6): 345-350. doi: 10.1016/j.placenta.2014.03.022
- Tabata T, Pettit M, Zydek M, Fang-Hoover J, Larocque N, Tsuge M, et al. Human cytomegalovirus infection interferes with the maintenance and differentiation of trophoblast progenitor cells of the human placenta. *Journal of Virology*. 2015; 89(9): 5134-5147. doi: 10.1128/JVI.03674-14
- Халецкая О.В., Сулова М.А., Погодина А.С., Яцышина Е.Е. Состояние здоровья детей первого года жизни в зависимости от срока инфицирования цитомегаловирусом. *Медицинский альманах*. 2018; (3): 87-89. doi: org/10.21145/2499-9954-2018-3-87-89
- Carlson A, Norwitz ER, Stiller RJ. Cytomegalovirus infection in pregnancy: should all women be screened? *Rev Obstet Gynecol*. 2010 Fall; 3(4): 172-179. doi: 10.3909/riog0131
- Рюмин А.М., Соболевская О.Л., Собчак Д.М. Цитомегаловирус как возбудитель внутриутробной инфекции. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2017; (33): 89-94.
- Беляева Н.Р. Цитомегаловирусная инфекция и репродуктивное здоровье женщин. *Журнал акушерства*

и женских болезней. 2016; 65(4): 24-33. doi: 10.17816/JOWD65424-33

12. Scott GM, Chow SS, Craig ME, Pang CN, Hall B, Wilkins MR, et al. Cytomegalovirus infection during pregnancy with maternofetal transmission induces a proinflammatory cytokine bias in placenta and amniotic fluid. *J Infect Dis*. 2012; 205(8): 1305-1310. doi: 10.1093/infdis/jis186

13. Дорохова Л.Н. Состояние иммунитета и течение инфекционного процесса у беременных с недифференцированными формами дисплазии соединительной ткани, носителей семейства герпесвирусов. *Медицинская иммунология*. 2011; 13(2-3): 175-180. doi: 10.15789/1563-0625-2011-2-3-175-180

14. Луценко М.Т., Андриевская И.А., Довжикова И.В. Морфофункциональная характеристика формирования связи эмбриона с плацентой при обострении у беременной цитомегаловирусной инфекции. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2013; 50: 68-73.

15. Луценко М.Т., Андриевская И.А., Ишутина Н.А., Мироненко А.Г. Механизмы формирования гипоксии в период беременности и нарушение кровоснабжения плода при цитомегаловирусной инфекции. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2015; 70(1): 106-112. doi.org/10.15690/vramn.v70i1.1239

16. Никулин Л.А., Бойко Н.В., Поморцев А.В., Кулагина М.Г. Эхографические маркеры внутриутробной инфекции. *Современные проблемы науки и образования*. 2009; 5: 53-64.

17. Walker SP, Palma-Dias R, Wood EM, Shekleton P, Giles ML. Cytomegalovirus in pregnancy: to screen or not to screen. *BMC Pregnancy and Childbirth*. 2013; 13: 96. doi: 10.1186/1471-2393-13-96

18. Tagawa M., Moriuchi H. Epidemiology of congenital cytomegalovirus infection. *Nippon Rinsho*. 2006; 64(3): 455-459.

19. Летифов Г.М., Прометной Д.В., Давыдова Н.А., Рамазанова Н.В. Задержка внутриутробного развития плода (факторы риска, ближайшие и отдаленные последствия). Обзор литературы. *Практика педиатра*. 2016; 1: 18-22.

20. Бикметова Е.С., Тришкин А.Г., Артымук Н.В. Задержка роста плода. Частота, факторы риска. *Мать и дитя в Кузбассе*. 2012; S1: 27-31.

21. Санталова Г.В., Гасилина Е.С., Валеева Г.Р., Шарыпова М.А., Ефимова И.Л., и др. Оценка состояния здоровья детей, рождённых от герпес-инфицированных матерей. *Бюллетень медицинских интернет-конференций*. 2013; 3(1): 20.

22. Гориков И.Н. Изменение кровотока в маточных артериях и экоструктуры хориона при хронической цитомегаловирусной инфекции у женщин в I триместре беременности. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2013; 47: 77-81.

23. Гориков И.Н. Влияние хронической цитомегаловирусной инфекции у женщин во II триместре беременности на состояние их фетоплацентарной системы. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*. 2013; 50: 89-93.

24. Zhukovets IV, Leshchenko OYa, Atalyan AV. Diagnostic markers of primary infertility in women of reproductive age with hypothalamic dysfunction in the pubertal period. *International Journal of Biomedicine*. 2017; 7(3): 213-217. doi: 10.21103/Article7(3)_OA10

REFERENCES

1. Nadeev AP, Travin MA, Drobinskaya AN, Karpov MA, Telyatnikova NV, Zhukova VA, et al. Features of placenta

infection with cytomegalovirus and virus of herpes simplex of the second type at the full-term pregnancy. *Journal of Siberian medical sciences*. 2015; (3): 83 (In Russ.)

2. Tekhova IG, Dariina MG, Movchan KN, Khrustaleva NM, Gorelik YuV, Rusakevich KI. Controversial questions of medical statistical registration of congenital infections. *Zhurnal infektologii*. 2014; 6(4): 69-72. doi.org/10.22625/2072-6732-2014-6-4-69-72 (In Russ.)

3. Tkachenko AK, Romanova ON, Marochkina EM. To the concept of "intrauterine infection and fetal infection". *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2017; 1: 103-109. (In Russ.)

4. Poslova LY. Clinical, epidemiological and etiological characteristics of pre-natal infections. *Meditinskiy al'manakh*. 2016; (3): 26-31. (In Russ.) doi.org/10.21145/2499-9954-2016-3-26-31

5. Adieva AA, Nisevich LL, Gadzhieva ZS, Tsibizov AS, Klimova RR, Talalaev AG, et al. Detection if markers of herpes simplex virus and cytomegalovirus in fetus autopsy and deceased newborn children materials. *Detskie infektsii*. 2009; (3): 16-22. (In Russ.)

6. Benard M, Straat K, Omarsdottir S, Leghmari K, Bertrand J, Davrinche C, et al. Human cytomegalovirus infection induces leukotriene B4 and 5-lipoxygenase expression in human placenta and umbilical vein endothelial cells. *Placenta*. 2014; 35(6): 345-350. doi: 10.1016/j.placenta.2014.03.022

7. Tabata T, Petitt M, Zydek M, Fang-Hoover J, Larocque N, Tsuge M, et al. Human cytomegalovirus infection interferes with the maintenance and differentiation of trophoblast progenitor cells of the human placenta. *Journal of Virology*. 2015. 89(9): 5134-5147. doi: 10.1128/JVI.03674-14

8. Khaletskaya OV, Suslova MA, Pogodina AS, Yatsyshina E.E. The health status of the first year of life children depending on the duration of cytomegalovirus. *Meditinskiy al'manakh*. 2018; (3): 87-89. doi: 10.21145/2499-9954-2018-3-87-89 (In Russ.)

9. Carlson A, Norwitz ER, Stiller RJ. Cytomegalovirus infection in pregnancy: should all women be screened? *Rev Obstet Gynecol*. 2010; 3(4): 172-179. doi: 10.3909/riog0131

10. Ryumin AM, Sobolevskaya OL, Sobchak DM. Prenatal cytomegalovirus infection in fetus pathology. *Dal'nevostochnyy zhurnal infektionnoy patologii*. 2017; 33:89-94. (In Russ.)

11. Belyaeva NR. Cytomegalovirus infection and reproductive health of women. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney*. 2016; 65(4): 24-33. doi: 10.17816/JOWD65424-33 (In Russ.)

12. Scott GM, Chow SS, Craig ME, Pang CN, Hall B, Wilkins MR, et al. Cytomegalovirus infection during pregnancy with maternofetal transmission induces a proinflammatory cytokine bias in placenta and amniotic fluid. *J Infect Dis*. 2012; 205(8): 1305-1310. doi: 10.1093/infdis/jis186

13. Dorohova LN. Immunity and dynamics of infections in herpesvirus-carrying pregnant women with undifferentiated forms of connective tissue dysplasia herpes viruses. *Meditinskaya immunologiya*. 2011; 13(2-3): 175-180. (In Russ.) doi.org/10.15789/1563-0625-2011-2-3-175-180

14. Lutsenko MT, Andrievskaya IA, Dovzhikova IV. Morphofunctional characteristic of the formation of the connection of the embryo with the placenta during exacerbation of a pregnant cytomegalovirus infection. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya*. 2013; 50: 68-73. (In Russ.)

15. Lutsenko MT, Andrievskaya IA, Ishutina NA, Mironenko AG. Mechanisms of hypoxia development during pregnancy and the disorder of fetus blood supply at cytomegalovirus infection. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2015; 70(1): 106-112. (In Russ.) doi: 10.15690/vramn.v70i1.1239
16. Nikulin LA, Boyko NV, Pomortsev AV, Kulagina MG. Echographic markers of intrauterine infection. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2009; 5: 53-64 (In Russ.)
17. Walker SP, Palma-Dias R, Wood EM, Shekleton P, Giles ML. Cytomegalovirus in pregnancy: to screen or not to screen. *BMC Pregnancy and Childbirth*. 2013; 13: 96. doi: 10.1186/1471-2393-13-96
18. Tagawa M., Moriuchi H. Epidemiology of congenital cytomegalovirus infection. *Nippon Rinsho*. 2006; 64(3): 455-459.
19. Letifov GM, Prometnoy DV, Davydova NA, Ramazanov N.V. Intrauterine growth restriction (risk factors, immediate and long-term effects). Literature review. *Praktika pediatria*. 2016; 1: 18-22. (In Russ.)
20. Bikmetova ES, Trishkin AG, Artymuk NY. The frequency and risk factors for intrauterine growth restriction. *Mat' i ditya v Kuzbasse*. 2012; S1: 27-31. (In Russ.)
21. Santalova GV, Gasilina ES, Valeyeva GR, Sharypova MA, Efimova IL, et al. Assessment of the health status of children born to herpes-infected mothers. *Byulleten' meditsinskikh internet-konferentsiy*. 2013; 3(1): 20. (In Russ.)
22. Gorikov IN. Change of blood flow in uterine arteries and chorion echostructure at chronic cytomegalovirus infection in women in the first trimester of pregnancy. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya*. 2013; 47: 77-81. (In Russ.)
23. Gorikov IN. The influence of chronic cytomegalovirus infection in women in the second trimester of pregnancy on the state of their fetoplacental system. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya*. 2013; 50: 89-93. (In Russ.)
24. Zhukovets IV, Leshchenko OYa, Atalyan AV. Diagnostic markers of primary infertility in women of reproductive age with hypothalamic dysfunction in the pubertal period. *International Journal of Biomedicine*. 2017; 7(3): 213-217. doi: 10.21103/Article7(3)_OA10

Сведения об авторе

Петрова Ксения Константиновна – аспирант, лаборатория механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях лёгких, Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, e-mail: MDPetrova@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6763-9744>

Information about the author

Ksenia K. Petrova – Postgraduate, Laboratory of the Mechanisms of Aetiopathogenesis and Reconstructive Processes of the Respiratory System in Non-Specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Respiratory Physiology and Pathology of respiration, e-mail: MDPetrova@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6763-9744>

Статья получена: 22.02.2019. Статья принята: 29.04.2019. Статья опубликована: 26.06.2019.
Received: 22.02.2019. Accepted: 29.04.2019. Published: 26.06.2019.

ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ OCCUPATIONAL DISEASES

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.3.7

Разработка новой медицинской технологии прогнозирования риска развития ишемической болезни сердца у работников основных профессий угольной промышленности

Панев Н.И., Филимонов С.Н., Коротенко О.Ю., Панев Р.Н., Панева Н.Я.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний» (654041, г. Новокузнецк, ул. Кутузова, 23, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Коротенко Ольга Юрьевна, e-mail: olgakorotenko@yandex.ru

Резюме

Обоснование. Ишемическая болезнь сердца является основной причиной смерти в большинстве развитых стран, в том числе в России. Это обуславливает значимость разработки индивидуального прогнозирования риска развития ишемической болезни сердца для проведения первичной профилактики.

Цель: на основе определения наиболее значимых маркеров риска разработать методику прогнозирования вероятности формирования ишемической болезни сердца у работников угольной промышленности.

Материалы и методы. Частота ишемической болезни сердца и её факторов риска изучена у 196 работников угольных шахт (проходчиков, горнорабочих очистного забоя). Для выявления стенокардии использовали опросник Роуза, суточное мониторирование ЭКГ и велоэргометрию. Изучены показатели липидного обмена, системы гемостаза, уровень гомоцистеина, мочевой кислоты, С-реактивного белка, конституционно-морфологический тип по Рису – Айзенку, генетические маркеры групп крови систем АВ0, Р и MN. При разработке прогностической системы нами применялся метод Байеса. Для каждого фактора вычисляли прогностический коэффициент. Прогнозирование вероятности развития ишемической болезни сердца осуществляли по значению суммы прогностических коэффициентов.

Результаты. Ишемическая болезнь сердца выявлена у 18 (9,2 %) шахтёров. На основе оценки вышеуказанных показателей разработана медицинская технология прогнозирования вероятности развития ишемической болезни сердца, основанная на определении наиболее значимых маркеров риска: возраста, стажа работы во вредных условиях труда, наличия коронарного типа личности, артериальной гипертензии, гипергликемии натощак, метаболического синдрома, гиперхолестеринемии, снижения уровня холестерина липопротеидов высокой плотности, повышения значения холестерина липопротеидов низкой плотности, наличия гипертриглицеридемии, гиперурикемии, гипергомоцистеинемии, гиперфибриногенемии, повышения уровня растворимых фибрин-мономерных комплексов и С-реактивного белка, наличие абдоминального ожирения, гиперстенического конституционно-морфологического типа по Рису – Айзенку, генетических маркеров групп крови систем АВ0, Р и MN.

Заключение. На основе определения наиболее значимых маркеров разработана персонализированная система прогнозирования ишемической болезни сердца у шахтёров, позволяющая своевременно назначать и проводить лечебно-профилактические мероприятия.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, прогнозирование, угольная промышленность

Для цитирования: Панев Н.И., Филимонов С.Н., Коротенко О.Ю., Панев Р.Н., Панева Н.Я. Разработка новой медицинской технологии прогнозирования риска развития ишемической болезни сердца у работников основных профессий угольной промышленности. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 52-57. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.7

Elaboration of New Medical Technology for Predicting the Risk of Ischemic Heart Disease in the Workers of the Coal Industry

Panev N.I., Filimonov S.N., Korotenko O.Yu., Panev R.N., Paneva N.Ya.

Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases (ul. Kutuzova 23, Novokuznetsk 654041, Russian Federation)

Corresponding author: Olga Yu. Korotenko, e-mail: olgakorotenko@yandex.ru

Abstract

Background. Ischemic heart disease is the leading cause of death in the majority of developed countries, including Russia. It determines the importance of elaboration of individual risk prediction of ischemic heart disease for primary prevention.

Aim: to develop a strategy for predicting the ischemic heart disease in coal industry workers.

Materials and methods. Ischemic heart disease incidence and its risk factors were studied in 196 coalmine workers (sinkers, stope miners). Rose Questionnaire, daily ECG monitoring and bicycle ergometry were used to detect angina.

The indices of lipid metabolism, hemostatic system, the level of homocysteine, uric acid, C-reactive protein, constitutional-morphological type by Rees – Eysenck, genetic markers of blood groups of AB0, P and MN systems were studied. When elaborating the prognostic system, we used the Bayes method. A prognostic coefficient was calculated for each factor. Prediction of ischemic heart disease was carried out according to the sum of prognostic coefficients.

Results. Ischemic heart disease was detected in 18 (9.2 %) miners. According to the above mentioned indices, a medical technology was elaborated to predict the ischemic heart disease, based on the determination of the most significant risk markers: age, work experience in harmful working conditions, type A behavior, arterial hypertension, fasting hyperglycemia, metabolic syndrome, hypercholesterolemia, decrease in the level of high density lipoprotein cholesterol, increase in the value of low density lipoprotein cholesterol, hypertriglyceridemia, hyperhomocysteinemia, hyperfibrinogenemia, increase in the level of soluble fibrin monomer complexes and C-reactive protein, abdominal obesity, hypersthenic constitutional-morphological type by Rees – Eysenck, genetic markers of blood groups of AB0, P and MN systems.

Conclusion. Based on the most significant markers, a personalized strategy for ischemic heart disease prediction in miners was elaborated, which allowed timely undertaking therapeutic and preventive measures.

Key words: ischemic heart disease, prediction, the coal industry

For citation: Panev N.I., Filimonov S.N., Korotenko O.Yu., Panev R.N., Paneva N.Ya. Elaboration of new medical technology for predicting the risk of ischemic heart disease in the workers of the coal industry. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 52-57. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.7

ОБОСНОВАНИЕ

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) является основной причиной смерти в большинстве развитых стран, причём в Российской Федерации смертность трудоспособного населения от сердечно-сосудистых заболеваний в 4,5 раза превышает аналогичный показатель по Евросоюзу. Клинико-эпидемиологические исследования более 3000 работников угольных шахт различных регионов РФ выявили значительную распространённость сердечно-сосудистой патологии (ИБС и артериальной гипертензии (АГ)) – более 60 %. Отмечено, что число смертельных осложнений от заболеваний сердечно-сосудистой системы у подземных горнорабочих достоверно выше по сравнению с работниками вспомогательных служб [1].

В основе профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, и, в частности, ишемической болезни сердца, лежит концепция коррекции факторов риска, изучению и возможностям воздействия на которые уделяется во всём мире первостепенное внимание. Вместе с тем принятые в настоящее время подходы к индивидуальному прогнозированию сердечно-сосудистых заболеваний, основанные на анализе традиционных факторов риска и расчёте «суммарного риска» по шкалам, не всегда эффективны [2].

Задача разрабатываемой медицинской технологии – повысить точность прогнозирования ИБС путём увеличения количества анализируемых факторов за счёт высокочувствительных маркеров, имеющих прогностическое значение для оценки риска развития ИБС у работников угольной промышленности.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

На основе определения наиболее значимых маркеров риска разработать методику прогнозирования вероятности формирования ИБС у работников угольной промышленности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для разработки прогностической системы нами изучены частота ИБС и её факторов риска у 196 работников угольных шахт юга Кузбасса (проходчиков, горнорабочих очистного забоя), длительно (более 15 лет) работающих во вредных условиях труда и не имеющих профессиональных заболеваний. Все обследованные мужчины от 40 до 54 лет, средний возраст – $47,3 \pm 0,4$ года.

Для выявления стенокардии использовали опросник Роуза, суточное мониторирование ЭКГ и велоэргоме-

трию. Перенесённый инфаркт миокарда устанавливался на основании выписок из истории болезни, данных ЭКГ и эхокардиографии.

Всем обследованным были проведены клинико-биохимические исследования, в том числе изучены показатели липидного обмена, уровень фибриногена, растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК), мочевой кислоты, гомоцистеина, проведён высокочувствительный анализ концентрации С-реактивного белка (СРБ). АГ считали повышение артериального давления до 140/90 мм рт. ст. и более (при двукратном измерении). Определяли «коронарный» тип личности по Фридману и Розенману. Гиперхолестеринемию считали при уровне общего холестерина сыворотки выше 5,0 ммоль/л, гиперХСЛПНП – при уровне холестерина липопротеидов низкой плотности (ХСЛПНП) выше 3,0 ммоль/л, гипоХСЛПВП – при уровне холестерина липопротеидов высокой плотности (ХСЛПВП) ниже 1,0 ммоль/л, гипертриглицеридемию – при уровне триглицеридов выше 1,7 ммоль/л, гипергомоцистеинемию – при уровне гомоцистеина выше 15 мкмоль/л, гиперфибриногемиию – при уровне фибриногена выше 4,0 г/л, повышение уровня РФМК – при уровне выше 4,0 мг/дл, гиперурикемию – при уровне мочевой кислоты выше 0,42 ммоль/л, повышение уровня СРБ – при уровне выше 3,0. Конституционно-морфологический тип (КМТ) оценивали по методам Риса – Айзенка и Тэннера в модификации Б.А. Никитюка и Н.А. Корнетова (1998). Устанавливался абдоминальный тип ожирения при отношении окружности талии к окружности бёдер (ОТ/ОБ) более 0,9. Группы крови систем АВ0, MN и P определялись стандартным методом агглютинации с использованием ЭРИТРОТЕСТ™-ЦОЛИКЛОНов производства ООО «Гематолог» (Москва).

При разработке прогностической системы нами применялся метод Байеса для независимых признаков с последовательным анализом Вальда, заключающийся в определении прогностических коэффициентов (ПК) по формуле: $ПК = 10 \lg (P_1/P_2)$, где P_1 – частота (в процентах) изучаемого признака у рабочих, имеющих ИБС; P_2 – его частота у рабочих без ИБС с последующей коррекцией с помощью поправочного коэффициента. ПК с положительным значением увеличивает риск возникновения ИБС, с отрицательным – уменьшает, при этом информативность ПК возрастает с увеличением его абсолютного значения.

Обследование пациентов соответствовало этическим стандартам биоэтического комитета ФГБНУ «Науч-

но-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний» (НИИ КППГЗ), разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2013 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утверждёнными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г. Протокол № 5 от 8 ноября 2018 г. Все обследованные лица дали информированное согласие на участие в исследовании.

РЕЗУЛЬТАТЫ

ИБС была выявлена у 18 (9,2 %) обследованных шахтёров, из них: 12 человек (6,1 %) страдали стенокардией напряжения I и II функционального класса, у 1 человека (0,5 %) выявлена постоянная форма фибрилляции предсердий ишемического генеза, у 5 человек (2,6 %) диагностирована безболевого ишемия миокарда.

Вычислены прогностические коэффициенты каждого фактора. Ряд признаков, изученных у рабочих, оказался неинформативным (ПК = 0). Все значимые факторы приведены в таблице 1.

Выявлено, что наиболее значимыми факторами риска развития ИБС у работников угольной промышленности являются: возраст 50 лет и старше, стаж работы во вредных условиях труда 20 лет и больше, наличие коронарного типа личности, артериальной гипертензии, гипергликемии натощак, метаболического синдрома, гиперхолестеринемии, повышение уровня ХСЛПНП, снижение уровня ХСЛПВП, наличие гипертриглицеридемии, гипергомоцистеинемии, гиперфибриногенемии, повышение уровня РФМК, С-реактивного белка, гиперурикемии, абдоминальный тип ожирения, гиперстенический КМТ по Риску – Айзенку, маркеры групп крови O (I), P (-) и MN.

Оценка риска развития ИБС осуществляется следующим образом: обследование проводится однократно, определяют 20 маркеров по указанным выше методикам, данные анализируются с помощью таблицы. Работа с таблицей состоит в сложении всех ПК с учётом знака, при значении суммы больше +6 прогнозируется высокий риск развития ИБС для конкретного человека, при сумме меньше -6 баллов степень риска незначительна. При промежуточных значениях прогноз не определён.

Приводим примеры использования данной прогностической системы в практике работы профпатологического отделения № 3 клиники НИИ КППГЗ.

1. Шахтёр Т., 50 лет, проходчик, стаж работы во вредных условиях труда 28 лет, обследован в клинике как высокостажированный работник. Профессиональной патологии (пылевой патологии лёгких и вибрационной болезни) не было выявлено. Продолжает работать, клиники стенокардии нет. Коронарного типа личности нет. АГ, гипергликемии, метаболического синдрома нет, липидный обмен, уровень гомоцистеина, СРБ, фибриногена, РФМК, мочевой кислоты – в норме. ОТ/ОБ = 0,8. Нормостеник, группы крови B (III), P (+), NN. Сумма ПК составила +2+1-1-1+0-1-4-2-1-1-1-1-2+0-2+0-1-2+0 = -18 баллов, что значительно меньше -6 баллов. Следовательно, Т. является устойчивым к возникновению ИБС. Проведённое в клинике НИИ КППГЗ обследование Т. с использованием ЭКГ, эхокардиографии, велоэргометрии, холтеровского мониторирования ЭКГ не выявило признаков ИБС.

2. Шахтёр Б., 49 лет, работает проходчиком, стаж работы во вредных условиях труда 24 года, обследован в клинике как высокостажированный работник, профессиональной патологии не выявлено. Последние 6 месяцев отмечается появление приступов загрудинных болей (стенокардии) при быстрой ходьбе, проходящие в покое через 5 минут. Проведённое обследование показало, что коронарного типа личности, АГ, гипергликемии, метаболического синдрома нет. Были выявлены: гиперхолестеринемия и повышение уровня ХСЛПНП, снижение уровня ХСЛПВП, гипертриглицеридемия, гипергомоцистеинемия, гиперфибриногенемия, повышение уровня РФМК и СРБ, гиперурикемии нет. Абдоминальное ожирение (индекс ОТ/ОБ – 1,0). Нормостеник, группы крови A (II), P (-), MN.

Сумма ПК, согласно последовательности, приведённой в таблице: -2+1-1-1+0-1+1+1+3+2+6+2+7+3+0+3+0+0+2+2=+28 баллов. Поскольку она значительно выше +6 баллов, для данного шахтёра существует высокий риск развития ИБС. Проведённая велоэргометрия подтвердила диагноз стенокардии II функционального класса. Рекомендовано обследование у кардиохирурга с проведением коронарографии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Атеросклероз является полиэтиологическим заболеванием, в возникновении и прогрессировании которого имеют значение многие внешние и внутренние факторы, называемые факторами риска. Ключевым звеном профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, особенно на доклинической стадии, является выявление информативных факторов риска с разработкой прогноза вероятности развития атеросклероза различной локализации и назначение нуждающимся своевременных лечебно-профилактических мероприятий.

Назначение данной технологии: повысить точность прогнозирования ИБС путём увеличения количества анализируемых факторов и использования более значимых маркеров.

В литературе описаны несколько способов прогнозирования развития ИБС и коронарного атеросклероза.

Известен способ диагностики и прогнозирования ишемической болезни сердца путём исследования сыровотки крови и определения общего холестерина, триглицеридов, ХСЛПНП, ХСЛПВП, индекса атерогенности, фенотипирования дислипидемии (ДЛП), оценке наличия инфаркта миокарда у родителей, определения индекса Кетле, измерения артериального давления с последующим расчётом прогностического индекса, на основании которого прогнозируют возможность возникновения у пациента острого коронарного эпизода ИБС в ближайшие 5 лет [3].

Недостатком этого способа является отсутствие учёта ряда факторов риска развития ИБС (возраста, наличие артериальной гипертензии, абдоминального ожирения, коронарного типа личности, метаболического синдрома, гипергомоцистеинемии, повышение уровня С-реактивного белка, гиперурикемии, нарушений в системе гемостаза, генетических маркеров), имеющих, по современным представлениям, важное значение в развитии ИБС.

Имеется способ прогнозирования риска субклинического коронарного атеросклероза у больных с

Прогнозирование вероятности развития ишемической болезни сердца у шахтёров

Таблица 1

Prediction of ischemic heart disease in miners

Table 1

Фактор	Значение	P ₁ (%)	P ₂ (%)	ПК
Возраст	До 50 лет	44,4	65,2	–2
	50 лет и старше	55,6	34,8	+2
Стаж работы во вредных условиях труда	До 20 лет	16,7	32,0	–3
	20 лет и больше	83,3	68,0	+1
Коронарный тип личности	Есть	33,3	19,1	+2
	Нет	66,7	80,9	–1
Артериальная гипертензия	Есть	33,3	24,7	+1
	Нет	66,7	75,3	–1
Гипергликемия натощак	Есть	16,7	7,9	+3
	Нет	83,3	92,1	+0
Метаболический синдром	Есть	16,7	3,9	+6
	Нет	83,3	96,1	–1
Гиперхолестеринемия	Есть	83,3	61,2	+1
	Нет	16,7	38,8	–4
ГиперХСЛПНП	Есть	83,3	71,3	+1
	Нет	16,7	28,7	–2
ГипоХСЛПВП	Есть	38,9	20,2	+3
	Нет	61,1	79,8	–1
Гипертриглицеридемия	Есть	33,3	21,4	+2
	Нет	66,7	78,7	–1
Гипергомоцистеинемия	Есть	22,2	5,1	+6
	Нет	77,8	94,9	–1
Гиперфибриногенемия	Фибриноген выше 4,0 г/л	33,3	19,1	+2
	Фибриноген равен или ниже 4,0 г/л	66,7	80,9	–1
РФМК	Выше 4 мг/дл	27,8	6,2	+7
	Равно или ниже 4 мг/дл	72,2	93,8	–1
С-реактивный белок	Выше 3,0 мг/л	55,6	29,8	+3
	Равен или ниже 3,0 мг/л	44,4	70,2	–2
Гиперурикемия	Есть	16,7	6,2	+4
	Нет	83,3	93,8	+0
Индекс ОТ/ОБ	Более 0,9	61,1	32,0	+3
	Равен или ниже 0,9	38,9	68,0	–2
Конституционально-морфологический тип по Рису – Айзенку	Гиперстеник	55,6	49,4	+1
	Нормостеник	33,3	32,6	+0
	Астеник	11,1	18,0	–2
Группа крови АВ0	0 (I)	44,4	33,7	+1
	A (II)	27,8	30,9	+0
	B (III)	22,2	29,2	–1
	AB (IV)	5,6	6,2	+0
Группа крови Р	Р (+)	33,3	55,1	–2
	Р (–)	66,7	44,9	+2
Группа крови MN	MM	38,9	52,8	–1
	MN	44,4	31,5	+2
	NN	16,7	15,7	+0

ожирением на основе шкалы оценки факторов риска (наличие артериальной гипертензии, углеводных нарушений, триглицеридов, лептина, адипонектина и С-реактивного белка), но при данном способе не учитывается важный фактор риска – наследственная предрасположенность [4].

Разработан способ прогнозирования риска коронарного атеросклероза на основе анализа ассоциаций генетического полиморфизма ферментов [5].

Однако генетические факторы риска мультифакториальных заболеваний являются лишь предрасполагающими. В данной работе не учитываются другие факторы риска развития атеросклероза, способствующие реализации наследственной предрасположенности к развитию атеросклероза.

Имеется способ прогнозирования вероятности развития атеросклероза у шахтёров с антракосиликозом, основанный на определении возраста, конституционно-морфологического типа по Рису – Айзенку и Теннеру, отношения окружности талии к окружности бёдер, наличия или отсутствия артериальной гипертензии, сахарного диабета, отягощённой наследственности по ишемической болезни сердца, табакокурения, метаболического синдрома, дыхательной недостаточности, гиперхолестеринемии, повышения уровня холестерина липопротеидов низкой плотности, снижения уровня холестерина липопротеидов высокой плотности, повышения коэффициента атерогенности, наличия гипертриглицеридемии, гипергомоцистеинемии, гиперфибриногенемии, повышения уровня С-реактивного белка, исследовании генетических маркеров групп крови систем АВ0, резус, MN [6].

Но данный способ разработан для прогнозирования атеросклероза у шахтёров, страдающих антракосиликозом, и его недостатком является отсутствие возможности прогнозирования риска у шахтёров без профессиональной патологии. Главным преимуществом новой медицинской технологии является то, что она может использоваться для индивидуального прогнозирования ИБС у работников угольной промышленности без клинических проявлений каких-либо заболеваний, что является важным для проведения активной первичной профилактики.

Кроме того, в вышеуказанном способе прогнозирования не учтён стаж работы во вредных условиях труда, имеющий большое значение в развитии ИБС [7]. Не определялся уровень РФМК, играющих важную роль в развитии компенсированного внутрисосудистого свёртывания крови и способствующих развитию ИБС. Не проводилась оценка значимости гиперурикемии, которая, по современным представлениям, является важным фактором риска развития сердечно-сосудистой патологии, в том числе ИБС [8]. Не проводилась оценка значимости наличия коронарного типа личности – важного фактора риска развития ИБС. Не определялись антигены группы крови системы R, которые могут быть прогностическим фактором предрасположенности к развитию коронарного атеросклероза.

Таким образом, разработанная нами медицинская технология позволяет получить новый эффект, заключающийся в возможности повышения эффективности прогнозирования ИБС у работников угольной промышленности. При оценке состояния здоровья работников основных профессий угольной промышленности, можно с помощью предложенного нами способа прогнози-

рования быстро выделить группу лиц с высоким риском развития ИБС с целью проведения у них активных лечебно-профилактических мероприятий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на усовершенствование методов диагностики и лечения, огромных финансовых затрат, направленных на профилактику, ишемическая болезнь сердца по-прежнему остаётся наиболее частой причиной смерти людей во многих странах мира. Своевременное прогнозирование риска развития ИБС с разработкой эффективных методов профилактики является наиболее важной задачей профилактической медицины для сохранения здоровья и качества жизни работающего населения.

На основе определения наиболее значимых факторов риска нами разработана персонализированная система прогнозирования, позволяющая быстро выделить группу работников основных профессий угольной промышленности с высоким риском развития ИБС, чтобы своевременно проводить лечебно-профилактические мероприятия.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Измеров Н.Ф. (ред.) *Профессиональная патология: национальное руководство*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2011.
2. Берштейн Л.Л., Катамадзе Н.О., Лазнам С.С., Гришкин Ю.Н. Индивидуальное прогнозирование риска развития ишемической болезни сердца в рамках первичной профилактики. *Кардиология*. 2012; 52(10): 65-74.
3. Воробьева Е.Н. *Способ диагностики и прогнозирования течения ишемической болезни сердца*. № 2173853 (Патент РФ) 2001.
4. Веселовская Н.Г., Чумакова Г.А., Гриценко О.В., Отт А.В., Шенкова Н.Н. Шкала риска коронарного атеросклероза у пациентов с ожирением. *Современные проблемы науки и образования*. 2014; (2): 329.
5. Марусин А.В., Степанов В.А., Спиридонова М.Г., Харьков В.А., Пельс Я.Р., Пузырев В.П. Анализ ассоциаций генетического полиморфизма ферментов, метаболизирующих этанол, с риском формирования коронарного атеросклероза. *Генетика*. 2007; 43(3): 409-416.
6. Панев Н.И., Коротенко О.Ю., Захаренков В.В., Филимонов С.Н., Гафаров Н.И., Лузина Ф.А. и др. *Способ прогнозирования вероятности развития атеросклероза у шахтёров с антракосиликозом*. № 2595086 (Патент РФ) 2016.
7. Свитлык Г.В., Сало В.М., Бубняк М.Р., Чыгрян Г.В., Гарбар М.О., Билуцак Г.И. Факторы риска развития ишемической болезни сердца. *Клиническая медицина*. 2013; 91(12): 26-30.
8. Сидоренко Б.А., Голикова А.А., Иосава И.К., Сергиенко И.В., Винокурова А.С. Гиперурикемия как фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний. *Кремлевская медицина. Клинический вестник*. 2015; (4): 135-138.

REFERENCES

1. Izmerov NF. (ed.) *Occupational pathology: national guidelines*. Moscow: GEOTAR-Media; 2011. (in Russ.)
2. Berstein LL, Katamadze NO, Laznam SS, Grishkin YuN. Individual coronary heart disease risk prediction as part of primary prevention. *Kardiologiya*. 2012; 52(10): 65-74. (in Russ.)

3. Vorobyeva EN. *Method for diagnosis and predicting the course of ischemic heart disease*. No 2173853 (Patent) 2001. (in Russ.)
4. Veselovskaya NG, Chumakova GA, Gritsenko OV, Ott AV, Shenkova NN. Scale of risk of coronary atherosclerosis in patients with obesity. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*. 2014; (2): 329. (in Russ.)
5. Marusin AV, Stepanov VA, Spiridonova MG, Kharkov VA, Pels JR, Puzyrev VP. Association analysis of alcohol metabolizing enzymes ADH1B, ADH7, CYP2E1 gene polymorphism with risk for coronary atherosclerosis. *Genetika*. 2007; 43(3): 409-416. (in Russ.)
6. Panev NI, Korotenko OYu, Zaxarenkov VV, Filimonov SN, Gafarov NI, Luzina FA, et al. *A method for predicting the probability of atherosclerosis in miners with anthracosilicosis*. No 2595086 (Patent). 2016 (in Russ.)
7. Svitlyk GV, Salo VM, Bubnyak MR, Chngryan GV, Garbar MO, Bilushchak GI. Risk factors of coronary heart disease. *Klinicheskaya medicina*. 2013; 91(12): 26-30. (in Russ.)
8. Sidorenko BA, Golikova AA, Iosava IK, Sergiyenko IV, Vinokurova AS. Hyperuricemia as a risk factor of cardiovascular diseases. *Kremlevskaya meditsina. Klinicheskiy vestnik*. 2015; (4): 135-138. (in Russ.)

Сведения об авторах

Панев Николай Иванович – кандидат медицинских наук, начальник отдела медицины труда ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний», e-mail: panevari@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5775-2615>

Коротенко Ольга Юрьевна – кандидат медицинских наук, заведующая отделением функциональной и ультразвуковой диагностики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний», e-mail: olgakorotenko@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7158-4988>

Филимонов Сергей Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний», e-mail: fsn42@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6816-6064>

Панев Роман Николаевич – младший научный сотрудник лаборатории охраны здоровья работающего населения ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний», e-mail: panevari@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7882-952X>

Панева Наталия Яковлевна – научный сотрудник лаборатории охраны здоровья работающего населения ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний», e-mail: panevari@gmail.com

Information about the authors

Nikolay I. Panev – Cand. Sc. (Med.), Head of the Occupational Medicine Department of Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, e-mail: panevari@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5775-2615>

Olga Yu. Korotenko – Cand. Sc. (Med.), Head of the Department for Functional and Ultrasonic Diagnostics of Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, e-mail: olgakorotenko@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7158-4988>

Sergey N. Filimonov – Doct. Sc. (Med.), Professor, Director of Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, e-mail: fsn42@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6816-6064>

Roman N. Panev – Junior Research Officer at the Laboratory for Health Protection of Working Population of Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, e-mail: panevari@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7882-952X>

Nataliya Ya. Paneva – Research Officer at the Laboratory for Health Protection of Working Population of Research Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases, e-mail: panevari@gmail.com

Статья получена: 27.12.2018. Статья принята: 05.03.2019. Статья опубликована: 26.06.2019.
Received: 27.12.2018. Accepted: 05.03.2019. Published: 26.06.2019.

ТРАВМАТОЛОГИЯ TRAUMATOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.3.8

Изменения показателей микроциркуляции в ранний послеоперационный период при лечении диафизарных переломов костей голени с помощью пластины с ограниченным контактом

Плахов А.И.¹, Колесникова Л.И.², Коротков Л.И.¹, Виноградов В.Г.¹, Даренская М.А.²

¹ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного восстания, 1, Россия); ² ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Плахов Алексей Игоревич, e-mail: vasahplah@yandex.ru

Резюме

Обоснование. Неудовлетворительные результаты лечения травм и заболеваний костно-мышечной системы (замедленная консолидация и несращение переломов, формирование ложных суставов и дефектов костей конечностей) не имеют тенденции к уменьшению. Можно предположить, что одним из ведущих факторов осложнений в лечении переломов костей голени является нарушение микроциркуляции в пораженном сегменте конечности.

Цель. Выявление закономерности изменений параметров микроциркуляторного русла поврежденного сегмента нижней конечности при фиксации костных фрагментов пластиной с ограниченным контактом в ранний послеоперационный период.

Материалы и методы. У 25 пациентов с помощью метода лазерной доплеровской флоуметрии проведено исследование 4 параметров микроциркуляции сегмента нижней конечности. В качестве контроля служили 25 здоровых добровольцев, сопоставимые по возрасту и полу с исследуемой группой.

Результаты. Установлено, что в ранний послеоперационный период с 1-х по 10-е сутки у пациентов с диафизарными переломами костей голени, прооперированных металлоостеосинтезом пластиной с ограниченным контактом, идет увеличение показателя микроциркуляции на 75,69 %, увеличение доли нутритивного компонента микроциркуляции по сравнению с шунтовой долей на 24,64 %, а также увеличение больше одного отношения амплитуды сердечного и дыхательного диапазона, что свидетельствует о местном нарушении кровообращения по нутритивной артериальной гиперемии. Констатируем, что увеличение амплитуды дыхательного компонента на 17,22 % и равенство амплитуды сердечного диапазона по сравнению с контрольной группой, указывают на нарушения местного кровообращения по типу венозного застоя.

Заключение. На основании полученных результатов отмечаем, что у пациентов с диафизарным переломом костей голени при оперативном лечении металлоостеосинтезом пластиной с ограниченным контактом в ранний послеоперационный период развивается нарушение местного кровообращения по застойно-гиперемическому типу.

Ключевые слова: микроциркуляция, лазерная доплеровская флоуметрия, диафизарный перелом голени, пластина с ограниченным контактом

Для цитирования: Плахов А.И., Колесникова Л.И., Коротков Л.И., Виноградов В.Г., Даренская М.А. Изменения показателей микроциркуляции в ранний послеоперационный период при лечении диафизарных переломов костей голени с помощью пластины с ограниченным контактом. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 58-62. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.8

Changes in Indicators of Microcirculation in the Early Postoperative Period in the Treatment of Diaphyseal Fractures of the Shin Bones Using a Plate with Limited Contact

Plakhov A.I.¹, Kolesnikova L.I.², Korytov L.I.¹, Vinogradov V.G.¹, Darenkaya M.A.²

¹ Irkutsk State Medical University (ul. KrasnogoVosstaniya 1, Irkutsk 664003, Russian Federation); ² Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (ul. Timiryazeva 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Alexey I. Plakhov, e-mail: vasahplah@yandex.ru

Abstract

Background. Unsatisfactory results of treatment, such as delayed consolidation and non-fusion of fractures, the formation of false joints and limb bone defects, have no tendency to decrease. We can assume that one of the leading factors of complications in traumatology is a violation of microcirculation in the affected segment of the limb.

Aims. To identify patterns of changes in the parameters of the microcirculatory bed of the damaged segment of the lower limb when fixing bone fragments with a plate with limited contact in the early period after surgery.

Materials and methods. In 25 patients, we studied four parameters of microcirculation of the lower limb segment with application of laser Doppler flowmetry. The control group consisted of 25 healthy volunteers, comparable in age and sex with the study group.

Results. We found that in the early postoperative period (from the first to the 10th day after the surgery) in patients with diaphyseal fractures of the tibia operated with metal plate with limited contact there was an increase in microcirculation by 75.69 %, an increase in the proportion of the nutritive component of microcirculation compared to the shunt fraction by 24.64 %, as well as an increase in more than one ratio of the amplitude of the heart and respiratory range. All of that indicates a local circulatory disorder in the nutritive arterial hyperemia. We note that the increase in the amplitude of the respiratory component by 17.22 % and the equality of the amplitude of the cardiac range compared with the control group indicate violations of local blood circulation by the type of venous stagnation.

Conclusion. On the basis of the results obtained, we note that patients with diaphyseal fractures of the shin bones treated with metal osteosynthesis with a plate with limited contact in the early postoperative period develop a violation of local blood circulation in the stagnant-hyperemic type.

Key words: microcirculation, laser Doppler flowmetry, diaphyseal fracture of the tibia, plate with limited contact

For citation: Plakhov A.I., Kolesnikova L.I., Korytov L.I., Vinogradov V.G., Darenskaya M.A. Changes in indicators of microcirculation in the early postoperative period in the treatment of diaphyseal fractures of the shin bones using a plate with limited contact. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 58-62. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.8

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время повреждения опорно-двигательной системы приобретают всё более тяжёлый и сложный характер вследствие усиления процессов урбанизации, роста частоты дорожно-транспортных происшествий и общего количества травм, нанесённых движущимися механизмами на производстве [1]. За последние 10 лет первичная инвалидность вследствие травм и заболеваний костно-мышечной системы выросла почти на 20 %, имея тенденцию к «омоложению», и в настоящее время вышла на третье место после болезней органов кровообращения и злокачественных новообразований [2]. Несмотря на достижения медицины, процент неудовлетворительных исходов лечения, таких как замедленная консолидация и несращение переломов, формирование ложных суставов и дефектов костей конечностей, не имеет тенденции к уменьшению. Переломы длинных костей конечностей в процессе лечения в 6–25 % случаев осложняются несращениями и формированием ложных суставов [1]. Неудовлетворительные результаты лечения ложных суставов составляют, по данным современных источников, от 5 до 40 % [3]. На наш взгляд, одним из ведущих факторов осложнений в травматологии является нарушение микроциркуляции в поражённом сегменте конечности, которое обусловлено не только повреждениями мягких тканей, но и объёмом оперативного вмешательства, нарушением технологии при выполнении самой операции и других факторов. Состояние микроциркуляции конечностей в значительной степени определяет поддержание жизнеспособности повреждённых тканевых структур, течение воспалительных и репаративных процессов. Объективная регистрация микроциркуляторных расстройств важна для оценки системных и регионарных нарушений гемодинамики, что является критерием жизнеспособности тканей [4, 5]. Лазерная доплеровская флоуметрия (ЛДФ) как высокочувствительный метод предоставляет в этом отношении уникальные диагностические возможности [6].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявить закономерности изменений параметров микроциркуляторного русла повреждённого сегмента нижней конечности при фиксации костных фрагментов пластиной с ограниченным контактом в ранний период после операции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование основано на анализе лечения 25 пациентов с диафизарными переломами костей голени, находившихся на стационарном лечении в МБУЗ ИГКБ № 3 г. Иркутска в 2014–2016 гг. Всем больным с закрытыми диафизарными переломами костей голени при поступлении в плановом порядке проводилась открытая репозиция отломков с последующим наложением металлоостеосинтезом (МОС) пластинами с ограниченным контактом (limited contact-dynamic compression plate – LC-DCP). В дальнейшем применялась традиционная консервативная терапия (антибактериальные средства, дезагреганты, местное медикаментозное лечение и др.).

Набор больных в группы производился методом сплошной выборки. Критериями исключения из исследования являлись: множественная и сочетанная травма, возраст больше 59 лет, повторная травма костей голени, инвалидность после хронических заболеваний, отсутствие возможности проследить лечение больного до момента выписки из стационара.

Распределение больных по тяжести травмы при диафизарных переломах костей голени среди пациентов по классификации АО/ASAIF представлено в таблице 1.

Таблица 1
Распределение больных по локализации и характеру переломов (по классификации АО/ASAIF)

Table 1
Distribution of patients according to the localization and character of fracture (classification AO/ASIF)

Группа	42A1	42A2	42B1	42C1	Итого
МОС пластиной, абс. (%)	16 (64 %)	3 (12 %)	3 (12 %)	3 (12 %)	25 (100 %)

Наиболее многочисленную группу пациентов (64 %) составили пострадавшие с переломами диафиза большеберцовой кости – группа 42A1 по классификации АО/ASAIF.

В работе с обследуемыми пациентами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, 2013 ред.) и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утверждёнными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266 (заседание этического комитета ИГМУ от 16.04.2014, выписка из протокола № 2).

Пациенты были сопоставимы по возрасту, нозологическим формам и распространённости патологического процесса.

Изучение параметров микроциркуляторного русла проводили с помощью неинвазивного метода лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ). Использовали аппарат ЛАКК-ОП (исполнение 2) (НПП «Лазма», Россия).

Световодный зонд анализатора ЛАКК обеспечивает доставку зондирующего излучения от лазера к области исследований и транспортировку к фотоприёмникам отражённого от ткани излучения, содержит три моноволокон, ориентированных при измерениях перпендикулярно исследуемой поверхности.

При взаимодействии с тканью в отражённом сигнале имеется составляющая, обусловленная отражением от движущихся эритроцитов, пропорциональная скорости движения (эффект Доплера). Амплитуда сигналов в приборе формируется от всех эритроцитов, находящихся в области зондирования, движущихся с разными скоростями и по-разному количественно распределённых в артериолах, капиллярах, венах и артериовенулярных анастомозах. На выходе анализатора ЛАКК формируется сигнал, который обозначается как показатель микроциркуляции (ПМ):

$$ПМ = N_{эр} \times V_{ср}$$

где: $N_{эр}$ – количество эритроцитов в зондируемом объёме, $V_{ср}$ – средняя скорость эритроцитов.

Зная значения показателя шунтирования (ПШ) и показателя микроциркуляции (ПМ), расчёты проводились по формуле: $M_{нютр.} = М/ПШ$ [7]. Для оценки рассчитывался шунтовой компонент показателя микроциркуляции ($M_{шунт.}$), по формуле $M_{шунт.} = М - M_{нютр.}$ [7].

Таким образом, в неинвазивном методе ЛДФ результирующий параметр определяет динамическую характеристику микроциркуляции крови – изменение потока крови (перфузии ткани кровью) в единицу времени в зондируемом объёме.

В англоязычных публикациях встречаются разные названия измеряемого параметра при ЛДФ – это red (blood) cell flux, blood flux (flow), volume flux. В 1992 г. в Лондоне European Laser Doppler User Group (ELDUG) было рекомендовано применять при исследованиях единый термин «Laser Doppler Perfusion» (перфузия) для описания выходного сигнала, определяемый как произведение линейной скорости эритроцитов на их концентрацию и обозначаемый в относительных или перфузионных единицах (пф. ед.) [7].

При ЛДФ-диагностике типовых нарушений микроциркуляции основное значение имеет величина М и состояние колебательных процессов, связанных с артериальным притоком (Ас) и дыхательной модуляцией венозного оттока (Ад). Целесообразна совокупная, а не изолированная оценка одного из параметров [7].

ЛДФ-граммы регистрировали в течение 10–11 минут. Датчик устанавливали по передней поверхности стопы, в проекции проксимальной части I плюсневой кости травмированной конечности. Оценивали показатель микроциркуляции (ПМ). С помощью вейвлет-преобразования осцилляций кровотока получали показатели шунтирования (ПШ); максимальные амплитуды сердечного (Ас) и дыхательного (Ад) диапазона колебаний. ЛДФ проводили в одно и то же время суток при одинаковой температуре в помещении (21–23 °C). Перед исследова-

ниями испытуемые не принимали пищу или напитки, не курили. Исследования проводились с 1-х по 10-е сутки ежедневно после оперативного вмешательства.

Полученные данные сравнивались с результатами исследований, проведённых на 25 здоровых добровольцах сопоставимые по возрасту и полу с исследуемой группой.

Для определения близости к нормальному закону распределения количественных признаков использовали визуально-графический метод и критерии согласия Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро – Уилка. По причине того, что выборка характеризовалась преимущественно неправильным распределением, оценку различий проводили с помощью непараметрического метода статистического анализа – критерия Манна – Уитни (Mann – Whitney, U-test). Данные представлены в виде медианы с нижним и верхним квартилями (25-й и 75-й перцентили), а также средних значений и стандартного отклонения. Показатели высчитывались при помощи электронных программ (Microsoft Office 2010 Excel и Statistica 10.0 for Windows).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что у пациентов с диафизарным переломом костей голени, прооперированных металлоостеосинтезом пластиной с ограниченным контактом, показатель микроциркуляции (М) за весь ранний послеоперационный период с 1-х по 10-е сутки статистически больше на 75,69 %, чем в контрольной группе, что является критерием нарушения местных расстройств кровообращения по типу нутритивной артериальной гиперемии и венозного застоя.

Результаты проведённого исследования представлены в таблице 2. Было установлено, что доля нутритивного компонента показателя микроциркуляции на 24,64 % больше шунтового, что свидетельствует о нарушении по типу артериальной гиперемии.

При сравнении амплитуды сердечного диапазона (Ас) между группой, прооперированной МОС пластиной с ограниченным контактом, и контрольной группы статистической разницы выявлено не было, что говорит о венозном застое.

При сравнении амплитуд дыхательного диапазона (Ад), выявлено значимое увеличение Ад в экспериментальной группе по сравнению с контрольной группой на 17,22 %, что подтверждает факт наличия венозного застоя.

При сравнении отношений пульсовой и дыхательной амплитуд в экспериментальной группе получены результаты больше 1, что свидетельствует об артериальной гиперемии [7].

Установлено, что в ранний послеоперационный период (с 1-х по 10-е сутки) у пациентов с диафизарными переломами костей голени, прооперированных металлоостеосинтезом пластиной с ограниченным контактом, идёт увеличение показателя микроциркуляции на 75,69 %, увеличение доли нутритивного компонента микроциркуляции по сравнению с шунтовой долей на 24,64 %, а также увеличение больше 1 отношения амплитуды сердечного и дыхательного диапазона, что свидетельствует о местном нарушении кровообращения по нутритивной артериальной гиперемии. А увеличение амплитуды дыхательного компонента на 17,22 % и равенство амплитуды сердечного диапазона по сравнению с

Параметры микроциркуляции в экспериментальной и контрольной группе

Таблица 2

Microcirculation parameters in the experimental and control groups

Table 2

Параметр	Экспериментальная группа (МОС пластиной с ограниченным контактом)		Контрольная группа	
ПМ	11,16 (9,98–14,18)*	11,81 ± 0,75**	6,46 (5,2–8,38)*	6,72 ± 2,26**
ПШ	1,61 (1,39–1,76)*	1,6 ± 0,23**	–	–
Доля М _{нутр}	7,36	7,36	–	–
Доля М _{шунт}	4,45	4,45	–	–
Ас	0,22 (0,21–0,27)*	0,23 ± 0,02**	0,23 (0,19–0,28)*	0,24 ± 0,04**
Ад	0,15 (0,14–0,17)*	0,15 ± 0,01**	0,13 (0,1–0,16)*	0,13 ± 0,02**
Ас/Ад	1,53	1,53	–	–

Примечание. * – данные представлены в виде медианы с нижним и верхним квартилями (25-й и 75-й перцентили); ** – данные представлены в виде средних значений и стандартного отклонения.

контрольной группой указывают на нарушения местного кровообращения по типу венозного застоя.

Таким образом, по критериям показателей микроциркуляции при местных расстройствах нарушение кровообращения идёт по смешанному застойно-гиперемическому типу. Эти результаты однозначно указывают на рост притока крови в конечность, сопровождающийся снижением оттока крови по венозному компоненту.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных результатов констатируем, что у пациентов с диафизарным переломом костей голени при оперативном лечении МОС пластиной с ограниченным контактом в ранний послеоперационный период развивается нарушение местного кровообращения по застойно-гиперемическому типу. Процесс регенерации протекает в условиях стабильного артериального кровотока микроциркуляции и усиленного венозного застоя, что связано с повреждением мягких тканей и компонентов венозной системы при оперативном доступе.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Уразгильдеев Р.З., Кесян Г.А., Берченко Г.Н. Современные аспекты лечения ложных суставов длинных костей конечностей. *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова*. 2013; (1): 81-88.
2. Склянчук Е.Д., Зоря В.И., Гурьев В.В., Просвирин А.А. Транскортикальная комбинированная пластика ложных суставов костей конечностей. *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова*. 2009; (3): 80-85.
3. Уразгильдеев Р.З., Кесян Г.А., Варфоломеев В.Н., Штолько В.Н. Роль перекисного окисления липидов в патогенезе ложных суставов длинных костей. *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова*. 2013; (2): 54-59.
4. Kolesnikova LI, Rychkova LV, Kolesnikova LR, Darenskaya MA, Natyaganova LV, Grebenkina LA, et al. Coupling of lipoperoxidation reactions with changes in arterial blood pressure in hypertensive ISIAH rats under conditions of chronic stress. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2018; 164(6): 712-715. doi: 10.1007/s10517-018-4064-3

5. Shemyakina NA, Namokonov EV, Darenskaya MA, Kolesnikov SI, Kolesnikova LI. Advanced glycation end products and glutathione status in patients with type 2 diabetes mellitus and macroangiopathy of the lower limbs. *Free Radical Biology & Medicine*. 2018; 120(1): 60-61. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.04.200

6. Миromanov А.М., Миронова О.Б., Усков С.А., Намоконов Е.В., Шаповалов К.Г. Динамика показателей микроциркуляции и компонентов сосудистого тонуса у больных с неосложненным и осложненным течением переломов длинных трубчатых костей в раннем послеоперационном периоде. *Бюллетень СО РАМН*. 2011; 31(3): 12-17.

7. Крупаткин А.И., Сидоров В.В. *Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем. Колебания, информация, нелинейность: Руководство для врачей*. М.: URSS; 2013.

REFERENCES

1. Urazgildeev RZ, Kesyan GA, Berchenko GN. Modern aspects of treatment for pseudarthrosis of long bones of the extremities. *Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorova*. 2013; (1): 81-88. (in Russ.)
2. Sklyanchuk ED, Zopya VI, Gurev VV, Prosvirin AA. Transcortical combined plasty of pseudarthroses of bones extremities. *Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorova*. 2009; (3): 80-85. (in Russ.)
3. Urazgildeev RZ, Kesyan GA, Varfolomeev VN, Shtolko VN. Role of lipid peroxide oxidation in pathogenesis of long bone pseudarthrosis. *Vestnik travmatologii i ortopedii im. N.N. Priorova*. 2013; (2): 54-59. (in Russ.)
4. Kolesnikova LI, Rychkova LV, Kolesnikova LR, Darenskaya MA, Natyaganova LV, Grebenkina LA, et al. Coupling of lipoperoxidation reactions with changes in arterial blood pressure in hypertensive ISIAH rats under conditions of chronic stress. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2018; 164(6): 712-715. doi: 10.1007/s10517-018-4064-3
5. Shemyakina NA, Namokonov EV, Darenskaya MA, Kolesnikov SI, Kolesnikova LI. Advanced glycation end products and glutathione status in patients with type 2 diabetes mellitus and macroangiopathy of the lower limbs. *Free Radical Biology & Medicine*. 2018; 120(1): 60-61. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.04.200
6. Miromanov AM, Mironova OB, Uskov SA, Namokonov EV, Shapovalov KG. Dynamics of indicators of microcir-

ulation and components of the vascular tonus at patients with the uncomplicated and complicated course of fractures of long tubular bones in the early postoperative period. *Byulleten' SO RAMN*. 2011; 31(3): 12-17. (in Russ.)

7. Krupatkin AI, Sidorov VV. *Functional diagnostics of the state of microcirculatory and tissue systems. Oscillations, information, nonlinearity: A Guide for Physicians*. M.: URSS; 2013. (in Russ.)

Сведения об авторах

Плахов Алексей Игоревич – аспирант, врач травматолог-ортопед, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: vasahplah@yandex.ru

Колесникова Любовь Ильинична – академик РАН, профессор, научный руководитель ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»

Корытов Леонид Иннокентьевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России

Виноградов Валентин Георгиевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры травматологии и ортопедии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России

Даренская Марина Александровна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФГБНУ «НЦ проблем здоровья семьи и репродукции человека»

Information about the authors

Alexey I. Plakhov – Postgraduate, Trauma Orthopaedist, Irkutsk State Medical University, e-mail: vasahplah@yandex.ru

Lyubov I. Kolesnikova – Academician of Russian Academy of Medical Sciences, Scientific Director of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems

Leonid I. Korytov – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Normal Physiology, Irkutsk State Medical University

Valentin G. Vinogradov – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Traumatology and Orthopedics, Irkutsk State Medical University

Marina A. Darenskaya – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems

Вклад авторов:

Плахов А.И. – набор практического материала, обработка полученных данных

Колесникова Л.И. – редактирование статьи к публикации в журнале «Acta Biomedica Scientifica»

Корытов Л.И. – подготовка статьи к публикации, анализ результатов исследований

Виноградов В.Г. – научный руководитель аспиранта, обсуждение клинического материала и значимости для практического здравоохранения

Даренская М.А. – помощь в статистической обработке полученных результатов

Статья получена: 12.02.2019. Статья принята: 27.05.2019. Статья опубликована: 26.06.2019.
Received: 12.02.2019. Accepted: 27.05.2019. Published: 26.06.2019.

ФАРМАКОЛОГИЯ И ФАРМАЦИЯ PHARMACOLOGY AND PHARMACY

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.3.9

Препараты магния в психиатрии, наркологии, неврологии и общей медицине. Часть I (историческая)

Беккер Р.А.¹, Быков Ю.В.², Шкурят А.О.³, Воронина А.С.³

¹ Университет им. Давида Бен-Гуриона в Негеве (8410501, г. Беэр-Шева, б. Бен-Гурион, Израиль); ² ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России (355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310, Россия); ³ ГБОУ ВПО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России (150000, г. Ярославль, ул. Революционная, 5, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Беккер Роман Александрович, e-mail: rbekker1@gmail.com

Резюме

Применение препаратов магния в медицине имеет давнюю историю. По некоторым данным, первые попытки употребления человеком магниевых и кальцийсодержащих минералов внутрь, предположительно в лечебных целях, могли иметь место ещё в доисторические времена. Также к доисторическим временам относятся первые попытки применения природных магниевых-кальциевых щелочных материалов для повышения биодоступности алкалоидов некоторых психоактивных растений, таких, как бетель, табак и кока. Позднее рядом античных авторов, в частности, Гиппократом II, Клавдием Галеном и Сораном Эфесским, были описаны слабительный эффект морской соли и измельчённого доломита, а также положительное воздействие на психику питья, приёма ванн и ректального введения минеральных вод из источников, которые, как было установлено современными исследованиями, были очень богаты солями магния, лития и брома.

Слабительный эффект минеральных вод из некоторых источников, богатых магнием сульфатом, или выпаренных из них солей – например, «Седлицкой соли» и «соли из Эгры» был хорошо известен в Средние века. В соответствии с доминировавшей тогда теорией о том, что слабительный эффект равнозначен «очищению организма» и полезен для «восстановления баланса хуморов», эти соли широко применялись для лечения самых разных заболеваний. Позднее Парацельс обнаружил, что эти соли могут быть полезными вовсе не только как слабительное, но и как успокаивающее и средство от нервных тиков и мышечных подергиваний.

В 1707 г. Массимилиано Валентини впервые получил оксид магния, который сразу же стал применяться в качестве антацидного средства, мягкого слабительного и присыпки. А в 1926 г. Жаком Лероем была впервые доказана жизненная важность магния для организма животных.

В данной статье мы подробно освещаем историю применения препаратов магния и исследований его биологической роли с древности до наших дней.

Ключевые слова: магний, кальций, литий, бром, история медицины, тетания, эпилепсия, спазмофилия, гуморальная теория

Для цитирования: Беккер Р.А., Быков Ю.В., Шкурят А.О., Воронина А.С. Препараты магния в психиатрии, наркологии, неврологии и общей медицине. Часть I. Историческая. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 63-80. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.9

Magnesium Preparations in Psychiatry, Addiction Medicine, Neurology and General Medicine (Part I. History)

Bekker A.R.¹, Bykov Yu.V.², Shkurat A.O.³, Voronina A.S.³

¹ Ben-Gurion University of the Negev (bulv. Ben-Gurion Beer-Sheva 8410501, Israel); ² Stavropol State Medical University (ul. Mira 310, Stavropol 355017, Russian Federation); ³ Yaroslavl State Medical University (ul. Revolutsionnaya 5, Yaroslavl 150000, Russian Federation)

Corresponding author: Roman A. Bekker, e-mail: rbekker1@gmail.com

Abstract

The use of magnesium preparations in medicine has a long history. According to some sources, first attempts by humans to consume magnesium- and calcium-rich minerals orally, presumably for medicinal purposes, could have occurred even in prehistoric times. First attempts to use natural magnesium-calcium alkaline materials to increase the bioavailability of the alkaloids of some psychoactive plants, such as betel, tobacco, and coca, also date back to prehistoric times. Later, several ancient authors, in particular, Hippocrates II, Claudius Galen and Soran of Ephesus, have described the profound laxative effect of sea salt and of crushed dolomite, as well as a positive effect on the psyche of drinking mineral waters from sources that were found by modern scientists to be rich in magnesium, lithium and bromine.

The laxative effect of mineral waters from some sources rich in magnesium, or of salts that were extracted from such sources was known in the Middle Ages. Later, Paracelsus discovered that these salts could be useful not only as a laxative, but also as a sedative.

In 1707, Massimiliano Valentini first obtained magnesium oxide, which immediately found its use in medicine, as an antacid, as a mild laxative and skin powder. In 1926, Jacques Leroy was the first to prove the vital importance of magnesium for the physiology of animals.

In this article, we thoroughly review the history of the medicinal use of magnesium preparations and the history of studies of biological role of magnesium, from antiquity to modern times.

Key words: *magnesium, calcium, lithium, bromide, history of medicine, tetany, epilepsy, spasmodophilia, humoral theory*

For citation: Bekker A.R., Bykov Yu.V., Shkurat A.O., Voronina A.S. Magnesium preparations in psychiatry, addiction medicine, neurology and general medicine (Part I. History). *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 63-80. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.9

ВВЕДЕНИЕ

(Общие химические и физиологические сведения)

Магний – это второй химический элемент 3-го периода периодической таблицы Менделеева. Он стоит в этом периоде вслед за натрием (Na), но перед алюминием (Al). Магний также является вторым в 2-й группе (группе щелочноземельных металлов). То есть, во 2-м столбце таблицы магний стоит после бериллия (Be), но перед кальцием (Ca). Он имеет символическое обозначение Mg и атомный порядковый номер 12 [1, 2, 3].

Магний является вторым, после калия (K), по содержанию в клетках и по физиологической значимости внутриклеточным катионом. Он содержится во всех клетках всех органов и тканей организма. Он влияет на множество физиологических функций организма, как на микроуровне (на уровне клеток), так и на макроуровне (на уровне тканей, органов, систем органов и, в конечном счёте, организма в целом). Он также является 11-м по массе химическим элементом человеческого организма. Он критически необходим как для жизнедеятельности организма человека и животных в целом, так и для обеспечения жизнедеятельности каждой его отдельной клетки. Сегодня мы знаем, что магний является необходимым кофактором для работы более чем 300 ферментов человеческого организма. Кроме того, магний влияет также на обмен ряда других важных катионов макро- и микроэлементов в организме – прежде всего на обмен макроэлементами калия и кальция, но также на обмен микроэлементами лития (Li), рубидия (Rb), стронция (Sr) [2, 3, 4].

В данной, исторической, части нашего обзора мы ставим своей целью кратко осветить историю применения препаратов магния в медицине, а также историю исследований о роли магния в человеческом и животном организме в норме и при различных патологиях, и ещё раз подчеркнуть жизненную важность магния для человека и животных [3, 5].

История применения препаратов магния в медицине

В отличие от истории применения в медицине солей лития, брома или бора, в которой есть и трагические страницы, связанные со смертными случаями от передозировки лития при попытках заменить хлористым литием обычную поваренную соль для лечения гипертонической болезни, или при попытках лечения подагры и мочекаменной болезни большими дозами солей лития, или со смертями от передозировки бромидов при лечении «бромидным сном» по Нейлу Мак-Леоду, или со смертями от интоксикации бором при попытках применения высоких доз борной кислоты и буры для лечения эпилепсии – история применения препаратов магния в медицине выглядит более гладкой, менее изобилующей трагедиями [1, 3, 5].

Доисторический период

В отличие от упоминавшихся нами выше соединений лития, брома или бора, которые достаточно мало распространены в природе, соединения магния в природе весьма распространены. Магний является седьмым по распространённости элементом земной коры, и девятым по распространённости элементом во Вселенной. Он входит в состав таких широко распространённых, к тому же обычно залегающих близко к поверхности Земли, минералов, как магнезит (магния карбонат) и доломит (смешанный карбонат магния и кальция). Кроме того, магний, преимущественно в виде хлорида магния и сульфата магния, является третьим по распространённости, после натрия и хлора, элементом, растворённым в морской воде. Магния сульфат и/или магния хлорид также являются нередкими компонентами вод различных природных минеральных источников [1, 3, 5].

В силу близости расположения магния и натрия в периодической таблице Менделеева и достаточно малой разницы между ионными и атомными радиусами натрия и магния хлорид магния также является одной из самых распространённых минорных примесей в составе природной каменной соли (основным компонентом которой является хлорид натрия) [1, 3, 5].

Поэтому человечество де-факто столкнулось с соединениями магния ещё на заре своего развития, в доисторические времена, попытавшись применить магний- и кальцийсодержащие минералы в качестве строительных материалов, а морскую или каменную соль – в качестве средства для консервации пищевых продуктов [1, 3, 5].

В свете этого неудивительно, что первые попытки эмпирического применения соединений кальция и магния, в виде их природных минералов, в лечебных целях, по-видимому, могли иметь место ещё в доисторические времена. Так, в частности, в 1975 г. Ральфом Солецки из Колумбийского Университета, США, при раскопках в пещере Шанидар, расположенной в горах Загрос, на территории нынешнего Северного Ирака, были найдены костные останки молодого неандертальца, лежащего во внутриутробной позе (возможно, кататония?). Эти останки датируются примерно 60 000 лет до нашей эры, то есть относятся к эпохе среднего палеолита [1, 6].

Вокруг скелета этого неандертальского юноши были найдены разложенные симметрично, в определённом порядке, предположительно указывающем на ритуальный характер этой раскладки, окаменевшие останки семян и соцветий 28 различных видов растений. Как минимум семь растений из числа тех 28, окаменевшие останки которых были найдены в этой пещере, признаются в качестве лекарственных, биологически активных, современной научной медициной. Донаучные же античные источники, такие, как знаменитые травники

(справочники по травам) Диоскорида и Плиния Старшего, упоминают в качестве лекарственных растений более двух третей из числа найденных в этой пещере 28 растений [1, 6, 7].

Поэтому Р. Солецки, а вслед за ним и ряд других авторов, например, Ж. Лиетава, выдвинули предположение, что нахождение окаменевших останков семян и соцветий этих растений рядом с застывшим во внутриутробной, кататонической позе скелетом молодого неандертальца, предположительно страдавшего какой-то болезнью при жизни, скорее всего не является случайным. Согласно этому предположению, уже в те далёкие доисторические времена найденные в пещере Шанидар растения могли применяться в лечебных целях [1, 6, 7].

Кроме того, рядом с этим скелетом также были найдены куски доломита (при том, что сама пещера Шанидар состоит вовсе не из доломита, а из известняка), а также доломитовая пыль, которая могла быть результатом попыток ручного измельчения доломита. Это заставляет нас подозревать, что уже в доисторические, первобытные времена попытки применения измельчённых магний- и кальцийсодержащих минералов в лечебных целях, наряду с попытками применения лекарственных растений в тех же целях, могли иметь место [1, 6, 7].

Вместе с тем, Джеффри Сомер из Мичиганского Университета США, а вслед за ним и ряд других учёных указывают, что нахождение семян и соцветий лекарственных растений, а также доломитовых камешков в пещере Шанидар может быть артефактом. Этот артефакт может быть связан не с деятельностью первобытного человека, а с деятельностью персидского хомячка. Действительно, персидский хомячок – мелкий грызун, который известен, в частности, своей склонностью создавать запасы семян и соцветий самых различных растений, а также запасы мелких камешков из мягких минералов, которые он способен грызть и употреблять в пищу. Более того, было показано, что в дикой природе, в своих естественных условиях обитания, персидский хомячок может запастись семенами и соцветиями именно тех растений, которые были найдены в пещере Шанидар, а также мелкие камешки природного мела и доломита [1, 8].

Однако Р. Солецки отверг это предположение, указав, что симметричность и упорядоченность расположения семян и соцветий лекарственных растений и камешков доломита, найденных в захоронении молодого неандертальца в пещере Шанидар, делает крайне маловероятным, что эти находки связаны с деятельностью персидского хомячка, а не с ритуализированными попытками лечения больного и/или с последующим ритуалом погребения после неудачного лечения [1].

Так или иначе, достоверно установить, какая именно идея могла стоять за попытками применения этих минералов и лекарственных растений у наших далёких доисторических предков, сегодня, разумеется, не представляется возможным [1, 6, 7].

Позднее, в эпоху неолита, начавшуюся приблизительно 11 000 лет назад, мы находим первые не прямые свидетельства использования измельчённого доломита, наряду с измельчённым природным мелом или измельчённой природной гашёной известью, в нескольких иных целях, а именно, в качестве природных источников слабой щёлочи, облегчающей извлечение некоторых психоактивных алкалоидов (ареколина, никотина или кокаина)

из соответствующих растений (бетеля, табака или коки) и повышающей их биодоступность при жевании [1, 9, 10].

Так, среди окаменевших останков растений, найденных в пещере Спирит, на северо-западе нынешнего Таиланда, рядом с человеческими останками, обнаружены семена психоактивного растения бетель (*Areca catechu* L.), а также камешки мела и доломита. Это захоронение датируется периодом между 7000 и 5500 гг. до н. э. [1, 9].

Первые прямые и убедительные доказательства того, что такое употребление доломита, извести или мела для извлечения алкалоидов из бетеля, табака или коки действительно имело место уже в неолитическую эпоху, относятся к более позднему историческому времени. Так, при раскопках в пещере Дуонг в Филиппинах было обнаружено захоронение, датируемое приблизительно 2680 г. до н. э. В этом захоронении рядом с скелетом человека были найдены раковины моллюсков, наполненные смесью грубо измельчённых семян бетеля с доломитовой крошкой и с природной гашёной известью [1, 10].

Находка из филиппинской пещеры очень напоминает по своему химическому составу распространённую в Индии, Филиппинах и других азиатских странах по сей день практику жевания бетеля. При этом орех (семя) бетеля сначала заворачивается в лист бетеля. Затем добавляется щелочной материал – обычно это гашёная известь, но могут использоваться также измельчённый мел или доломит. Иногда же, как в находке из филиппинской пещеры, одновременно используется и то и другое. Затем вся масса измельчается. При этом из листьев и семян бетеля под воздействием щёлочи высвобождается легко биодоступное и хорошо всасывающееся со слизистой полости рта при жевании основание ареколина. Затем вся эта смесь подвергается жеванию [1, 10].

Аналогичные находки, но касающиеся жевания не бетеля, а листьев табака (*Nicotiana tabacum* L.) или листьев коки (*Erythroxylum coca* L.) в смеси с природной гашёной известью, природным мелом и/или измельчённым доломитом, сделаны при раскопках в пещерах Мексики. Эти захоронения датируются приблизительно 3000 лет до н. э. Найденные в этих пещерах, обработанные природной магниевой-кальциевой щёлочью окаменевшие останки листьев табака и коки очень напоминают по своему химическому составу современную практику жевания «снюса» (табака в смеси с гашёной известью или мелом) и практику жевания индейцами Колумбии обработанных гашёной известью или мелом листьев коки [1, 10].

Важным доказательством того, что уже в те далёкие времена позднего неолита люди действительно жевали обработанный подобным образом бетель, табак или коку, а не просто зачем-то обрабатывали листья табака или коки, или семена и листья бетеля природной магниевой-кальциевой щёлочью, является то, что у найденных в этих захоронениях скелетов людей обнаружено такое же характерное почернение зубов, как у современных потребителей бетеля, коки или «снюса» (жевательного табака). Более того, в эмали зубов людей из этих захоронений обнаружены следы, соответственно, ареколина или никотина [1, 10].

Коль скоро у нас зашла речь о психоактивных растениях, то интересно попутно отметить, что растения с психоактивными или психотропными свойствами в целом сыграли непропорционально большую роль в истории человеческой цивилизации, и в истории меди-

цины и фармакологии в частности, по сравнению с представленностью этих растений среди всех лекарственных растений вообще [1, 10].

Этому есть несколько причин. Одна из них заключается в том, что психотропные эффекты некоторых растений становятся непосредственно очевидны вскоре после их употребления, в отличие от медленно наступающих лечебных эффектов некоторых других лекарственных растений (например, противовоспалительного) [1, 10].

Другая важная причина состоит в том, что человечество на протяжении всей своей истории стремилось к получению гедонистического удовольствия самыми различными способами, будь то эстетическое наслаждение от наскальных рисунков, первобытных песен и плясок, или употребление психоактивных растений. Третья причина того, что психотропные эффекты некоторых растений были подмечены человечеством очень рано, состоит в том, что эти растения оказались весьма полезными в первобытных шаманских и колдовских ритуалах. Эти ритуалы, как правило, включали в себя употребление различных психоактивных растений или грибов с галлюциногенными или опьяняющими, эйфоризирующими свойствами, для достижения религиозного или мистического экстаза или транса [1, 10].

В свете этого замечания, неудивительно то, что яркие психотропные (седативные, транквилизирующие, антидепрессивные) свойства богатых магнием минеральных вод и магнийсодержащих минералов тоже были подмечены человечеством очень давно, ещё в античности, а именно в эпоху Гиппократов, как мы покажем ниже [1, 10].

Ещё одним, хотя и косвенным, доказательством того, что попытки эмпирического применения магниевых и кальцийсодержащих минералов в лечебных целях действительно могли иметь место ещё в доисторическую эпоху, является обнаружение у некоторых высших млекопитающих, включая приматов, явления так называемой «инстинктивной животной фармакогнозии» [1, 6, 7].

В частности, известно, что олени, буйволы, дикие лошади, обезьяны шимпанзе (!) и некоторые другие растительноядные, или всеядные, но преимущественно растительноядные, млекопитающие в дикой природе, испытывая симптомы дефицита натрия и хлора, целенаправленно находят и лижут каменную соль. При симптомах дефицита магния и/или кальция эти же животные могут столь же целенаправленно искать и пытаться грызть известняк, магнезит или доломит, а при их отсутствии или недоступности могут есть просто землю (почву), которая тоже может быть богата солями кальция и магния [1, 6, 7].

Не менее хорошо известно инстинктивное поведение домашними собаками и кошками определённых лекарственных растений или определённых минералов при определённых симптомах болезней, например, для вызывания рвоты при случайных отравлениях, или для облегчения боли при травмах и повреждениях [1, 6, 7].

Отсюда легко провести теоретическую параллель с возможным инстинктивным употреблением этих же растений и минералов первобытными людьми, как, возможно, «гладко перешедшим» к ним эволюционным наследием инстинктивной животной фармакогнозии наших ещё более далёких предков – человекообразных приматов. Идеи же, объясняющие целесообразность такого их употребления, могли появиться у человека постфактум, значительно позже – вместе с зарождением у первобытных людей со-

знания и речи, а затем и примитивных верований (зачатков религии) и шаманских или знахарских практик [1, 6, 7].

Таким образом, первые попытки эмпирического применения магниевых и кальцийсодержащих минералов в медицине, судя по всему, начались ещё в доисторическую эпоху, задолго до выделения в чистом виде солей магния и кальция и, тем более, до выделения и открытия самих этих металлов в чистом виде [1, 3, 5].

До-гиппократовская медицина Древнего мира

Как известно, на ранних этапах своего развития медицина не отделялась от религии и мифологии, или от первобытных мистических верований. Поэтому самыми первыми в истории человечества врачевателями были колдуны или шаманы племени, а позднее – жрецы бога медицины. У древних египтян богом медицины считался Имхотеп (реальная историческая личность – астроном, математик, врачеватель, архитектор и государственный деятель, который был объявлен древнеегипетскими жрецами богом медицины спустя более чем 2000 лет после своей смерти), у древних греков – Асклепий, а у древних римлян – Эскулап [1].

Соответственно исторически первой донаучной идеей, пытавшейся хоть как-то объяснить природу различных заболеваний у человека, на доступном древним людям уровне понимания этой проблемы, была идея о некоей «порче», насланной на больного человека гневом богов, или об «одержимости больного злыми духами». Одинаково интерпретировались в рамках этой теории как психические, так и соматические заболевания. При этом подразумевалось, что «порча» или «злой дух» могут проникать в тело больного либо через неповреждённую кожу и слизистые, либо через те или иные «естественные отверстия» (рот, нос, глаза, уши, влагалище, задний проход или уретру) [1].

Из этой теории логически вытекало, что для того, чтобы «изгнать» из тела больного «злой дух» или насланную богами «порчу», необходимо, с одной стороны, молиться богам и просить их смириться над больным, пощадить его, а с другой – применить те или иные средства, вызывающие видимое невооружённым глазом древнего врача «извержение» или «изгнание» из тела больного тех или иных биологических жидкостей, которые, предположительно, содержат в себе «злой дух» или «порчу», и могут унести его или её с собой [1].

Это хорошо объясняет, почему в медицине Древнего Мира, причём в самых разных странах и культурах, столь непропорционально большое значение, среди всех лекарственных растений и минералов, потенциально могущих обладать лечебными свойствами, придавалось именно растениям и минералам, обладающим теми или иными «очистительными» или «изгоняющими» свойствами. Прежде всего приветствовались в медицине Древнего мира те растения и минералы, которые обладали рвотными или слабительными свойствами. Широко применялось также хирургическое кровопускание, которому тоже приписывалось «очистительное» значение [1].

Менее часто применялись в медицине Древнего мира, но также были широко известны и популярны, растения и минералы, обладающие потогонными или мочегонными свойствами, или способные вызывать обильное слезотечение (как лук), или вызывающие обильное слюнотечение (как при интоксикации ртутью), или обладающие кожно-

нарывным действием, то есть способностью вызывать на коже образование ожоговых пузырей и нарывов (как цикада или насекомое шпанская мушка) [1].

Эти растения и минералы применялись в медицине Древнего мира в разных странах и культурах буквально «от всего подряд», то есть как панацея от всех болезней, в соответствии с единой теорией, которая приписывала возникновение всех болезней одной и той же причине – насланной в результате гнева богов «порче» или «одержимости злыми духами», которые надлежит изгнать из тела больного тем или иным способом – с кровью, мочой, калом, рвотой, потом, со слюной или со слезами, или с жидкостью от ожоговых пузырей [1].

Безусловно, в рамках такой теории никак не мог пройти мимо внимания врачей Древнего мира тот сильнейший слабительный эффект, который вызывало у их пациентов обильное питье минеральных вод из некоторых источников, богатых солями магния, или же употребление морской воды, либо выпаренной из неё морской соли. Менее сильный, но также вполне заметный невооружённым глазом древнего врача, слабительный эффект производило употребление внутрь измельчённых порошков некоторых природных минералов, содержащих магний, таких, как магнезит (магния карбонат) или доломит (смешанный карбонат кальция и магния) [1].

Этот эмпирически подмеченный древними врачами слабительный, или, как они полагали, «очистительный» и «изгоняющий» эффект солей магния, послужил для них основанием для того, чтобы считать соответствующие природные водные источники, а также морскую соль и ряд магнийсодержащих минералов, целебными. Исторически первые письменные упоминания морской соли, морской воды и измельчённого доломита в качестве целебных средств, с описанием производимого ими слабительного эффекта, обнаруживаются в древнеегипетском Папирусе Эберса (около 1550 г. до н. э., причём, вероятно, этот папирус является поздней копией с ещё более древнего папируса, самая ранняя версия которого относится предположительно к 3000 г. до н. э.), и в вавилонских клинописных табличках (3000 г. до н. э.) [1].

Гиппократ II и эллинистическая медицина

Живший в период примерно с 460 г. до н. э. по 370 г. до н. э. знаменитый древнегреческий врач Гиппократ II небезосновательно считается сегодня «отцом всей современной научной медицины» [1].

Хотя Гиппократ II сам был по происхождению потомственным Асклепиадом, то есть потомственным жрецом бога медицины Асклепия, и получил классическое для того времени жрецкое образование и подготовку, одной из его непреходящих заслуг в истории медицины является то, что он первым, или, во всяком случае, одним из первых, попытался отделить медицину от религии и мифологии, и поставить её на более или менее научную эмпирическую основу, хотя и весьма своеобразным образом, на доступном ему уровне понимания [1].

В частности, в рамках своей попытки отделить медицину от религии и мифологии, Гиппократ II отверг доминировавшую до него теорию, которая сводила причины всех заболеваний к «порче», наведённой «гневом богов», или к «одержимости злыми духами» [1].

Взамен этой мистической теории, Гиппократ II, опираясь на современную ему древнегреческую философию

Платона и Аристотеля, которая постулировала, что всё сущее в материальном мире, все его объекты, состоят из некоего сочетания «четырёх стихий» (земли, воздуха, огня и воды), выдвинул так называемую «гуморальную теорию» природы всех заболеваний, как соматических, так и психических [1].

Согласно этой теории Гиппократ, человеческое тело состоит из гармоничного сочетания четырёх «хуморов» (жидкостей) – крови, мокроты (флегмы), чёрной желчи и светлой желчи. Те или иные заболевания, согласно этой же теории, вызываются дисбалансом этих четырёх «хуморов», или жидкостей, составляющих человеческое тело – избытком или, наоборот, дефицитом какой-либо из них [1].

Несмотря на в целом умозрительный и мистический характер этой теории, она была для своего времени большим шагом вперёд, по сравнению с теориями «одержимости злыми духами» или «порчи, наведённой гневом богов» [1].

Интересно отметить, что «гуморальная теория» Гиппократ II не была всецело умозрительной. Согласно его же собственным разъяснениям, иногда понятие «чёрной желчи» следовало трактовать не в переносном, мистическом или спиритуальном, смысле, а в смысле буквальном. Так, описывая «меланхолию» (то есть дав исторически первое описание меланхолической формы большой депрессии, со всеми её характерными признаками, сохранившее актуальность до наших дней), Гиппократ II отметил, что у больных с этой болезнью, умерших от суицида, вскрытия которых он наблюдал в Александрии (в его родном городе Кос власти запрещали проводить вскрытия умерших), желчь была необычно тёмной и густой, и у них также часто наблюдалось образование камней в желчном пузыре. Связав природу «меланхолии» с избытком этой «чёрной желчи», с разлитием её по организму и отравлением организма ею, Гиппократ II и дал название этому заболеванию, происходящее от слов «мелас» («чёрный») и «холе» («желчь») [1].

Сегодня мы знаем, что у депрессивных больных действительно наблюдаются изменения химического состава, литогенности и вязкости желчи, связанные с гиперкортизолиемией и гиперкатехоламинемией [1].

Так или иначе, оставаясь в рамках своей гуморальной теории, Гиппократ II, подобно врачам, практиковавшим до него, весьма приветствовал – и считал весьма полезным и обоснованным – применение слабительных, рвотных, желчегонных, потогонных, мочегонных, слезоточивых и тому подобных «очистительных» средств. Однако он давал их применению совершенно другое теоретическое обоснование. Согласно его теории, применение подобных средств служит не цели «изгнания» гипотетических «злых духов» или «наведённой порчи», а цели удаления из организма избытка того или иного «хумора», предположительно имеющегося при данном заболевании в избытке, и тем самым – цели восстановления телесной гармонии, нормального баланса телесных «хуморов» [1].

В рамках этой своей теории, Гиппократ II, как и врачи, практиковавшие до него, тоже считал весьма полезным при самых разных заболеваниях, в частности, применение богатых солями магния минеральных вод, которые оказывали слабительный и желчегонный эффект, или измельчённого доломита в тех же целях [1].

Однако Гиппократ II знаменит не только этим. Он верил в «естественные способности организма к самоис-

целению» (то есть в естественный саногенез) и в то, что в большинстве случаев организм больного нужно лишь «немного подтолкнуть», побудить к самоисцелению, и что сильные терапевтические вмешательства относительно здоровому организму, как правило, не требуются. В рамках этой своей теории, Гиппократ II систематически пропагандировал – и всячески рекомендовал при самых разных заболеваниях, включая впервые описанную им «меланхолию» – то, что мы бы сегодня назвали «здоровым образом жизни» – пребывание на свежем воздухе, солнечные ванны, спорт или физическую активность, массаж, а также здоровое, сбалансированное, преимущественно молочно-растительное питание [1].

На молочно-растительной диете «по Гиппократу» в контексте нашей статьи, посвящённой истории применения в медицине препаратов магния, стоит остановиться поподробнее. Диета, рекомендованная Гиппократом II, предусматривала увеличение потребления молока и молочных продуктов, овощей, фруктов, цельных злаков и злаковых отрубей, бобовых, зелени, различных видов орешков и семечек, а также различных пряных и ароматических растений [1].

Между тем, как мы знаем сегодня, молоко и молочные продукты, наряду с высоким содержанием кальция, весьма богаты также магнием. Хорошими источниками магния являются также зелёные части растений (так как хлорофилл растений обязательно содержит магний), овощи, злаки и злаковые отруби, многие виды орехов и семечек, многие пряные и ароматические растения. Таким образом, лечебный эффект «диеты по Гиппократу» при психических и неврологических заболеваниях мог, наряду с другими факторами, такими, как увеличение потребления с пищей кальция, железа, цинка, ряда витаминов, объясняться также увеличением потребления с пищей магния [1, 3, 5].

Ещё одной важной заслугой Гиппократа II перед медициной является введение им в медицину понятия о важности эмпирического наблюдения и эмпирических выводов, и о примате результатов эмпирического наблюдения за больными и их лечением перед результатами мысленного теоретизирования или «умствования» о возможных причинах и природе их заболевания [1, 11].

В рамках этого своего эмпирического принципа, Гиппократ II эмпирически подметил и впервые описал лечебный эффект, который давало как при «мании», так и при «меланхолии» обильное питьё минеральной воды одного определённого, ныне уже не функционирующего, источника на Крите. На этом основании он рекомендовал при обоих этих состояниях – как при «мании», так и при «меланхолии» – обильное питьё, а также приём ванн и введение в клизмы, минеральной воды из этого источника. Современными учёными при анализе осадочных пород из того места, где когда-то функционировал этот источник, установлено, что его минеральная вода содержала высокие концентрации ионов магния, лития и брома [1, 11].

Позднее аналогичные рекомендации по обильному питью минеральных вод ряда источников в Северной Италии, и по применению этих же минеральных вод в виде ванн и в клизмах, давали больным с «манией» и с «меланхолией» Клавдий Гален и Соран Эфесский. Опять-таки, современными учёными установлено, что минеральные воды этих источников тоже содержали высокие концентрации ионов магния, лития и брома [1, 11].

Таким образом, ранняя история применения в медицине солей магния неотделима от ранней истории применения в медицине солей лития и бромидов [1, 11].

Средние века

В так называемые «Тёмные века», во многом из-за догматического влияния католической церкви, значительная часть медицинских знаний древних греков и древних римлян была на долгое время утрачена или забыта. В общепринятых в то время представлениях как широкой публики, так и врачей и учёных о природе психических и соматических заболеваний, и без того не слишком научных даже во времена Гиппократа II и Клавдия Галена, с их «гуморальной теорией» и «четырьмя хуморами», произошёл откат к ещё более древним временам. Теории «одержимости злыми духами», «одержимости дьяволом», или «порчи», как следствия Божьего гнева или Божьего наказания за некие грехи, действительные или мнимые, снова стали популярны в качестве универсального объяснения природы всех заболеваний человека, причём не только психических, но и соматических (но в первую очередь, конечно, психических, как наиболее загадочных и пугающих) [1, 11].

В силу того, что эти религиозно-мистические представления о природе всех заболеваний человека, и в первую очередь психических заболеваний, в Тёмные века вновь возобладали, на протяжении многих столетий в средневековой Европе больных – прежде всего психически больных, но не только их – чаще всего лечили монахи и священники, а не врачи. Применявшиеся ими методы «лечения» нередко состояли в «изгнании бесов», побоях, порке, связывании, применении голода, «молитвы, смирения и покаяния», а также в принуждении больных к занятиям тяжёлым монастырским физическим трудом [1, 11].

Тем не менее, неверно было бы изображать «монастырскую медицину» Средних веков исключительно в мрачных тонах. Многие, хотя и не все, средневековые монастыри в действительности служили не только религиозными и духовными центрами, но и центрами, где сохранялось и приумножалось научное наследие античности, в том числе – научное наследие античной медицины. Средневековые католические монахи старательно переписывали и копировали написанные на латыни труды поздних древнегреческих и древнеримских медиков, в частности, труды Галена и Сорана Эфесского. Некоторые из них пытались применять эти знания и на практике. Во многом благодаря их неустанному труду переписчиков и лекарей-практиков, эти работы смогли дожить до изобретения книгопечатания, а затем и до наших дней [1, 11].

Врачебная и научно-исследовательская деятельность монахов некоторых монастырей, основанная прежде всего на трудах и практиках Галена, в конце концов приобрела такой размах, что затмила собой их основную, религиозную деятельность, и стала отнимать у них больше времени, чем молитвы и богослужебные обряды. Обеспеченный этим фактом Папа в XIV в. издал специальную энциклику, которая запрещала монахам любую врачебную, научно-исследовательскую и иную вне-религиозную деятельность, и предписывала им заниматься прежде всего своим делом – служением Богу. Эта директива имела любопытные и не вполне предвиденные самим Папой последствия. А именно, она сильно способствовала отделению европейской медицины и вообще науки

от религии, а также зарождению первых независимых от церкви университетов и медицинских школ [1].

Древнегреческий, в противоположность латыни, знало незначительное меньшинство монахов Средневековья. Поэтому труды древнегреческих медиков, написанные на греческом (в том числе труды Гиппократ II), часто игнорировались средневековыми монахами – не изучались и не переписывались. Однако эти труды дошли до наших дней «окольными путями» – благодаря тому, что в средневековом исламском мире, а также в средневековых Армении и Грузии, на которые не распространялось влияние католической церкви, учёные и монахи активно изучали и переводили на свои родные языки (арабский, древне-сирийский, фарси, армянский, грузинский) труды древнегреческих медиков [1].

Таким образом, благодаря трудам Галена и Сорана Эфесского, написанным на латыни, слабительный эффект богатых магнием минеральных вод из некоторых источников не был забыт и в Средние века. Благодаря же работам арабских медиков, таких, как Ибн Сина (Авиценна), не пропали в веках и упоминания Гиппократ II о целебном эффекте минеральной воды с Крита при «мании» и «меланхолии» [1].

Позже, в эпоху великого арабского завоевания Южной Европы, когда под их властью оказались вся нынешняя Испания и Португалия и значительная часть нынешней Италии, с трудами арабских медиков, в частности, Авиценны, познакомились и европейские врачи. Это способствовало возрождению интереса европейских медиков к античной (древнегреческой и древнеримской) медицине [1].

Кроме того, даже в эпоху засилья догматов католической церкви, которая запрещала изучать «языческую медицину» и считала любые болезни человека, будь то болезни психические или соматические, проявлением «гнева Божьего», в народе сохранялась вера в целебную силу некоторых источников. Так, в плане лечения психических заболеваний был особенно известен минеральный источник, бывший в небольшом горном селении Сент-Филланс в Шотландии. Современными учёными доказано, что минеральные воды источника Сент-Филланс, опять-таки, чрезвычайно богаты солями магния, лития и брома [1, 11].

Имели в народе репутацию целебных и некоторые другие источники, которые, как мы знаем сегодня, были чрезвычайно богаты сульфатом магния. Таковы, например, источник, бывший в городке Седлиц в Германии, или источник из маленькой деревушки Эгра в Чехии. Многие знаменитые врачи Средневековья, в частности, флорентийка Мария Медичи, активно использовали «Седлицкую соль» или «соль из Эгры», выпаренную из минеральных вод соответствующих источников, в качестве универсального средства лечения любых «внутренних болезней», то есть – заболеваний внутренних органов. Кроме того, использовалась «Седлицкая соль» или «соль из Эгры» также в качестве слабительного и «средства для очищения крови и организма» (последнее – потому, что средневековые врачи, которые по-прежнему придерживались «гуморальной теории» Гиппократ II и Галена, верили в то, что слабительный эффект равносителен «очищению крови и организма» и полезен в лечении почти любого заболевания) [1, 11].

Многие представители высших сословий общества в то время периодически принимали эти соли даже без медицинских показаний и без назначения врача, «просто так», «для профилактического очищения организма»,

полагая это полезным для здоровья. Современными фармакопеями магния сульфат, применяемый внутрь, классифицируется как типичное солевое слабительное [1, 11].

Парацельс

Позднее, уже в XVI в., Парацельс (настоящее его имя – Филипп Ауреол Теофраст Бомбаст фон Гогенгейм) очень интересовался возможностями применения в медицине порошков самых различных минералов, вплоть до драгоценных камней, а также различных минеральных вод и солей, выпаренных из них, и простых химических веществ или их соединений, таких, как ртуть и её хлориды (сулема, каломель), «белый мышьяк» (триоксид мышьяка), сера и другие. Ныне Парацельс считается основоположником всей медицинской химии (ятрохимии), медицинской минералогии, бальнеологии и курортологии [1, 11].

Парацельс много ездил по Европе, изучая при этом местные минералы, местные растения и местные источники минеральных вод, особенно те, которые считались в народе целебными. Он не имел на этот счёт никаких предубеждений, не страдал догматизмом и охотно исследовал те минеральные источники, растения и ископаемые минералы, о которых никто из античных авторов, почитавшихся до него в качестве абсолютных, непрерываемых авторитетов, до него никогда не писал, как о целебных [1, 11].

Изучая состав солей, выпаренных им из знаменитого источника в шотландской деревне Сент-Филланс, Парацельс сумел доказать, что минеральная соль из источника Сент-Филланс очень сходна по основным физико-химическим, органолептическим (вкусовым) и лечебным свойствам с минеральными солями, выделенными им из источников в Северной Италии, о которых упоминали Клавдий Гален и Соран Эфесский, и с отложениями из источника на Крите, о котором упоминал Гиппократ, и что эта соль отличается по своему составу, свойствам и лечебному действию от солей из других минеральных источников, а также от морской или каменной соли [1, 11].

Разумеется, ни точно идентифицировать химический состав этих солей, ни, тем более, разделить их на компоненты, выделив из них соли магния, лития и брома, Парацельс не мог, так как в алхимии того времени ещё не существовало методов для этого. Однако он понимал и неоднократно писал, что соль из источника в деревне Сент-Филланс, так же, как и соли из источников, упоминавшихся Гиппократом и Галеном, пригодна в первую очередь для лечения именно психических заболеваний [1, 11].

Более того, изучая «соль из Эгры» и «Седлицкую соль», состоявшие, как мы знаем сегодня, в основном из сульфата магния, Парацельс не только установил, что они сходны по составу, физико-химическим и органолептическим свойствам и полностью взаимозаменяемы при применении в лечебных целях, но и впервые показал, что эти соли в малых дозах, не вызывающих явного слабительного эффекта, способны при длительном, ежедневном приёме оказывать успокаивающее и противотревожное, или, по его описанию, «умиротворяющее» действие на нервных, тревожных и беспокойных больных, а также уменьшать мышечные подёргивания, нервные тики, бессонницу [1, 11].

Таким образом, Парацельс одним из первых в истории медицины обратил внимание на то, что препараты магния могут быть полезны вовсе не только в качестве слабительных. К сожалению, это открытие Парацельса, как и многие другие его открытия, намного опередило

свое время, и было фактически проигнорировано современниками [1, 11].

Открытие Неемией Гроу «английской соли» и её лечебных свойств

Моментом настоящего прихода препаратов магния в медицину было случайное открытие английским фермером Неемией Гроу в 1695 г. так называемой «Эпсомской соли», или, как её называли за пределами Англии – «английской соли», «горькой соли». Изначально этот фермер заинтересовался вопросом о том, почему минеральная вода, которую давал источник в его родной деревушке Эпсом, имеет очень горький вкус, похожий на вкус морской воды, и почему эту воду из-за её горького вкуса отказываются добровольно пить его коровы [12].

Между тем, вода из этого источника в Англии издавна имела в народе репутацию целебной для самых разных заболеваний – болезней суставов, желудочно-кишечных, сердечных, и даже нервных и психических. Поэтому Н. Гроу хотел найти способ давать эту воду – или соль, выпаренную из неё – своим заболевшим коровам, считая её полезной и целебной. С этой целью он выпарил из минеральной воды этого источника большое количество твёрдой кристаллической соли. Эта соль, как и исходная минеральная вода, из которой она была выделена, имела очень горький вкус. Сегодня мы знаем, что основным компонентом «Эпсомской соли» был магния сульфата гептагидрат ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) [12].

Попытавшись подмешивать эту соль в пищу коровам, Н. Гроу обратил внимание на то, что у больных коров (у многих из которых, вероятно, был дефицит магния из-за обильной лактации и/или из-за не очень хорошего питания) быстрее заживают раны и язвы на коже, последствия укусов насекомых, быстрее проходят «кожные болячки» (зуд, аллергия). Кроме того, он обратил внимание также на сильный слабительный эффект больших доз «Эпсомской соли», и на то, что у коров, страдавших «судорогами» (по-видимому, магниевый и кальций-дефицитной тетанией, которая вовсе не редкость при обильной лактации у коров и сегодня), при добавлении небольших количеств «Эпсомской соли» в пищу судороги купируются. Слух об этом открытии Н. Гроу быстро распространился сначала в Англии, а потом и за её пределами [12].

Таким образом, хотя магния сульфат, в виде «Седлицкой соли» или «соли из Эгры», был известен до того, а его полезность, помимо вызывания его большими дозами слабительного эффекта, в том числе полезность ежедневного приёма его малых доз для купирования судорог, тиков и для лечения психических заболеваний была впервые показана ещё Парацельсом, настоящую популярность в медицине магния сульфат, уже под названием «английской соли», получил только после открытия Н. Гроу, который снова «переоткрыл», хотя и на коровах, а не на человеке, что «английская соль» – это далеко не только слабительное [12].

Массимилиано Валентини и его «магнезия альба»

Некоторые средневековые врачи и аптекари, практиковавшие в разные исторические периоды, с XVI в. по начало XVIII в., продавали таинственную «белую глину». Секрет приготовления этой «белой глины» держался ими в строжайшей тайне. Согласно утверждениям продавцов, этот секрет якобы передавался из поколения в поколение во врачебных и аптекарских семьях. Этот белый порошок

помогал от болей в желудке, изжоги и повышенной кислотности желудка [5, 13].

Средневековый итальянский врач Массимилиано Валентини, практиковавший в немецком городке Гессен, не обладал этим сокровенным знанием, но очень желал разгадать тайну этой «белой глины». Экспериментируя с различными белыми порошками и сравнивая их с покупной «белой глиной», в 1707 г. он впервые выделил некий белый порошок (который, как мы сегодня знаем, представлял собой оксид магния, MgO) с помощью добавления гашёной извести к раствору, который образовывался как технологические отходы при производстве калийной селитры (KNO_3). Затем он сумел доказать, что этот белый порошок идентичен по своим физико-химическим, органолептическим и лечебным свойствам с покупной «белой глиной», состав и способ производства которой, как мы помним, держался в строжайшем секрете [5, 13].

Этот побочный продукт производства калийной селитры М. Валентини назвал «магнезия альба», то есть «белая магнезия». Этот белый порошок либо в сухом виде, либо в виде мелкодисперсной болтушки, суспензии в воде – так называемого «молочка магнезии» (*milk of magnesia*) – вскоре стали широко применять в медицине, и как антацидное средство при гастрите и язвенной болезни желудка или двенадцатиперстной кишки, и как слабительное – причём более мягкое, чем «английская соль», и как компонент присыпок на кожу при кожных заболеваниях, сопровождающихся мокнутием, зудом. Во всех этих ролях оксид магния применяется в медицине и по сей день [5, 13].

Кроме того, с этого времени выделенную М. Валентини «белую магнезию» пытались также применять при самых различных других заболеваниях – и телесных, и душевных. Некоторые врачи того времени даже считали «белую магнезию» «панацеей от всех болезней тела и души». Однако в то время и врачи, и химики нередко путали «белую магнезию» (гидроксид или оксид магния – $Mg(OH)_2$ или MgO), и «известковые земли» (гашёную или негашёную известь – $Ca(OH)_2$ или CaO , соответственно) [5, 13].

Только полвека спустя после открытия М. Валентини «белой магнезии», в 1755 г., английский химик Дж. Блэк провёл различие между «белой магнезией» и гашёной или негашёной известью на основании различия их химических свойств [5, 13].

Открытие Хэмфри Дэви металлического магния

Сам металлический магний, как таковой, был впервые получен ещё позже, в 1808 г., великим английским химиком сэром Хэмфри Дэви. Занимаясь изучением химического состава и свойств «щелочных земель» (как в то время называли оксиды щелочных и щёлочноземельных элементов), Х. Дэви сумел при помощи электролиза расплавов различных оксидов щелочных и щёлочноземельных металлов получить амальгамы с ртутью следующих металлов: двух щелочных (натрия и калия), и четырёх щёлочноземельных (магния, кальция, стронция и бария). Затем, выпарив ртуть, он получил сами эти металлы [5, 14].

Так же, как и в случае с предложенными Х. Дэви англоязычными названиями для щелочных металлов, происходившими от названий тех природных минералов или соединений, из которых они были первоначально получены («содиум», то есть натрий – из соды, натрона, «потассиум», то есть калий – из поташа, кали) – он предложил назвать открытые им щёлочноземельные металлы

по традиционным названиям их оксидов или их природных минералов. Соответственно, «барита», «стронция», «хальк» (мел), «магнезия» дали в устах Х. Дэви следующие названия открытым им щёлочноземельным металлам: «барий», «стронций», «кальций», «магний» [5, 14].

Однако по историческим причинам предложенное Х. Дэви название «магний» не прижилось в английском языке. Вместо него общеупотребительным в английском языке для химического элемента, получаемого из «магнезии альба», стало название «магнезий» [5, 14].

В 1828 г. французский химик Анри Бюсси, с помощью восстановления безводного магния хлорида металлическим калием, впервые сумел получить в больших количествах почти чистый металлический магний – гораздо более чистый, чем тот металл, который в 1808 г. впервые получил Х. Дэви [5, 15].

В 1833 г. Майкл Фарадей из Лондона впервые получил чистый металлический магний в ещё большем количестве, с помощью электролиза расплава магния хлорида. Вскоре после этого электролитический метод получения магния полностью вытеснил более старые способы производства магния [5, 16].

Франсуа Жюле и открытие курареподобного эффекта высоких доз магния

Первые современные исследования по изучению фармакокинетических и фармакодинамических свойств солей магния при парентеральном введении их высоких доз были проведены французскими исследователями [5, 17].

Так, ещё в 1869 г. Франсуа Жюле показал, что внутривенное введение высоких доз магния собакам вызывает у них курареподобное состояние, а именно паралич периферических мышц, включая мышцы, участвующие в обеспечении акта дыхания, и, как следствие, остановку дыхания. К несчастью, Ф. Жюле не сумел понять, что это действие высоких доз магния является не физиологическим, и даже не фармакологическим, а токсическим по своей сути. Он не понял, что курареподобный мышечно-расслабляющий эффект и остановка дыхания являются признаками грубой острой передозировки магния, а не проявлениями его нормального физиологического или пусть даже фармакологического действия [5, 17].

Поэтому Ф. Жюле, на основании вышеприведённых результатов своих экспериментов с внутривенным введением высоких доз магния собакам, ошибочно заключил, что магний, будто бы, «является физиологическим, эндогенным мышечно-расслабляющим, курареподобным агентом» [5, 17].

Жюль Гаубе дю Герс и открытие им жизненной важности магния для животных

Впервые предположение о том, что магний может быть критически важным и необходимым элементом для жизни и развития человека и животных, выдвинул французский врач Жюль Гаубе дю Герс в 1875 г. Он показал, что у мышей, которых кормили только специально изготовленным хлебом, содержащим очень мало магния, и поили только дистиллированной водой, не содержащей растворённых в ней солей магния, развивалось прогрессирующее бесплодие, ухудшалось качество шерсти. В дальнейшем эти мыши теряли вес, слепли и глохли, утрачивали обоняние, а затем гибли в судорогах. Однако при добавлении небольших количеств оксида или карбоната

магния в пищу животных все эти нежелательные явления быстро купировались [5, 18].

Вместе с тем, эксперименты Ж. Гаубе дю Герса, безусловно, не были «чистыми», строго доказательными и научно корректными по сегодняшним меркам. Дело в том, что диета, которой он кормил своих мышей, безусловно, была дефицитна совсем не только по магнию [5, 18].

Тем не менее, несмотря на эту «нечистоту» условий своего эксперимента, Ж. Гаубе дю Герс первым сумел правильно понять и оценить важную биологическую роль магния в животном организме. Он писал, что «магний является металлом, жизненно необходимым всякому животному для двух самых ценных вещей в жизни – для воспроизведения потомства и для сохранения способности чувствовать жизнь, обонять её, видеть и слышать её» [5, 18].

К сожалению, открытие Ж. Гаубе дю Герса значительно опередило своё время. Значение этого открытия было не понято современниками, а само открытие проигнорировано и забыто [5, 18].

Джон Мельтцер и Джон Леб

В период с 1899 г. по первые годы XX в. ту же самую ошибку, что и Ф. Жюле тридцатью годами ранее – ошибку смешения физиологических, фармакологических и токсикологических данных об эффектах разных доз магния при разных путях его введения – допустили двое учёных из США, независимо друг от друга изучавших эффекты больших доз магния при его введении в организм – Дж. Леб и Дж. Мельтцер [5, 19].

Джон Мельтцер в этот период изучил и в нескольких статьях подробно описал седативное, противотревожное, снотворное, анестетическое (вызывающее общую анестезию, или «хирургический наркоз»), гипотензивное, сосудорасширяющее и анальгетическое действие высоких доз магния при его введении в вену. На основании своих экспериментов он посчитал, что, будто бы, магний является «эндогенным снотворно-седативным веществом», и будто бы он играет важную роль в регуляции нервно-психической возбудимости, сна и бодрствования, уровня тревоги и болевой чувствительности, а также артериального давления и сосудистого тонуса [5, 19].

Кроме того, Дж. Мельтцер также был первым учёным, который показал, что негативные эффекты передозировки магния, такие, как чрезмерная седация или сонливость, наркоз или коматозное состояние, мышечная слабость вплоть до паралича мышц, брадикардия, гипотензия и даже остановка дыхания, могут быть быстро устранены внутривенным введением препаратов кальция. То есть, он впервые показал, что магний и кальций являются своего рода физиологическими антагонистами, и что препараты кальция могут служить антидотом (противоядием) при отравлении препаратами магния или при их случайной или намеренной передозировке. Открытие Дж. Мельтцером того факта, что кальций является мощным, быстрым и надёжным антидотом при отравлении магнием или при его передозировке, сделало терапию высокими дозами магния, вводимого в вену, более безопасной – не только по факту, но и в сознании врачей. Это способствовало её широкому распространению и популярности [5, 19].

В тот же исторический период другой американец, Джон Леб, изучая влияние вводимого внутривенно в высоких дозах магния, сумел воспроизвести полученные ещё в 1869 г. Ф. Жюле данные о курареподобном

мышечно-расслабляющем и парализующем действии высоких доз магния на поперечнополосатую мускулатуру, и показал, что это действие магния тоже снимается внутривенным введением кальция. Кроме того, Дж. Леб также отметил сильное спазмолитическое действие высоких доз магния на тонус гладкой мускулатуры бронхов, желчного пузыря, кишечника, мочеточников, мочевого пузыря и других внутренних органов [5, 20, 21].

На этом основании Дж. Леб, ошибочно смешав данные о физиологических, фармакологических и токсических эффектах разных доз магния, предположил, что, будто бы, магний в балансе с кальцием «является одним из важнейших гуморальных факторов, контролирующих и регулирующих нервно-мышечную возбудимость». Он включил уровень магния в плазме крови в свою теорию «коэффициентов нервно-мышечной возбудимости» в качестве одного из факторов или множителей в знаменателе, то есть в качестве фактора, уменьшающего нервно-мышечную возбудимость. Уровень же кальция в плазме крови Дж. Леб, наоборот, включил в качестве одного из факторов или множителей в числителе предложенного им «коэффициента», то есть в качестве фактора, повышающего нервно-мышечную возбудимость [5, 20, 21].

На основании этих наблюдений Дж. Мельтцера и Дж. Леба, с конца XIX в. и особенно в начале XX в. внутривенное и внутримышечное введение больших доз магния сульфата стали широко практиковать при лечении столбняка, тетании, спазмофилии, преэклампсии и эклампсии беременных, при купировании эпилептических и других судорог, в том числе судорог на фоне заболеваний почек, а также при лечении различных спазмов гладкой мускулатуры – приступов бронхиальной астмы, почечных, желчекаменных и кишечных колик, и при купировании острого психомоторного возбуждения у психически больных [5].

В случаях передозировки магния или интоксикации магнием, в частности, при развитии после его введения признаков угнетения дыхания, выраженной мышечной слабости, брадикардии или гипотензии, чрезмерной сонливости или седации, врачи, также начиная с конца XIX в., применяли внутривенное введение препаратов кальция в качестве противоядия. Опять-таки, это применение кальция в качестве антидота при отравлении магнием или при его передозировке основывалось на наблюдениях Дж. Мельтцера и Дж. Леба об их взаимном антагонистическом влиянии в фармакологических дозах [5].

Важно, однако, понимать, что хотя ранние наблюдения Дж. Мельтцера и Дж. Леба по поводу фармакологических и токсических эффектов высоких доз магния при их пероральном или парентеральном введении по сей день актуальны и представляют не только исторический, но и большой научный интерес, из наблюдений о фармакологических и токсических эффектах больших доз магния совершенно неправильно выводить или экстраполировать представления о физиологических его свойствах и об его физиологической роли в организме человека и животных, как сделали эти двое учёных [5].

Доказательства той или иной физиологической роли магния в организме человека или животных, на самом деле, могут быть получены только с помощью демонстрации возникновения тех или иных специфических симптомов дефицита магния после искусственного лишения его поступления с пищей и водой, и демонстрации последующего полного исчезновения этих же симптомов

при возобновлении перорального поступления в организм нормальных физиологических количеств магния с пищей и водой [5].

Тем не менее, интересно отметить, насколько современными и даже опередившими своё время, и насколько соответствующими сегодняшним научным данным, являются гипотезы, выдвинутые более 100 лет назад Дж. Мельтцером и Дж. Лебом относительно этиологической и патогенетической роли дефицита магния в развитии тетании, спазмофилии, преэклампсии и эклампсии беременных, эпилепсии и других судорожных состояний, а также в развитии гипертонической болезни, бронхиальной астмы, сердечных аритмий, хронических болевых синдромов и психических проблем, таких, как тревожные и депрессивные состояния, неврозы, психомоторное возбуждение, бессонница. Вместе с тем, следует отметить, что это лишь немногие удачные примеры предположений учёных прошлого об этиопатогенетической роли дефицита магния в развитии тех или иных заболеваний – предположений, которые впоследствии были подтверждены современными учёными [5].

Между тем, об этиопатогенетической роли дефицита магния в развитии тех или иных заболеваний было выдвинуто и множество других спекулятивных предположений, которые впоследствии не подтвердились. Интересно отметить, что мало какой другой необходимый организму химический элемент или витамин порождал в медицине столько энтузиазма и столько же разочарований, сколько их породил магний [5].

Приблизительно в 1900 г. была впервые установлена критически важная роль магния для жизни и развития как наземных растений, так и водорослей, и низших грибов [5].

В том же 1900 г. было впервые показано, что в семенах различных видов растений содержание магния значительно выше, чем в других частях этих же растений, и что эмбрионы лягушки и морского конька на ранних этапах своего развития активно накапливают магний из внешней среды. Было также показано, что содержание магния в эмбриональных тканях самых разных видов животных выше, чем в тканях взрослого организма [5].

Это породило теорию о том, что магний критически необходим для эмбрионального развития как растений, так и человека и животных, и что он, вероятно, нужен для обеспечения процесса размножения и дифференцировки клеток – теорию, которая, как мы знаем сегодня, оказалась верной [5].

Поль Делбет и его теория дефицита магния как первопричины для многих заболеваний

Знаменитый французский хирург и уролог Поль Делбет, который известен прежде всего своими усовершенствованиями техники многих хирургических и урологических вмешательств, был одним из первых, кто попытался применить на практике описанный Дж. Лебом и Дж. Мельтцером в начале XX в. «магнезиальный наркоз». Вскоре, столкнувшись с такими проявлениями острой токсичности магния, как остановка дыхания, тяжёлая гипотензия и коллаптоидное состояние, и даже остановка сердца, при тех дозах магния сульфата, которые требовались для вызывания им хирургической стадии наркоза в монотерапии, П. Делбет отказался от этой практики [5, 22].

Вместо этого П. Делбет стал применять внутривенное вливание магния сульфата в меньших дозах, как адьювант-

ный, дополнительный метод хирургической анестезии, в комбинации с применением эфира или хлороформа, или в качестве премедикации перед введением в наркоз. При этом он обратил внимание на то, что при применении магния сульфата в качестве премедикации перед эфирным наркозом значительно сокращалась стадия возбуждения, облегчалось засыпание (введение в наркоз), а при применении его перед наркозом хлороформом снижался риск сердечных аритмий, которые хлороформ давал очень часто. Кроме того, в обоих случаях магния сульфат усиливал анальгетическое и снотворное действие основного анестетика, а также расслабление мышц, и позволял снизить концентрацию паров анестетика в испарителе [5, 22].

Таким образом, эксперименты П. Делбета с премедикацией сульфатом магния перед эфирным или хлороформным наркозом являются одним из исторически первых, если не вообще первым, примером применения в анестезиологии принципа «потенцированного наркоза» [5, 22].

Заинтересовавшись этими эффектами магния сульфата при внутривенном его введении, П. Делбет стал целенаправленно искать и изучать всю литературу, связанную с магнием в медицине. В результате своих литературных изысканий П. Делбет обнаружил ранние отчёты Н. Гроу об успешном лечении «английской солью» экземы и судорог у коров, а также упоминания об эффекте минеральных солей из богатых магнием источников при нервных и психических заболеваниях у Парацельса, и у древнегреческих и древнеримских авторов [5, 23, 24].

На этой почве П. Делбет стал горячим сторонником, «адвокатом» и пропагандистом терапии препаратами магния, как внутрь, так и парентерально. Не имея для того веских научных оснований, П. Делбет, тем не менее, выдвинул умозрительную гипотезу, в которой придавалось большое значение дефициту магния в развитии сердечно-сосудистых, психических, эндокринных и аутоиммунных заболеваний, аллергий и атопий, различных видов рака, скрытых иммунодефицитных состояний, а также в распространении эпидемий инфекционных заболеваний среди угрожаемых популяций (прежде всего – среди людей со скрытым иммунодефицитом на почве дефицита магния) [5, 23, 24].

Более того, П. Делбет даже связывал частоту суицидов в той или иной популяции с распространённостью в ней дефицита магния, с содержанием магния в местной воде и в традиционном рационе местных жителей. На этом основании П. Делбет видел препараты магния как своеобразную «панацею» едва ли не от всех упомянутых заболеваний, и широко рекомендовал приём препаратов магния для их предупреждения и лечения [5].

Некоторые из предположений П. Делбета о роли дефицита магния в этиологии и патогенезе ряда заболеваний впоследствии подтвердились современными исследованиями, другие были отвергнуты, как необоснованные. С другой же стороны, скептики магниевой терапии считали, что магний, безусловно, является важным и физиологически необходимым элементом, но пока его биологическая и физиологическая роль до конца не изучена и не понята, его применение в медицине должно быть ограничено случаями его явного клинического дефицита. Скептики также считали, что роль дефицита магния в этиологии и патогенезе различных заболеваний неясна, не установлена достоверно, или намеренно преувеличивается «адвокатами» и «энтузиастами» магниевой терапии,

а риски передозировки магния или интоксикации им, наоборот, ими систематически недооцениваются [5].

Сегодняшние научные данные позволяют отвергнуть обе эти крайние точки зрения – как чрезмерно энтузиастическую по отношению к магниевой терапии (в духе П. Делбета), так и необоснованно скептическую [5].

Виктор Гриньяр и Рихард Вильштеттер

В 1912 г. французский химик-органик Франц Август Виктор Гриньяр (1871–1935) был удостоен Нобелевской премии по химии за свои пионерские работы по описанию, классификации и изучению химических свойств и реакционной способности различных магнийорганических соединений. В частности, химические соединения, названные в его честь «реактивами Гриньяра» – это магнийорганические соединения с общей химической формулой RMgX , где R – алкильная или арильная группа, а X – атом галогена. Эти важные соединения – «реактивы Гриньяра» – ныне активно используются в качестве удобных промежуточных реагентов в целом ряде важных промышленных органических синтезов, в частности, в производстве силикона [5].

Немного позже, в 1915 г., немецкий химик-органик еврейского происхождения Рихард Мартин Вильштеттер (1872–1942) получил Нобелевскую премию по химии за свою расшифровку химического строения молекулы хлорофилла. Именно Р. Вильштеттер сумел доказать, что молекула хлорофилла состоит из системы порфириновых колец с ковалентно связанным атомом магния в центре этой системы, и с боковым фитоловым радикалом [5].

Оба этих важных научных открытия, связанных с магнием – как открытие В. Гриньяром «реакции Гриньяра» и в целом изучение магнийорганических соединений, так и расшифровка Р. Вильштеттером химического строения молекулы хлорофилла и открытие роли магния в работе хлорофилла – послужили основанием для возникновения у учёных большого интереса к изучению роли магния в физиологии растений и почвенных микроорганизмов [5].

Кроме того, эти два открытия послужили также основанием для начала широкого научно обоснованного использования препаратов магния, таких, как измельчённый доломит или магнезит, в составе удобрений и фертилизаторов (подкормки) для повышения урожайности различных растений. Эмпирически же подобная подкормка сельскохозяйственных растений, так же, как и подкормка их золой сожжённых растений, тоже содержащей много калия и магния, практиковалась людьми издавна, едва ли не с самого начала оседлой жизни человечества и его сельскохозяйственной деятельности [5].

По аналогии с растениями и почвенными микроорганизмами, значительное внимание учёных начала XX в. эти открытия привлекли и к изучению возможной биологической роли магния в организмах человека и животных [5].

Жак Лерой и первое строгое доказательство жизненной необходимости магния для организма человека и животных

В 1926 г. французский врач и биохимик Жак Лерой заново «переоткрыл» установленный впервые Ж. Гаубе дю Герсом в 1875 г. факт критической необходимости достаточного поступления магния с пищей и водой для поддержания нормальной жизнедеятельности, размно-

жения, роста и развития экспериментальных животных, таких, как мыши, крысы, кролики и морские свинки [5, 25].

В отличие от экспериментов Ж. Гаубе дю Герса, эксперименты Ж. Лероя исключали из пищи и воды лабораторных животных только магний и строго контролировали достаточность поступления в их организм всех остальных питательных веществ (белков, жиров и углеводов), витаминов и химических элементов, необходимость которых для их нормальной жизнедеятельности, размножения, роста и развития была достоверно установлена другими учёными к моменту постановки Ж. Лероем своих опытов [5, 25].

Не для всех химических элементов и витаминов, которые ныне признаются необходимыми организму, их жизненная необходимость была известна и доказана к 1926 г. Например, до работ Ананда Прасада было неизвестно о важной биологической роли цинка. Однако Ж. Лерою случайно повезло в том отношении, что разработанная им диета для лабораторных животных не была дефицитной по тем витаминам и микроэлементам, о роли которых в жизнедеятельности, размножении, росте и развитии животных ещё не было известно в его время. Именно эта случайность позволила ему установить биологическую роль магния и его жизненную важность для организма лабораторных животных [5, 25].

Эта случайность также позволила Ж. Лерою доказать, что введение магния в рацион животных, дефицитный по магнию, способно устранить все наблюдаемые у лабораторных животных симптомы нарушения жизнедеятельности, то есть, что эти симптомы вызываются дефицитом именно магния. Такое доказательство было бы невозможным, будь диета Ж. Лероя дефицитна ещё по какому-то микроэлементу или витамину, о роли которого он не знал [5, 25].

Поэтому эксперименты Ж. Лероя признаются достаточно корректными с научной точки зрения по сей день. Именно с 1926 г., с открытия Ж. Лероя, принято отсчитывать момент установления факта жизненной необходимости магния для организма человека и животных, а также начало современной эпохи исследований биологической роли магния [5, 25].

Но ещё более важно то, что открытие Ж. Лероем жизненной необходимости магния для нормального функционирования организма животных, для их размножения, роста и развития, в отличие от более раннего открытия Ж. Гаубе дю Герсом этого же факта, легло на хорошо подготовленную исследованиями других учёных о физиологических и фармакологических эффектах парентерального введения больших доз магния, а также теориями П. Делбета о роли дефицита магния в развитии самых различных патологий почку, и привлекло значительное внимание учёных к дальнейшему изучению биологической роли магния [5, 25].

Установление основных признаков дефицита магния в 1930-х годах

В 1933 г. Крузе с соавторами повторили эксперимент Ж. Лероя и сумели показать, что дефицит магния в рационе крыс вызывает у них множественные неблагоприятные эффекты, в зависимости от степени дефицита варьирующие от нарушения роста и развития, замедления прибавки массы тела, ухудшения качества шерсти, до бесплодия, судорог и летального исхода [5, 25].

В серии статей, опубликованных в начале и середине 1930-х годов, две разные группы американских учёных – группа Э. В. Мак-Коллума и группа Д. М. Гринберга – независимо друг от друга подробно описали и охарактеризовали основные неблагоприятные биохимические и физиологические эффекты, которые вызывает дефицит магния в рационе разных видов грызунов. Таким образом, они установили не просто жизненную важность магния для организма животных, но необходимость ежедневного поступления, как минимум, определённого его количества (минимальных физиологических доз магния) для нормального протекания соответствующих биохимических и физиологических процессов [26, 27, 28].

Обе вышеупомянутые группы исследователей сумели убедительно доказать, что полное или частичное лишение экспериментальных животных поступления магния с пищей и водой имеет многочисленные неблагоприятные последствия для роста, физического и интеллектуального развития животных, для их общего состояния здоровья, для их продолжительности жизни, их фертильности (способности к размножению), для состояния их костей, зубов, кожных покровов и шерсти, нервно-мышечного аппарата, эндокринной системы, для их гормонального баланса, биохимических показателей крови и мочи, показателей работы системы кроветворения и иммунитета [26, 27, 28].

Этим же двумя группами учёных – группой Э. В. Мак-Коллума и группой Д. М. Гринберга – также была впервые убедительно показана специфическая обратимость всех этих биохимических и физиологических нарушений у экспериментальных животных после возобновления перорального поступления нормальных физиологических количеств магния в их организм с пищей и водой. Полученные этими исследователями данные заложили научную основу для применяемого по сей день диагностического теста на дефицит магния у человека и животных при помощи пробного лечения физиологическими заместительными дозами магния перорально (диагностика *ex juvantibus*). При этом, если вскоре после начала такого пробного лечения какие-то симптомы заболевания устраняются или ослабевают, то правомерно делать вывод о том, что эти симптомы были изначально связаны именно с дефицитом магния [26, 27, 28].

Полученные этими двумя группами исследователей в начале и середине 1930-х годов первые экспериментальные данные о роли дефицита магния в развитии тех или иных физиологических, биохимических, эндокринных и иммунологических нарушений у животных послужили основой для широкого клинического интереса к установлению той роли, которую играют нарушения обмена магния или его дефицит в этиологии и патогенезе самых разных заболеваний у человека и животных, в период между 1930-ми и 1960-ми годами [26, 27, 28].

Установление этиологической роли дефицита магния в развитии некоторых патологий человека и животных

В 1932 г. были опубликованы наблюдения датского учёного Б. Селема о роли дефицита магния, наряду с дефицитом кальция, в развитии тетании и спазмофилии у лактирующих коров, кобылиц и овец. Эти наблюдения не были исторически первыми, так как первым подобное явление отметил ещё английский фермер Н. Гроу, перво-

открыватель «Эпсомской соли». Однако на фоне накопления всё большего массива данных о биологической роли магния и о том, что его дефицит, среди прочего, проявляется также повышенной нервной возбудимостью, тетано-подобными симптомами (включая знаменитые симптомы Хвостека и Труссо, ранее считавшиеся патогномичными только для гипокальциемии), эпилептиформными судорогами и мышечными подёргиваниями, данное сообщение Б. Селема привлекло гораздо большее внимание учёных всего мира, чем в своё время открытие Н. Гроу [5, 29].

В том же 1932 г. американские учёные Э. Б. Флинк и В. С. Уокер, независимо друг от друга, впервые описали острые неврологические, психические и сердечно-сосудистые (сердечные аритмии, тахикардия, склонность к артериальной гипертензии или, реже, гипотензии) проявления дефицита магния у человека при алкоголизме, кокаиновой и опиной наркомании, при синдромах мальабсорбции, поносе или рвоте, а также при эндокринных и метаболических заболеваниях, в частности, при нарушениях функции паращитовидных желёз, коры надпочечников, щитовидной железы. Они также впервые продемонстрировали быструю обратимость этих нарушений у человека после внутривенного или внутримышечного введения препаратов магния [30, 31, 32].

С момента этого открытия Э. Б. Флинка и В. С. Уокера, то есть с 1932 г., препараты магния внутрь, внутривенно или внутримышечно стали широко использовать в лечении больных алкоголизмом, наркоманиями (в том числе при купировании алкогольного, кокаинового и опиатного абстинентного синдромов, алкогольного делирия, других алкогольных психозов), а также в качестве заместительной терапии дефицита магния при синдромах мальабсорбции, поносе, рвоте, при различных эндокринных и метаболических заболеваниях, при тетании и спазмофилии [30, 31, 32].

Стоит особо отметить, что оба этих учёных – как Э. Б. Флинк, так и В. С. Уокер, в дальнейшем посвятили всю свою жизнь изучению биологических и фармакологических эффектов магния. Перу В. С. Уокера принадлежит одна из первых монографий, всецело посвящённых роли магния в человеческом организме и применению препаратов магния в лечении различных заболеваний – книга «Magnesium and Man», увидевшая свет в 1980 г. [32].

Изучение исторических данных показывает, что именно с 1932 г., то есть с момента начала широкого применения препаратов магния при острых алкогольных психозах и при алкогольном делирии, а также при поносе и рвоте, во всём мире значительно снизилась смертность от таких осложнений алкогольного делирия или острых синдромов мальабсорбции, как судороги, тяжёлая гипотензия, коллаптоидные состояния, сердечные аритмии [5, 32].

Изобретение атомной абсорбционной спектрофотометрии

В 1955 г. австралиец А. Уэлш показал, каким образом можно использовать атомную абсорбционную спектрофотометрию для быстрого, надёжного и очень точного количественного определения содержания магния в биологических жидкостях или образцах тканей. Это имело важное научное значение для всех последующих исследований роли магния в организме человека и животных [5, 33, 34].

Появление первых доказательств связи риска сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний с субклиническим дефицитом магния

В конце 1950-х годов, независимо друг от друга, японец Ж. А. Кобаяши (в 1957 г.) и американец Х. Шредер (в 1958 г.) сумели показать, что между общей жёсткостью питьевой воды (которая обусловлена в основном содержанием в ней кальция и магния) и риском сердечно-сосудистых заболеваний и злокачественных новообразований в том или ином регионе мира существует обратная корреляция [5, 35, 36].

В последующем интерес учёных сместился в область изучения менее острых, менее ярких и явных проявлений дефицита магния, в том числе изучения долгосрочных неблагоприятных последствий его хронического субклинического, бессимптомного дефицита. Пионерами в этой области были американец Майкл Селиг и француз Жан Дурлах, которые в 1960-х годах, независимо друг от друга, на основании изучения больших массивов эпидемиологических данных, сумели доказать, что среднее суточное потребление магния и кальция (особенно магния) с пищей и водой во многих регионах мира – в том числе в развитых, цивилизованных странах – на самом деле слегка недостаточно, или даже маргинально (находится буквально на грани явного дефицита), и не покрывает истинных потребностей организма в этих элементах. Они также впервые убедительно доказали, что риск развития сердечно-сосудистых заболеваний и злокачественных новообразований имеет обратную корреляцию со средним суточным потреблением магния и кальция с пищей и водой [5, 37].

Современный период

В 1971 г. состоялся Первый международный симпозиум по магнию. Это был представительный международный научный форум, посвящённый изучению роли дефицита магния или нарушений его обмена в этиологии и патогенезе различных заболеваний у человека и животных. То, какой интерес вызывает магний у учёных всего мира в этом контексте, видно из следующих цифр: уже в этом первом симпозиуме участвовало 350 специалистов из 52 стран. Результатом работы данного симпозиума стал толстый двухтомник его трудов, общим объёмом более 1500 страниц, с библиографией из суммарно более чем 25 000 ссылок, которые были проанализированы авторами статей, представленных в этом сборнике. Многие из представленных на том симпозиуме работ, касающихся роли дефицита магния или нарушений его обмена в этиологии и патогенезе различных заболеваний у человека и животных, не потеряли актуальности по сей день, несмотря на то, что с 1971 г. до наших дней прошло почти 50 лет [5, 38, 39].

Результатом работы Первого международного симпозиума по магнию стало также создание международного Общества по продвижению исследований магния (Society for the Development of Research on Magnesium, сокращённо SDRM), учреждение международных координирующих структур этого общества, а затем создание национальных Обществ по продвижению исследований магния в разных странах [5, 38, 39].

После появления Общества по продвижению исследований магния (SDRM), работа учёных из разных стран, занимающихся исследованиями биологической и этиопатогенетической роли магния, значительно ускорилась и

интенсифицировалась, за счёт широкой международной кооперации и упрощения обмена информацией. Это привело к взрывному росту количества публикаций, посвящённых изучению роли магния в этиологии и патогенезе тех или иных заболеваний, в протекании различных биохимических и физиологических процессов и т. д. Кроме того, само Общество по продвижению исследований магния (SDRM) также выступило публикатором целого ряда книг, посвящённых роли магния в биологии и медицине: как сборников трудов организованных этим обществом научных конференций и симпозиумов по магнию [5, 38, 39], так и отдельных монографий по магнию [5, 40, 41].

Кроме того, Международное Общество по продвижению исследований магния (SDRM) также либо само основало, либо помогло учёным из разных стран основать целый ряд журналов, посвящённых либо исключительно исследованиям магния, либо металломике и элементомике в целом, то есть изучению биологической роли самых разных металлов и вообще химических элементов, не только магния. Самым известным и уважаемым среди этих журналов является журнал *Magnesium Research*, официальный орган самого Международного Общества по продвижению исследований магния (SDRM) [5].

Существуют также авторитетные журналы национальных Обществ по исследованию магния или по элементомике. Например, в Японии есть Журнал японского общества исследований магния (*Journal of the Japanese Society for Magnesium Research*), в Румынии – Информационный бюллетень румынского общества исследований магния (*Buletin informativ al societatii romane de cercetare a magneziului*), а в Польше – Журнал элементологии (*Journal of Elementology*) [5].

Особого упоминания заслуживают несколько важнейших идей, зародившихся именно в современный период исследований биологической роли магния в организме человека и животных.

Первая идея состоит в том, что магний весьма важен для функционирования всех органов и систем организма, каждой его клетки в каждом органе или ткани. Он выполняет огромное количество различных биохимических и физиологических функций не только в организме в целом, но и в каждой отдельно взятой его клетке. Поэтому исследования, посвящённые изучению биологической роли магния в организмах человека и животных, а также изменениям гомеостаза магния в норме и при различных патологических состояниях, имеют важное значение для всех областей медицины, а не только для какой-либо одной или нескольких её областей [5].

Вторая важная идея состоит в том, что наиболее частые и типичные проявления симптомов первичного дефицита магния в популяции чаще всего являются следствиями длительного, хронического «маргинального» (пограничного, то есть лишь ненамного ниже нижней границы нормы), или даже «субклинического» (строго на нижней границе нормы, или ненамного выше её) дефицита потребления магния с пищей и водой. Экспериментально последствия длительного маргинального или субклинического дефицита магния у животных впервые изучил Оскар Геро (*Oscar Heroux*) в 1972 г. [5, 42].

Благодаря постоянному накоплению данных, в последние десятилетия становятся всё более понятными и всё лучше документированными неблагоприятные последствия и клинические проявления хронического

«маргинального» или «субклинического» дефицита магния, особенно со стороны психики, нервно-мышечной, сердечно-сосудистой, иммунной и эндокринной систем. Так, в частности, ныне достоверно установлена роль хронического маргинального или субклинического дефицита магния как важного фактора риска развития целого ряда сердечно-сосудистых, онкологических, аутоиммунных, аллергических и ревматических заболеваний, а также депрессий и тревожных состояний, хронической бессонницы, сахарного диабета 2-го типа, ожирения, остеопороза. Описана также нормокальциемическая латентная тетания, как одно из проявлений хронического маргинального или субклинического дефицита магния. Кроме того, документирована связь хронического дефицита магния с пролапсом митрального клапана [5, 42, 43].

Третий важный факт, установленный современными исследованиями, состоит в том, что меры, направленные на коррекцию вторичного дефицита магния, развивающегося при тех или иных заболеваниях, часто оказываются неэффективными или недостаточно эффективными без устранения вызвавшей этот дефицит этиологической первопричины (то есть без эффективного этиотропного лечения самого заболевания) и/или без вмешательства в патогенетические механизмы, вызывающие развитие вторичного дефицита магния при данном заболевании. Однако этиотропное и/или патогенетическое лечение в настоящее время доступно и разработано далеко не для всех заболеваний, способных вызвать вторичный дефицит магния. И даже при тех заболеваниях, для которых этиотропное и/или патогенетическое лечение в настоящее время уже существует, оно далеко не всегда оказывается достаточно эффективным и достаточно безопасным у конкретного пациента. Иногда же такое лечение оказывается вообще неэффективным, или вообще невозможным у конкретного пациента, по тем или иным причинам [5, 42, 44].

В подобных случаях адекватное симптоматическое применение препаратов магния для коррекции его вторичного дефицита, вызванного тем или иным заболеванием, является весьма оправданным, учитывая доказанную важную роль первичного дефицита магния в этиологии и патогенезе многих заболеваний, а также то, что вторичный дефицит магния может накладываться на проявления основного, первичного заболевания, усугублять или усиливать их, или способствовать их хронификации, порождая тем самым патофизиологический порочный круг [5, 42, 44].

Четвёртый важный факт, опять-таки установленный именно современными исследованиями, состоит в том, что фармакологические и токсические эффекты больших доз препаратов магния, в отличие от физиологических эффектов его микроэлементных доз, наблюдаются вне зависимости от исходного магниального статуса организма человека или животного. Эти эффекты препаратов магния могут наблюдаться как *in vitro* (в культуре клеток ткани, или на изолированном перфузируемом органе), так и *in situ* (непосредственно в месте введения препарата магния в организм), а также *in vivo* (в целостном живом организме) [40, 41, 42].

Установлено также и то, что как фармакологические, так и токсические эффекты больших доз или концентраций препаратов магния мы можем наблюдать только в тех случаях, когда поступление магния в клетку, ткань, орган или целостный организм настолько велико, что

превышает физиологические возможности клетки, органа или организма по поддержанию гомеостаза магния, по его утилизации (связыванию и обезвреживанию), или по ускоренному выведению его избытка, и тем самым по предотвращению «перегрузки магнием» или даже магниевой интоксикации [40, 41, 42].

Эти основополагающие различия между фармакологическими, токсическими и физиологическими (микроэлементными) дозами и эффектами препаратов магния привели современных исследователей к пониманию необходимости чётко различать две разновидности «нагрузочных тестов» с препаратами магния. Клиническая эффективность парентерального или ректального введения больших (фармакологических) доз препаратов магния в устранении тех или иных симптомов, традиционно связываемых с дефицитом магния (например, судорог, психомоторного возбуждения или артериальной гипертензии) не может и не должна использоваться в качестве диагностического теста на дефицит магния, или в качестве «доказательства» того, что эти симптомы связаны именно с дефицитом магния [40, 41, 42].

И наоборот, сегодня достоверно установлено, что физиологические (микроэлементные) дозы препаратов магния, принимаемые внутрь, в норме совершенно лишены фармакодинамических и токсических эффектов, свойственных большим (фармакологическим или токсическим) дозам препаратов магния, особенно при их парентеральном или ректальном введении. Физиологические (микроэлементные) дозы препаратов магния, принимаемые внутрь, не производят никаких заметных клинических эффектов или изменений в состоянии организма в том случае, когда исходный магниальный статус больного нормален (то есть, если у этого пациента исходно нет дефицита магния) [40, 41, 42].

Согласно современным воззрениям, именно коррекция (смягчение) или полное устранение каких-либо симптомов при пероральном приёме физиологических (микроэлементных) доз препаратов магния, и отсутствие коррекции этих же симптомов при пероральном приёме плацебо, является лучшим доказательством того, что эти симптомы были вызваны дефицитом магния [40, 41, 42].

Однако главным последствием этого введённого впервые в 1970-х годах разделения всех биологических свойств магния на физиологические, фармакологические и токсические, стало чёткое понимание необходимости разграничения двух принципиально разных способов применения препаратов магния в медицине, двух разновидностей терапии солями магния. А именно, следует различать заведомо нетоксичную заместительную пероральную терапию физиологическими, микроэлементными дозами препаратов магния при его дефиците, и терапию фармакологическими дозами препаратов магния, нередко – к тому же вводимыми парентерально или ректально, для того, чтобы «обойти» физиологические ограничения на всасывание магния в тонком кишечнике при приёме его внутрь [40, 41, 42].

Терапия фармакологическими дозами препаратов магния ныне с успехом применяется при целом ряде заболеваний и патологических состояний организма. Однако она, в отличие от пероральной терапии физиологическими, микроэлементными дозами препаратов магния, не лишена потенциального риска проявления побочных эффектов магния, и даже магниевой токсичности [40, 41, 42].

На сегодняшний день наиболее распространённая и популярная, и чаще всего применяемая, форма терапии препаратами магния в медицине – это пероральное применение физиологических, микроэлементных доз препаратов магния с заместительной целью, то есть для восполнения или коррекции имеющегося дефицита магния (в том числе – маргинального или субклинического). Эти физиологические, заместительные дозы препаратов магния, предназначенные для коррекции имеющегося дефицита магния, не должны вызывать никаких побочных эффектов или проявлений токсичности магния. Целью их применения является восстановление нормального гомеостаза магния в организме за счёт нормализации его поступления с пищей [40, 41, 42].

В то же время, для того, чтобы эффективно использовать фармакологические (а не физиологические) свойства магния для лечения тех или иных заболеваний, вне зависимости от исходного магниального статуса пациента, нам по определению необходимо суметь «обойти» или «изнасиловать» нормальные механизмы поддержания гомеостаза магния в организме, для того, чтобы вызвать лечебную (терапевтическую) перегрузку магнием, или даже магниевую интоксикацию лёгкой или умеренной степени (как это делается, например, при преэклампсии и эклампсии беременных) [40, 41, 42].

В целом, фармакологическое лечение большими дозами препаратов магния, принимаемыми внутрь (перорально) обычно рекомендуется в тех случаях, когда показания к такому лечению связаны с наличием какого-либо хронического заболевания, требующего длительной терапии. В то же время парентеральное (внутримышечное или внутривенное) или ректальное введение больших, фармакологических доз препаратов магния обычно резервируется для ситуаций более острых, требующих экстренной помощи [40, 41, 45].

В обоих случаях – как при парентеральном или ректальном введении больших, фармакологических доз препаратов магния, так и при пероральном приёме аналогичных доз, но особенно, конечно, в первом случае – потенциально возможно проявление симптомов острой или хронической гипермагниемии и токсичности магния. Между тем, на сегодняшний день существует немалое количество как «научных фриктов» в медицине, так и разнообразных «натуропатов» и других околomedцинских или псевдомедицинских шарлатанов и мошенников, которые продвигают лечение большими дозами препаратов магния (обычно принимаемыми перорально в виде БАДов) едва ли не как панацею от всех болезней. Это не только научно некорректно и этически неприемлемо, но и может быть опасным для жизни и здоровья пациентов [40, 41, 45].

Ещё одна важная идея современных исследований по биологической роли магния состоит в том, что нужно чётко отличать физиологическую супплементацию магнием путём дополнительного перорального приёма физиологических, микроэлементных доз препаратов магния, при которой по определению не может быть никаких токсических эффектов или побочных явлений (в противном случае следует признать применяемые дозы препаратов магния чрезмерными, супрафизиологическими), от фармакологических эффектов больших, лечебных доз препаратов магния, которые могут быть как полезными (лечебными), так и нежелательными (по-

бочными), и даже токсическими или опасными для жизни и здоровья пациентов [40, 41, 45].

Кроме того, современными исследователями также проведена чёткая грань между понятиями дефицита магния и деплеции магния. А именно, в случаях дефицита магния в организме важно отличать собственно дефицит магния, который развивается вследствие отрицательного баланса магния в организме (вследствие либо пониженного потребления магния с пищей и водой, либо повышенных потерь магния с мочой, калом, потом, с раневым или ожоговым отделяемым, или с рвотой, либо комбинации обоих этих факторов – пониженного потребления и повышенных потерь), от деплеции («истощения») внутриклеточных запасов магния, которая развивается вследствие нарушения или сбоя в работе механизмов, регулирующих и управляющих обменом магния в организме и поддерживающих магниевый гомеостаз [40, 41, 45].

Если в первом случае (истинный дефицит магния) для успешной коррекции дефицита магния в организме достаточно всего лишь увеличить поступление магния в организм с помощью дополнительного перорального или парентерального введения солей магния, либо сократить потери магния (с помощью купирования поноса или рвоты, перевязки ран или ожогов и т. п.), то во втором случае (деплеция, или «истощение» внутриклеточных запасов магния) для успешной коррекции дефицита магния необходима специфическая коррекция нарушенных механизмов гомеостаза магния (что не всегда возможно при современном уровне медицины) [40, 41, 45].

Современные исследования биологической роли магния в организме человека и животных сосредоточены в основном на выявлении и детальном анализе нейро-эндокринных, иммунных и метаболических факторов и механизмов, которые управляют и регулируют обмен магния либо нарушают его, на выявлении связей или корреляций этих факторов и механизмов с генетическими факторами, которые определяют вариативность и различия обмена магния у разных индивидуумов. Важным направлением современных исследований биологической роли магния в организме человека и животных является также изучение этиологических причин и патогенетических механизмов развития различных форм врождённой гипомagneзмии [5, 40, 41].

«Нервно-психические» формы дефицита магния являются наиболее типичными, наиболее хорошо документированными и наиболее изученными экспериментальными и клиническими проявлениями первичного хронического дефицита магния. Это характерное сочетание тревожных (невротических), депрессивных, диссомнических, нервно-мышечных, сердечно-сосудистых, желудочно-кишечных и вегетативных симптомов, вызываемых дефицитом магния, для своей успешной коррекции обычно требует всего лишь перорального восполнения дефицита магния с помощью приёма его физиологических доз [43, 44].

При ряде нейродегенеративных заболеваний также обнаружена тесная корреляция развития этих заболеваний, или клинического проявления и утяжеления их симптомов с дефицитом внутриклеточного магния, а точнее — со специфической для каждого конкретного заболевания дисрегуляцией обмена магния и кальция, и с деплецией (истощением внутриклеточных запасов) магния. При этих заболеваниях простое восполнение

дефицита магния путём его дополнительного перорального, или даже парентерального введения, оказывается неэффективным. Наблюдающийся при этих заболеваниях дефицит, или, точнее, деплеция внутриклеточного магния, требует применения мер специфической коррекции причин, вызывающих этот дефицит или деплецию. Однако такие меры пока не разработаны [46].

Среди таких типичных нейродегенеративных заболеваний, при которых обнаруживаются внутриклеточный дефицит или, вернее, деплеция магния и дисрегуляция обмена магния и кальция, предположительно могущие играть роль в этиопатогенезе этих заболеваний, можно упомянуть, например, такие, как амиотрофический боковой склероз, болезнь Паркинсона, деменция Альцгеймера. Одна из теорий придаёт большое значение в этиологии и патогенезе указанных заболеваний сочетанию дефицита магния и кальция в пище и воде, с одновременным воздействием так называемых «медленных нейротоксинов», нарушающих обмен кальция и магния, причём как неорганических (например, ионов алюминия), так и органических (например, метилфенилтетрагидропиридина – МФТП, или нейротоксинов, содержащихся в семенах некоторых растений) [46].

Как в клинической практике, так и в экспериментах на животных, дисрегуляция обмена магния и кальция, снижение уровней магния и/или кальция в плазме крови, в ликворе и/или в тканях и клетках организма, а также повышенные потери магния и/или кальция с мочой и/или калом, либо снижение потребления магния и кальция с пищей и водой, ассоциируются с различными видами физиологического стресса, например, с психоэмоциональным или физическим перенапряжением, воспалением, инфекцией, с перегревом или переохлаждением организма, с физическими травмами и др. [48].

Важно отметить, что в подобных случаях дефицит внутриклеточного, ликворного и/или плазменного магния и кальция не только является одним из типичных последствий или проявлений (симптомов) испытываемого организмом физиологического стресса, но и сам по себе усугубляет или утяжеляет этот стресс, замедляет восстановление организма после перенесённого стресса, и может служить одной из причин неблагоприятного исхода заболевания [48].

Среди нарушений обмена магния и кальция особый интерес современных исследователей вызывают нарушения нормальных циркадианных паттернов колебаний уровней магния и кальция в плазме крови, в ликворе и в клетках различных тканей, включая ткань мозга, а также связь этих нарушений с общими нарушениями циркадных ритмов, в частности, с нарушениями секреции мелатонина, и связь этих нарушений с различными психическими и соматическими заболеваниями (в частности, с депрессивными и тревожными состояниями, с диссомническими нарушениями, с циркадно-зависимыми приступами головной боли, бронхиальной астмы или эпилепсии) [49, 50, 51].

На сегодняшний день достоверно установлено, что нарушения нормальных циркадианных паттернов колебаний уровня магния и кальция в плазме крови, в ликворе и в ткани мозга имеют тесную двустороннюю связь с нарушениями циркадных ритмов вообще, и с нарушениями секреции мелатонина в частности. Двусторонний характер этой связи означает, в частности, что дефицит магния

и/или кальция может вызывать нарушения циркадных ритмов, и циркадианных паттернов секреции мелатонина в частности. Однако верно и обратное: дефицит мелатонина или нарушения нормальных циркадианных паттернов его секреции могут вызывать дизрегуляцию или нарушения в обмене магния и кальция [49, 50, 51].

Описаны две основные формы циркадианных ритмов:

- 1) с гиперфункцией «биологических часов»;
- 2) с гипофункцией «биологических часов».

Для лечения этих двух симметричных типов нарушений циркадных ритмов предложены противоположные методы: светотерапия (фототерапия) при гиперфункции «биологических часов», и «терапия темнотой» (скототерапия) при гипофункции «биологических часов». Предложены и другие методы, в частности, дозированное применение экзогенного мелатонина в определённое время суток. Как выяснилось, важную роль в лечении нарушений циркадных ритмов играют также препараты магния и кальция, а вернее, их приём в строго определённое время суток [49, 50, 51].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как видно из проведённого нами обзора литературы, применение препаратов магния в медицине имеет давнюю историю, восходящую, возможно, ещё к доисторическим попыткам приёма человеком внутрь магниевых и кальцийсодержащих минералов и к попыткам использования неолитическими людьми природных магниевых-кальциевых щелочных материалов для повышения биодоступности алкалоидов некоторых психоактивных растений, таких, как табак, бетель, кока.

Документированная письменная история применения препаратов магния в медицине восходит ещё к древнеегипетским папирусам и вавилонским клинописным табличкам, а позднее – к Гиппократу II, Клавдию Галену и Сорану Эфесскому, и к применению ими лечебных минеральных вод из богатых магнием, литием и бромом источников на Крите и в Северной Италии. Однако серьёзно изучать применение препаратов магния в медицине стали только после открытия Неемией Гроу «Эпсомской соли» и её эффективности в лечении экземы и судорог у коров.

Ныне роль нарушений обмена магния активно изучается при таких разных заболеваниях, как сердечно-сосудистые, метаболические, нервно-мышечные, психические, эндокринные, иммунологические, ревматологические, заболевания кожи, почек, костей и суставов, зубов, желудочно-кишечного тракта и другие. Активно изучается также эпидемиология состояний дефицита магния, их связь с характером питания, циркадианная регуляция обмена магния и многие другие вопросы.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Sneader W. *Drug discovery: a history*. John Wiley & Sons; 2005. doi:10.1002/0470015535
2. Delva P. The role of magnesium as a metallotherapeutic drug. In: *Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents: The Use of Metals in Medicine*. New York: John Wiley and Sons; 2005, 51-64.
3. Emsley J. Magnesium. In: *Nature's building blocks: an A-Z guide to the elements*. Oxford University Press; 2011.

4. Greenwood NN, Earnshaw A. Chapter 5. Beryllium, Magnesium, Calcium, Strontium, Barium and Radium. In: *Chemistry of the Elements*. Elsevier; 2012, 107-138.

5. Durlach J. Overview of magnesium research: History and current trends. In: *New Perspectives in Magnesium Research. Nutrition and Health*. Edited by Yoshiki Nishizawa, Hirotsoshi Morii, Jean Durlach. Springer-Verlag London Limited; 2007, 3-10.

6. Solecki RS. Shanidar IV a Neanderthal flower burial in Northern Iraq. *Science*, 1975; 190(4217): 880-881. doi: 10.1126/science.190.4217.880

7. Lietava J. Medicinal plants in a Middle Paleolithic grave Shanidar IV? *Journal of Ethnopharmacology*, 1992; 35(3): 263-266. doi: 10.1016/0378-8741(92)90023-K

8. Sommer JD. The Shanidar IV 'flower burial': a re-evaluation of Neanderthal burial ritual. *Cambridge Archaeological Journal*, 1999; 9(1): 127-129. doi: 10.1017/S0959774300015249

9. Gorman CF. Hoabinhian: a pebble-tool complex with early plant associations in Southeast Asia. *Science*, 1969; 163(3868): 671-673. doi: 10.1126/science.163.3868.671

10. Rudgley R. *The lost civilizations of the stone age*. Simon and Schuster; 2000.

11. Kline NS. *The history of lithium usage in psychiatry*. A Lecture in APA Meeting, Boston; 1968.

12. Ainsworth S. Epsom's deep bath. *Nurse Prescribing*, 2013; 11(6): 269.

13. Multhaupt RP. A history of magnesia alba. *Annals of science*, 1976; 33(2): 197-200.

14. Davy H. Electro-chemical researches on the decomposition of the earths; with observations on the metals obtained from the alkaline earths, and on the amalgam procured from ammonia. *Abstracts of the Papers Printed in the Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. London: The Royal Society, 1808; 13(1): 313-314.

15. Martin RB. Bioinorganic chemistry of magnesium. In: Sigel H, Sigel A. (eds.) *Metal ions in biological systems: compendium on magnesium and its role in biology, nutrition, and physiology*. Vol. 26. New York, Marcel Dekker; 1990, 1-13.

16. Kirkland NT, Birbilis N. Introduction to Magnesium Biomaterials. In: *Magnesium Biomaterials*. Springer, Cham; 2014, 1-12.

17. Greville GD, Lehmann H. Magnesium-calcium antagonism in muscle. *Nature*, 1943; 152(3846): 81.

18. Dickens C. Magnesium. In: *Cambridge World History*. Cambridge University Press. 1990, 824.

19. Meltzer SJ, Auer J. Physiological and pharmacological studies of magnesium salts. – III. The narcotizing effect of magnesium salts upon nerve fibres. *American Journal of Physiology*. 1906; 16(2): 233-251. doi: 10.1152/ajplegacy.1906.16.2.233

20. Loeb J. The stimulating and inhibitory effects of magnesium and calcium upon the rhythmical contractions of a jellyfish (*Polyorchis*). *Journal of Biological Chemistry*. 1906; 1(6): 427-436.

21. Meltzer SJ, Auer J. The antagonistic action of calcium upon the inhibitory effect of magnesium. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 1908; 21(4): 400-419. doi: 10.1152/ajplegacy.1908.21.4.400

22. Delbet P. Vessie, uretre, prostate, verge, perines. In: Poirier P, Charpy A., et al. *Traite d'Anatomie Humaine*. Paris; 1901.

23. Delbet P. Halogen salts of magnesium, and cancer. *Presse Medicale*. 1928; 36: 1473-1477.

24. Delbet P. The reasons for magnesium deficiency. *Bull Acad Med*, 1929; 102: 4-10.
25. Vormann J. Magnesium: nutrition and metabolism. *Molecular aspects of medicine*, 2003; 24(1-3): 27-37.
26. Klein H, Orent ER, McCollum EV. The effects of magnesium deficiency on the teeth and their supporting structures in rats. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 1935; 112(2): 256-262.
27. Kruse HD, Orent ER, McCollum EV. Studies on magnesium deficiency in animals. 3. Chemical changes in the blood following magnesium deprivation. *Journal of Biological Chemistry*, 1933; 100: 603-643.
28. Schmidt CL, Greenberg DM. Occurrence, transport and regulation of calcium, magnesium and phosphorus in the animal organism. *Physiological Reviews*, 1935; 15(3): 297-434.
29. Sjollem B. Causes of grass tetany. *Tijdschrift voor Diergeneeskunde*, 1932; 59: 57-351.
30. Martin HE, McCuskey JR, Tupikova N. Electrolyte disturbance in acute alcoholism: with particular reference to magnesium. *The American journal of clinical nutrition*, 1959; 7(2): 191-196. doi.org/10.1093/ajcn/7.2.191
31. Flink EB. Magnesium deficiency. Etiology and clinical spectrum. *Acta Medica Scandinavica*, 1981; 647 (Suppl): 125-137.
32. Wacker WE. *Magnesium and man*. Harvard University Press, 1980.
33. Allan JE. Atomic-absorption spectrophotometry with special reference to the determination of magnesium. *Analyst*, 1958; 83(989): 466-471.
34. Willis JB. Determination of magnesium in blood serum by atomic absorption spectroscopy. *Nature*, 1959; 184(4681): 186-187.
35. Kobayashi J. Geographic relationship between the chemical nature of river water and death-rate from apoplexy. *Ber Ohara Inst Landwirt Biol*, 1957; 11: 12-21.
36. Schroeder HA. Relation between mortality from cardiovascular disease and treated water supplies: variations in states and 163 largest municipalities of the United States. *Journal of the American Medical Association*, 1960; 172(17): 1902-1908.
37. Aikawa JK. *The role of Mg in biologic processes*. Springfield, IL: CC Thomas; 1963.
38. Durlach J. (ed.) *1er Symposium International sur le déficit magnésique en pathologie humaine. I. Volume des rapports*. Vittel: SGEMV; 1971.
39. Durlach J. (ed.) *1er Symposium International sur le déficit magnésique en pathologie humaine. II. Volume des communications et discussions*. Vittel: SGEMV; 1973.
40. Itokawa Y, Durlach J. *Magnesium in Health and Disease*. London: John Libbey; 1989.
41. Durlach J. *Magnesium in Clinical Practice*. 1st ed. London: John Libbey; 1988.
42. Rayssiguier Y, Mazur A, Durlach J. *Advances in Magnesium Research: Nutrition and Health*. London: John Libbey; 2001.
43. Durlach J, Bac P, Durlach V, Bara M, Guiet-Bara A. Neurotic, neuromuscular and autonomic nervous form of magnesium imbalance. *Magnes Res*, 1997; 10(2): 169-195.
44. Durlach J. Neurological manifestations of magnesium imbalance. In: Vinken PJ, Bruyn GW, eds. *Handbook of Clinical Neurology*. Amsterdam: North Holland; 1976, 545-579.
45. Escanero JF, Alda JO, Guerra M, Durlach J. *Magnesium Research: Physiology, Pathology and Pharmacology*. Prensas Universitarias de Zaragoza; 2003.
46. Durlach J, Bac P, Durlach V, Durlach A, Bara M, Guiet-Bara A. Are age-related neurodegenerative diseases linked with various types of magnesium depletion? *Magnes Res*, 1997; 10(4): 339-353.
47. Nechifor M, Porr PJ. *Magnesium: Involvements in Biology and Pharmacotherapy*. Cluj-Napoca: Casa Cartii de Stiinta; 2003.
48. Porr PJ, Nechifor M, Durlach J. (eds.) *Advances in Magnesium Research: New Data*. London: John Libbey; 2006.
49. Durlach J, Pagès N, Bac P, Bara M, Guiet-Bara A, Agrapart C. Chrono-pathological forms of magnesium depletion with hypofunction or with hyperfunction of the biological clock. *Magnes Res*, 2002; 15(3-4): 263-268.
50. Durlach J, Pagès N, Bac P, Bara M, Guiet-Bara A. Magnesium depletion with hypo- or hyper-function of the biological clock may be involved in chrono-pathological forms of asthma. *Magnes Res*, 2005; 18(1): 19-34.
51. Durlach J, Pagès N, Bac P, Bara M, Guiet-Bara A. Headache due to photosensitive magnesium depletion. *Magnes Res*. 2005; 18(2): 109-122.

Сведения об авторах

Беккер Роман Александрович – программист, инженер-математик, магистр в области компьютерных наук, исследователь лаборатории автономных роботов, факультет электроники и компьютерных наук, Университет им. Давида Бен-Гуриона в Негеве, e-mail: rbekker1@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0773-3405>

Быков Юрий Витальевич – кандидат медицинских наук, врач анестезиолог-реаниматолог, врач психиатр-нарколог, ассистент кафедры анестезиологии, реаниматологии и скорой медицинской помощи педиатрического факультета, ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: yubykov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4705-3823>

Шкурят Алексей Олегович – студент 6-го курса, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: shkurat.aleksei@yandex.ru

Воронина Анна Сергеевна – студентка 6-го курса, ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: emily65@inbox.ru

Information about the authors

Roman A. Bekker – Programmer, Computer Engineer, Magister of Computer Science, Research Officer at the Laboratory of Autonomous Security Systems (Robotics), Faculty of Electrical and Computer Engineering, Ben-Gurion University of the Negev, e-mail: rbekker1@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0773-3405>

Yuriy V. Bykov – Cand. Sc. (Med.), Anesthesiologist, Psychiatrist, Narcologist, Teaching Assistant at the Department of Anesthesiology, Intensive Care Medicine and Emergency Medicine of the Pediatric Faculty, Stavropol State Medical University, e-mail: yubykov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4705-3823>

Alexey O. Shkurat – Student, Yaroslavl State Medical University, e-mail: shkurat.aleksei@yandex.ru

Anna S. Voronina – Student, Yaroslavl State Medical University, e-mail: emily65@inbox.ru

Статья получена: 19.05.2019. Статья принята: 29.05.2019. Статья опубликована: 26.06.2019.
Received: 19.05.2019. Accepted: 29.05.2019. Published: 26.06.2019.

ХИРУРГИЯ SURGERY

DOI 10.29413/ABS.2019-4.3.10

Пищеводные геморрагические синдромы

Белобородов В.А., Кожевников М.А., Кельчевская Е.А., Олейников И.Ю., Фролов А.П.

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

Автор, ответственный за переписку: Кожевников Михаил Александрович, e-mail: mihail.kozhevnikov.1975@mail.ru

Резюме

Пищеводные кровотечения по частоте встречаемости среди геморрагий из пищеварительного тракта занимают третье место после гастродуоденальных и толстокишечных кровотечений, частота встречаемости 14–16 % среди всех кровотечений из желудочно-кишечного тракта. Наиболее частой причиной пищеводных геморрагий является синдром Маллори – Вейсса (10–12 %), реже – варикозное расширение вен пищевода при синдроме портальной гипертензии (до 4 %) и в части случаев – эзофагиты различной этиологии (до 1,6 %). Актуальность пищеводных кровотечений обусловлена отсутствием тенденции к снижению частоты заболеваемости, постоянным ростом новых случаев выявления синдрома портальной гипертензии, высокой летальностью при ней, склонностью к рецидивирующему течению, трудностями диагностики и анатомо-физиологическими особенностями поражённого органа, невысокой эффективностью основных применяемых методов гемостаза. Использование различных комбинаций способов хирургического и консервативного гемостаза свидетельствует о разнообразии мнений авторов в решении конкретной проблемы. При синдроме Маллори – Вейсса преимущественным методом лечения считается эндоскопический гемостаз. Лечение синдрома портальной гипертензии является наиболее трудным, используется широкий спектр операций – от малоинвазивных до трансплантации печени, а также парахирургические методы гемостаза (лигирование, склеротерапия). При рефлюкс-эзофагите, как основной причины кровотечений вследствие воспаления слизистой оболочки, также предлагается преимущественно консервативное лечение, операции выполняются лишь при рецидивах или осложнениях. Каждый вид геморрагий рассматривается как отдельная проблема.

Ключевые слова: варикозное расширение вен пищевода, синдром Маллори – Вейсса, эзофагит, пищеводное кровотечение, гемостаз

Для цитирования: Белобородов В.А., Кожевников М.А., Кельчевская Е.А., Олейников И.Ю., Фролов А.П. Пищеводные геморрагические синдромы. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 81-88. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.10

Esophageal Hemorrhagic Syndromes

Beloborodov V.A., Kozhevnikov M.A., Kelchevskay E.A., Oleynikov I.J., Frolov A.P.

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

Corresponding author: Mikhail A. Kozhevnikov, e-mail: mihail.kozhevnikov.1975@mail.ru

Abstract

Esophageal bleeding is one of the most common medical emergencies. It takes the 3rd place among all digestive hemorrhages, and accounts for 14–16 % among all gastrointestinal bleeding. The most common cause of esophageal hemorrhages is Mallory – Weiss esophageal tear (10–12 %), less often – varicose veins of the esophagus in portal hypertension syndrome (up to 4 %) and, in some cases, is esophagitis of various etiologies (up to 1.6 %). The problem of esophageal bleeding is characterized by high incidence, high mortality rate due to constant increase of portal hypertension cases, recurrences, difficulties in diagnosis, anatomical and physiological features of the esophagus, low efficiency of the main methods of hemostasis. There are various surgical and conservative methods of hemostasis, which show a variety of opinions in the solution to the problem of stopping esophageal bleeding. In Mallory – Weiss syndrome, endoscopic hemostasis is considered to be the preferred method of treatment. Management of portal hypertension is the most difficult task; a wide range of operations is used from the minimally invasive operations to the liver transplantation, as well as endoscopic hemostasis (ligation, sclerotherapy). In esophageal bleeding, due to reflux esophagitis, mainly conservative treatment is suggested, operations are performed with recurrences or complications. Each kind of esophageal hemorrhage is considered as a separate problem.

Key words: esophageal bleeding, variceal bleeding, Mallory – Weiss syndrome, esophagitis, hemostasis

For citation: Beloborodov V.A., Kozhevnikov M.A., Kelchevskay E.A., Oleynikov I.J., Frolov A.P. Esophageal hemorrhagic syndromes. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 81-88. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.10

Пищеводное кровотечение – патологическое состояние, характеризующееся излитием крови в просвет пищевода. Относится к внутренним явным кровотечениям, т.е. кровотечением в просвет полых органов, сообщающихся с внешней средой. По частоте встречаемости находится на третьем месте среди геморрагий из пищеварительного тракта после гастродуоденальных и толстокишечных кровотечений. Актуальность проблемы сохраняется в силу не исчезающей тенденции к постоянному приросту таких состояний, анатомо-физиологических особенностей пищевода и некоторой проблематичностью хирургической коррекции данного состояния [1–6].

Основными пищеводными геморрагическими синдромами являются: разрывно-геморрагический синдром Маллори – Вейсса [3, 7–12], кровотечение из варикозно-расширенных вен пищевода (ВРВП) [13–28], а также эзофагиты различной этиологии [29–39]. Кровотечения из опухолей пищевода при их распаде наблюдаются относительно редко. В большинстве случаев они носят вторичный характер. Обычно это случается при прорастании опухоли в соседние органы с поражением крупных кровеносных сосудов и образованием в результате распада опухоли фистулы, соединяющей кровеносный сосуд с просветом пищевода. Геморрагия в просвет пищевода при системных заболеваниях (геморрагический васкулит) или при системных поражениях (уремия, ДВС-синдром) не является отдельным синдромом, а обычно включается в общую картину патологического процесса [1–4].

Трудность диагностики и лечения пищеводных кровотечений отчасти обусловлена особенностями анатомического строения и расположения пищевода [5, 6]. Пищевод – непарный мышечный полый орган, расположенный в трёх анатомических областях: шее, заднем средостении и брюшной полости. Является начальным отделом желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), начинается с глоточно-пищеводного перехода, а далее формирует шейный отдел. В заднем средостении ряд авторов [2–6] выделяют верхне-, средне- и нижнегрудной (наддиафрагмальный) отделы. Внутривнутрибрюшной или абдоминальный отдел не всегда выражен, а в ряде случаев вообще отсутствует (врождённый короткий пищевод, грыжа пищеводного отверстия диафрагмы). Его границей является кардио-эзофагеальный переход. Выделяют три анатомо-физиологических сужения: в верхней апертуре грудной клетке, в месте прилегания дуги аорты и в месте перехода пищевода в желудок (нижний пищеводный сфинктер). Большая часть пищевода расположена в заднем средостении, задняя стенка его расположена на предпозвоночной фасции, боковые стенки прикрыты листками медиастинальной плевры, а передняя стенка интимно прилегает к органам средостения (задней стенке трахеи и перикарду). На шее и в брюшной полости отделы пищевода расположены большей частью слева, а в заднем средостении пищевод преимущественно находится в правой плевральной полости.

Кровоснабжение пищевода может быть из нескольких источников: веточки глоточной артерии в глоточно-пищеводном переходе, сосуды щитошейного ствола в шейном отделе, собственные пищеводные артерии в средостении и небольшая порция от артерий диафрагмы и желудка в абдоминальном отделе. Венозная сеть хорошо выражена, расположена в подслизистом слое и является компонентом верхнего портокавального веноз-

ного анастомоза, что имеет важное значение в патогенезе кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода (ВРВП). Иннервация осуществляется блуждающим нервом и симпатическим нервным стволом.

Строение стенок пищевода также имеет ряд отличий в различных отделах. Верхние отделы снаружи покрыты адвентицией, а абдоминальный отдел перитонеальной брюшиной. Мышечный слой представлен преимущественно гладкой мускулатурой двумя слоями (продольный и циркулярный), в абдоминальном отделе может быть косое расположение мышечных волокон из стенки желудка. В глоточно-пищеводном переходе и начальном фрагменте шейного отдела пищевода наряду с гладкой мускулатурой выявляются и поперечнополосатые мышечные волокна из глотки. Слизистая оболочка имеет складчатое строение в виде продольных складок, покрыта многослойным плоским эпителием. Граница перехода слизистой оболочки пищевода в желудок чётко обозначена зубчатой или «Z»-линией. Среда внутри просвета пищевода щелочная.

Синдром Маллори – Вейсса или пищеводно-разрывной синдром, назван по именам описавших его американских врачей G. K. Mallory (1900–?) и S. Weiss (1898–1942) – разрыв (чаще – множественные надрывы) слизистой оболочки пищевода или кардиального отдела желудка [4, 7–12]. Встречается в 10–12 % случаев всех кровотечений из ЖКТ. В патогенезе данного синдрома ведущим моментом является повышение внутрипищеводного давления, чаще в нижней трети пищевода и пищеводно-желудочном переходе с одномоментным повышением внутрибрюшного давления. Основные этиологические факторы: рвота, икота, срыгивание. Сопутствующими факторами, как правило, являются алкогольное опьянение, отравление, повышение внутричерепного давления. Редко, но всё же встречаются надрывы слизистой после или во время эндоскопического исследования пищевода.

Клиническая картина чаще однотипна [1–4, 7–12]. Этот синдром проявляется рвотой вначале пищевыми массами, а затем красной или тёмной кровью. У части больных натужная рвота красной кровью является первым признаком синдрома. В части случаев первые признаки проявляются общей слабостью, обморочным состоянием, а затем выявляются кровь в кале (мелена). Больные также могут жаловаться на внезапное появление боли в животе. При этом визуально определяют признаки анемии. Нередко возникают гемодинамические нарушения и другие характерные признаки геморрагического шока. Тяжесть проявления синдрома Маллори – Вейсса зависит от степени повреждения, желудка и пищевода.

В соответствии с классификацией Bellman (1973) выделяют три варианта разрыва пищевода при синдроме Маллори – Вейсса [7–12]:

- I степень – поверхностные разрывы слизистой оболочки;
- II степень – разрыв более глубокий, затрагивает подслизистый слой;
- III степень – полный разрыв стенки пищевода или желудка.

Основными диагностическими методами являются эндоскопическое исследование пищевода, лабораторные показатели крови, пальцевое исследование прямой кишки. Фиброэзофагогастродуоденоскопия (ФЭГДС) [2–4, 7, 8, 10, 11] считается «золотым стандартом» исследования

при заболеваниях пищевода и желудка наряду с рентгенологическими методами. Визуализация патологических изменений на слизистой пищевода и кардиального отдела желудка, кровотечение или его последствия при эндоскопическом исследовании дают, как правило, полную картину патологического процесса.

При ФЭГДС обычно обнаруживают на малой кривизне характерные продольные трещины кардиального отдела желудка, переходящие на пищевод длиной от 2–3 до 4–5 см, шириной 1–5 мм. Обычно разрывы одиночные, но бывает 2–3 и больше. Чаще трещины расположены в глубине складок, дно их заполнено свежими сгустками крови, а края раны пропитаны кровью. В момент эндоскопического исследования с синдромом Маллори – Вейсса I степени отмечали спонтанный гемостаз в 87 % наблюдений, при II степени – только в 28 %, а при III степени оно чаще продолжалось на фоне клинических проявлений, характерных для перфорации желудка. Зачастую при исследовании пищевода у больных с кровотечением при синдроме Маллори – Вейсса выявляют недостаточность кардии и грыжу пищеводного отверстия диафрагмы.

В лечении синдрома Маллори – Вейсса придерживаются в основном консервативного лечения с активным использованием различных методов эндоскопического гемостаза [1–4, 7–11]. Одним из способов коррекции такого состояния является нанесение на трещину одного из плёнообразующих препаратов (лифузоль, раствор феракрила, цианокрилаты или др.). Затем его смывают струёй раствора аминокaproновой кислоты или изотоническим раствором хлорида натрия, что позволяет верифицировать источник кровотечения и провести электрокоагуляцию, обеспечивающую надёжный гемостаз. Предлагается после промывания над коагулированными тканями ещё раз наносить плёнообразующий материал. Некоторые авторы [2, 4, 8, 10] в таких случаях рекомендуют применять аргонплазменную коагуляцию и клипирование. Через 6 месяцев и в более отдалённые сроки морфологических изменений не обнаруживают. Лишь у части больных после перенесённых глубоких разрывов визуально находят тонкий рубец.

Оперативное лечение в связи с неостановившимся кровотечением проводится редко [2–4]. Оно заключается в гастротомии и прошивании разрыва через все слои стенки желудка. В 5–10 % случаев возможны повторные кровотечения через несколько месяцев или даже лет. В основном это лица, страдающие хроническим алкоголизмом с наличием выраженного атрофического гастрита [2–4, 7–11].

Профилактика синдрома Маллори – Вейсса заключается в предупреждении повышенного внутрибрюшного давления (рвота, икота).

Второй по частоте выявляемости (до 4 %) причиной пищеводных геморрагий является кровотечение из ВРВП [2–4, 13–28]. В патогенезе синдрома несколько важных составляющих. Синдром портальной гипертензии (СПГ), при котором образуются варикозно расширенные вены или вариксы. Они формируются на фоне цирроза печени (ЦП), который в свою очередь является исходом хронического гепатита. Основные причины – вирусный гепатит С, алкогольный гепатит. Цирротическое перерождение печени приводит к венозному застою в *v. portae*, который постепенно распространяется на все сегменты венозного соустья между воротной веной и верхней полой веной. Варикозное расширение или варикс начинается с нижних

отделов и, при прогрессировании ЦП и СПГ, распространяется на вышележащие отделы пищевода. Другим патогенетическим компонентом является коагулопатия.

Частота встречаемости ВРВП при компенсированных формах цирроза составляет от 30 до 40 %, а при декомпенсированном ЦП достигает 60 %. Формирование вариксов при ЦП вирусной этиологии в 30 % клинических наблюдений происходит обычно через 5 лет, в то время как при алкогольном циррозе они обнаруживаются уже спустя 2 года в половине случаев. Через 10 лет около 90 % больных ЦП имеют ВРВП пищевода-желудочного перехода. Первый эпизод кровотечения для 20–80 % больных может стать смертельным. Среди выживших в 50–70 % случаев уже через несколько дней может возникнуть рецидив геморрагического синдрома. Спустя 2 года с момента первого эпизода кровотечения выживаемость больных с ВРВП не превышает 42 %. Прирост больных ЦП, у которых выявляются ВРВП, ежегодно составляет 5–10 % [15–20]. Проведённые исследования выживаемости больных с ЦП в клинике V. Cervello (Палермо, Италия) показали, что среди больных с 1-й стадией заболевания в течении года смертность наступает в 1 % случаев, при 2-й стадии – в 3 %, при 3-й – до 20 % наблюдений, а при 4-й – более половины (57 %) больных [2, 15–24].

Клинические проявления кровотечения при ВРВП наряду с основными признаками заболевания (асцит, слабость, желтушность) имеют патогномоничные признаки: бледность кожи и слизистых, слабость, гипотония, тахикардия, одышка, рвота с примесью свежей крови, чёрный дёгтеобразный кал (мелена). Состояние пациента во многом обусловлено тяжестью основного заболевания и степенью кровопотери. При значительном геморрагическом синдроме появляются признаки шока. Причины геморрагии при ВРВП чаще неспецифичны: травма грубой пищей или эрозия слизистой оболочки пищевода.

Разработаны несколько классификаций цирроза печени (ЦП). Все они созданы для оценки тяжести, прогноза заболевания и его осложнений [2, 4, 15–22]. Широко используемая в клинической практике классификация по Чайлд – Туркот – Пью (Child – Turcotte – Pugh), предусматривает расчёт баллов для определения тяжести ЦП, риска осложнений и продолжительности жизни больных. В 1983 г. K.J. Raquet выделил четыре степени ВРВП:

Первая степень – единичные эктазии вен, которые могут быть верифицированы эндоскопически, но не определяются при рентгенологическом исследовании.

Вторая степень – определяются единичные отграниченные венозные стволы, которые отчётливо видны после инсuffляции воздуха. Наибольшую выраженность они имеют преимущественно в нижней трети пищевода, несмотря на это его слизистая над расширенными венами не истончена, а просвет не сужен.

Третья степень – сужение пищевода в нижней и средней его третях (за счёт выбухания ВРВ, которые частично спадаются при инсuffляции воздуха). Для неё характерно появление на поверхности вариксов единичных ангиоэктазий – «красных маркеров».

При четвёртой степени в просвете пищевода визуализируются множественные вариксы, которые не спадаются даже при сильной инсuffляции воздухом. На вариксах визуализируются множественные ангиоэктазии и эрозии, что сопровождается резким истончением слизистой оболочки.

В медицинской практике России чаще выделяют 4 стадии ВРВП, используя классификацию А.К. Ерамишанцева 1998 г. [4, 16, 20]. Её ключевым моментом является размер варикозных узлов.

Лабораторная диагностика не является специфичной и отражает основные патологические изменения: снижение уровня содержания эритроцитов, гемоглобина и гематокрита (анемия), тромбоцитопения, гипопротеинемия, снижение содержания факторов свёртывания крови, увеличение времени свёртывания крови и другие признаки коагулопатии. Значения многих из этих показателей обусловлены степенью нарушений гемостатической функции печени.

Выявление мелены при пальцевом исследовании прямой кишки позволяет дифференцировать локализацию источника кровотечения – геморрагия из верхних или нижележащих отделов ЖКТ.

В лечебных целях для остановки кровотечения из ВРВП применяются различные методы гемостаза.

Консервативная терапия предполагает использование препаратов различного механизма действия: вазоконстрикторов, гемостатических препаратов (дицинон, транексам, хлорид кальция), плазмы крови, тромбоцитов, факторов свёртывания крови.

Наряду с консервативной терапией применяются методы хирургического и парахирургического гемостаза. Одним из эффективных средств компрессионного гемостаза является внутрипищеводный зонд Блекмора – Сенгстакена (Blakemore – Sengstaken). С его помощью достигается компрессия ВРВП за счёт баллонообразной манжеты. Во избежание пролежней стенки пищевода и профилактики её перфорации давления в манжете снижают через сутки. При рецидиве кровотечения возможна повторная компрессия стенок (сосудов) пищевода [14–28].

Возможно использование метода склерозирования ВРВП путём введения при эндоскопическом контроле в стенку сосуда препаратов, облитерирующих просвет вены [14–20]. Методика не является безопасной, так как инъекционное введение препаратов может сопровождаться осложнениями, в том числе и кровотечением из места инъекции. Лигирование ВРВП с помощью силиконовых колец и клипс также используется с целью гемостаза и профилактики рецидива геморрагии [14].

Хирургические операции при ЦП с ВРВП делятся на две группы: шунтирующие и нешунтирующие [2, 4, 13, 15–24, 28].

Основными шунтирующими операциями являются портокавальный анастомоз по Н.В. Экку и спленоренальное Н-образное шунтирование по R.R. Linton. Большинство авторов [15–17, 19–24, 28] склонны считать портокавальный анастомоз оптимальным способом операции, поскольку выравнивается градиент венозного давления в системе портальной и полых вен. В последнее время получили распространение так называемые парциальные сосудистые портокавальные анастомозы. Основная идея – ограничение диаметра создаваемого портокавального соустья [15–17].

Основоположником операций, направленных на разобщение систем воротной и верхней полых вен, можно считать N.C. Tanner [4, 15–17, 20]. Автор для ликвидации кровотечения из ВРВП и желудка предложил выполнять пересечение желудка поперечно в его субкардиальном

отделе (на 5 см дистальнее кардиальной части желудка) с последующим ушиванием дефекта.

Выделяют 4 группы нешунтирующих операций. К первой группе можно отнести вмешательства, предполагающие манипуляции непосредственно на венах пищевода и желудка с прошиванием патологически изменённых сосудов. Прошивание вен выполняют после гастро- или эзофагогастротомии из абдоминального, трансторакального и торакоабдоминального доступов. Вторая группа включает операции, целью которых является уменьшение притока портальной крови к желудку и пищеводу до уровня максимальной деваскуляризации этих органов. Операции третьей группы выполняются для разобщения систем воротной и верхней полых вен. Это достигается посредством транссекции пищевода, желудка или сочетания транссекции пищевода, деваскуляризации проксимального отдела желудка и нижнего отдела пищевода, спленэктомии и пилоропластики. К четвертой группе относятся пищеводно-желудочные резекции. Все эти операции могут выступать самостоятельными вариантами лечения и профилактики кровотечений из ВРВП.

По мнению ряда авторов, предложенные консервативные и хирургические методы в лечении СПГ, осложнённого кровотечением из ВРВП, не являются радикальными и способствуют лишь временной стабилизации состояния больного. Считается, что только трансплантация донорской печени позволяет устранить основной этиологический фактор заболевания – цирроз [19, 20, 24, 28].

Эзофагиты – воспалительные изменения в слизистой оболочке пищевода, которые могут сопровождаться кровотечением. Выявляют следующие причины этой патологии: травматический эзофагит в результате механического повреждения слизистой острыми краями твёрдой пищи или костью, ожога пищевода агрессивными веществами (кислоты, щелочи) или рефлюкс-эзофагита [1–4, 29–38].

Частота встречаемости геморрагических эзофагитов невысока и колеблется, по данным различных авторов [2, 4, 29, 34], от 0,8 до 1,6 % всех геморрагий из ЖКТ.

Рефлюкс-эзофагит (РЭ) является широко распространённым заболеванием пищевода и наблюдается у 20 % населения [29, 35]. Основной причиной появления признаков воспаления слизистой пищевода при этом заболевании считается заброс кислого содержимого из желудка в пищевод. Соляная кислота вызывает раздражение на слизистой оболочке пищевода, а при длительном и постоянном рефлюксе воспалительный процесс прогрессирует и распространяется на более глубокие слои пищеводной стенки, вплоть до образования язвенных дефектов. Способствуют такому патологическому процессу другие заболевания пищеводно-желудочного перехода: короткий пищевод (КП), недостаточность кардии (НК), грыжи пищеводного отверстия диафрагмы (ГПОД). Нарушение замыкательной функции кардии при нормальной длине пищевода приводит к несостоятельности нижнего пищеводного сфинктера и развитию воспалительно-го процесса в слизистой пищевода. КП способствует смещению линии пищеводно-желудочного перехода проксимальнее по пищеварительной трубке. При этом и в нижнегрудном и абдоминальных отделах пищевода появляется слизистая оболочка желудка, продуцирующая соляную кислоту. При ГПОД слизистая оболочка желудка пролабирует в просвет пищевода, особенно в момент

перистальтической волны. В дальнейшем слизистая оболочка пищевода подвергается постоянному раздражению агрессивным желудочным соком, что проявляется воспалительной реакцией – развивается эзофагит. Кроме этого, РЭ может носить и вторичный характер при нормальной длине пищевода и замыкательной функции кардии. Причиной может стать нарушение эвакуации из желудка при других патологических изменениях привратника и двенадцатиперстной кишки.

Рефлюкс-эзофагит, согласно классификации Savary-Miller (1978), может иметь следующие формы [2, 4, 29, 35, 38]:

1-я степень: гиперемия дистальных отделов пищевода;

2-я степень: эрозии пищевода, не сливающиеся друг с другом;

3-я степень: сливающиеся эрозии;

4-я степень: язва дистального отдела пищевода, стеноз.

Заболевание, как правило, хроническое. Пациенты обычно отмечают наличие изжоги, боли за грудиной, привкус горечи или кислого содержимого в ротовой полости, проявления дисфагии. Если возникает кровотечение, то оно чаще мало интенсивно. Анемия мало выражена, мелена редка. В редких случаях возникающие интенсивные кровотечения чаще обусловлены сочетанием эрозивного эзофагита и синдрома Маллори – Вейсса.

Обычно диагностика геморрагического эрозивно-язвенного РЭ и сопутствующих патологических состояний осуществляется путём эндоскопического и рентгенологического исследований с возможным дополнительным контрастированием пищевода. Характерные воспалительные изменения на слизистой оболочке, кровоточивость тканей и другие эндоскопические признаки РЭ чаще достаточно выраженные. Рентгеноскопия пищевода и желудка с контрастированием не даёт дополнительную информацию при геморрагическом синдроме. При этом это позволяет выявить органические и функциональные патологические изменения в стенке пищевода и кардии. Особенно информативно исследование в положении Тренделенбурга, что позволяет подтвердить НК и ГПОД [2, 4, 29, 30, 32–38].

При РЭ геморрагия осложняет течение заболевания, поэтому консервативная терапия направлена, прежде всего, на достижение гемостаза и стабилизацию состояния пациента. При стабилизации состояния пациента решается вопрос об устранении причины осложнения (рефлюкса содержимого в пищевод). В случаях выявления стойких и необратимых изменений в стенке пищевода предпринимаются резецирующие операции [2, 4, 32–38].

При КП, НК, ГПОД основной задачей хирургической коррекции является низведение пищевода в брюшную полость, создание манжетки или клапана из стенки желудка вокруг пищевода (фундопликация типа Ниссена или Тупе, гастропликация по Каншину) [2–4, 33–37], устранение ГПОД путём передней или задней крурорафии [2–4]. Ряд авторов склоняются к дополнительной ваготомии [39] для снижения секреторной активности слизистой желудка.

Резецирующие операции предполагают удаление патологически изменённого участка пищевода с наложением пищеводно-желудочного анастомоза (операция Осава – Гэрлока) или полное удаление пищевода с тотальным его замещением трансплантатом из фрагмента кишечника (пластика по Ру – Герцену – Юдину тонкой

кишкой, толстокишечная пластика) или желудка (типа Рутковского – Черноусова или Денка – Турнера). Такие операции весьма травматичны и их выполнение в пик кровотечения значительно повышает риск осложнений и летальности. Поэтому их рекомендуется выполнять только при полнослойном повреждении стенки пищевода или кардиального отдела желудка в условиях стабилизации состояния больного [2–4, 40–42].

Не менее актуальными являются кровотечения при эзофагитах, вызванными отравлением или химическим ожогом кислотами и щелочами высокой концентрации [2–4, 31]. Особенностью течения таких геморрагий является их отсроченность. После ожога на слизистой оболочке образуется струп из некротизированных тканей. Со временем струп отторгается и обнажается раневая поверхность, которая и может явиться источником кровотечения. В ряде случаев струп может занимать обширную поверхность. Описаны случаи тотального поражения слизистой пищевода от глотки до кардии. После отторжения такого струпа отмечались профузные аррозивные кровотечения с фатальными исходами [31].

Лечение больных с ожогами пищевода в ранних сроках осуществляется в специализированных токсикологических отделениях. Наряду с травмирующим поражением пищевода у пациентов развивается коагулопатия на фоне токсического поражения органов и систем. Лечение таких больных представляет серьёзную проблему и всегда комплексное [2–4, 31].

Таким образом, пищеводные геморрагические синдромы являются распространёнными полиэтиологическими состояниями, характеризуются разнообразной клинической картиной и патологическими процессами в пищеводе и желудке. Проблема всё ещё актуальна, так как заболеваемость не имеет тенденции к снижению. При некоторых заболеваниях отмечается высокая летальность. К сожалению, недостаточно развита профилактика пищеводных кровотечений, особенно при ВРВП. В выборе способа коррекции геморрагического синдрома и заболеваний, его вызывающих, также нет единого подхода, о чём свидетельствует значительное количество публикаций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белобородов В.А., Кельчевская Е.А. Рецидивы кровотечения из острых язв и эрозий верхних отделов пищеварительного тракта. *Acta Biomedica Scientifica*. 2012; (4-1): 21-24.
2. Зубарев П.Н., Трофимов В.М. Хирургические болезни пищевода и кардии. *Руководство для врачей*. СПб.: Фолиант; 2005.
3. Петров В.П., Ерюхин И.А., Шемякин И.С. *Кровотечения при заболеваниях пищеварительного тракта*. М.: Медицина; 1987.
4. Черноусов А.Ф., Богопольский П.М., Курбанов Ф.С. *Хирургия пищевода: руководство для врачей*. М.: Медицина; 2000.
5. Синельников Р.Д., Синельников Я.Р. *Атлас анатомии человека. В 4 томах*. М.: Медицина; 1996.
6. Шалимов А.А., Полупан В.Н. *Атлас операций на пищеводе, желудке и двенадцатиперстной кишке*. М.: Медицина; 1975.
7. Горпинич А.Б., Мангилев С.В. Опыт диагностики и лечения синдрома Маллори-Вейсса. *Здоровье и образование в XXI веке*. 2016; 18(11): 32-35.

8. Панцирев Ю.М., Федоров В.Д., Тимофеев М.Е., Михалев А.И. Эндоскопическое лечение кровотечений, обусловленных синдромом Меллори-Вейсса. *Хирургия*. 2003; (10): 35-40.
9. Тимербулатов Ш.В., Тимербулатов В.М., Мустафин Т.И., Ямалов Р.А. Этиопатогенетические аспекты синдрома Меллори-Вейсса. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2010; 5(3): 24-27.
10. Чередников Е.Ф., Мареев Ю.Ф., Черных А.В., Литовкина Т.Е., Бондаренко А.А., Чередников Е.Е., и др. Современные взгляды на диагностику, лечение и профилактику разрывно-геморрагического синдрома (синдрома Меллори-Вейсса). *Вестник новых медицинских технологий*. 2016; 23(4): 161-172.
11. Forrest JA, Finlayson ND, Shearman DJ. Endoscopy in gastrointestinal bleeding. *Lancet*. 1974; 304(7877): 394-397. doi: 10.1016/S0140-6736(74)91770-X
12. Mallory GK, Weiss S. Hemorrhages from lacerations of the cardiac orifice of the stomach due to vomiting. *American Journal of the Medical Sciences*, 1929; 178: 506-515.
13. Борисов А.Е. (ред.) *Руководство по хирургии печени и желчевыводящих путей*. Т. 1. СПб.: Предприятие ЭФА; 2002.
14. Дашацыренова Д.Б., Гаврилова А.К., Твердохлебов П.О. Эндоскопическое лигирование как метод первичной и вторичной профилактики пищеводных кровотечений при варикозно расширенных венах пищевода *Acta Biomedica Scientifica*. 2017; 2(5-2): 151-153. doi: 10.12737/article_5a3a0ead02b258.50539404
15. Жерлов Г.К., Рудая Н.С., Кошевой А.П., Карпович А.В., Жерлова Т.Г., Чирков Д.Н., и др. Оптимизация прогноза и хирургической профилактики кровотечений из варикозно-расширенных вен пищевода. *Хирургия*. 2006; (7): 27-33.
16. Ивашкин В.Т., Маевская М.В., Павлов Ч.С., Федосына Е.А., Бессонова Е.Н., Пирогова И.Ю., и др. Клинические рекомендации Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации по лечению осложнений цирроза печени. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2016; 26(4): 71-102. doi: 10.22416/1382-4376-2016-26-4-71-102
17. Лебезев В.М., Шерцингер А.Г., Гунзынов Г.Д., Укоев А.Д. Основные показатели хирургического лечения с внепеченочной портальной гипертензией. *Acta Biomedica Scientifica*. 2009; (3): 341-342.
18. Мошарова А.А., Соснин П.С., Алисов В.А., Верткин А.Л. Лечение и профилактика кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода. *Врач скорой помощи*. 2012; (9): 44-50.
19. Шаповалов А.М., Коробка В.Л., Черкасов М.Ф. Способ хирургического лечения и профилактики кровотечений из варикозных вен пищевода и желудка. *Медицинский вестник Юга России*. 2015; (3): 112-114.
20. Шерцингер А.Г. Чжао А.В., Ивашкин В.Т. Лечение кровотечений из варикозно расширенных вен пищевода и желудка. *Анналы хирургической гепатологии*. 2013; 18(3): 110-129.
21. Albillos AM. Survival of patients with cirrhosis after acute variceal bleeding. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. 2009; 101(4): 231-235.
22. Rosemurgy AS, Zervos EE. Management of variceal hemorrhage. *Current Problems in Surgery*, 2003; 40(6): 255-343. doi: 10.1016/s0011-3840(03)00012-1
23. Berzigotti A, García-Pagán JC. Prevention of recurrent variceal bleeding. *Digestive and Liver Disease*. 2008; 40(5), 337-342. doi: 10.1016/j.dld.2007.12.003
24. Berzigotti A, Seijo S, Reverter E, Bosch J. Assessing portal hypertension in liver diseases. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*. 2013; 7(2), 141-155. doi: 10.1586/egh.12.83
25. Crisan D, Tantau M, Tantau A. Endoscopic management of bleeding gastric varices-an updated overview. *Current Gastroenterology Reports*. 2014; 16(10): 413. doi: 10.1007/s11894-014-0413-1
26. Franco MC, Gomes GF, Nakao FS, de Paulo GA, Ferrari AP Jr, Libera ED Jr. Efficacy and safety of endoscopic prophylactic treatment with undiluted cyanoacrylate for gastric varices. *World Journal of Gastrointestinal Endoscopy*. 2014; 6(6): 254-259. doi: 10.4253/wjge.v6.i6.254
27. Emori K, Toyonaga A, Oho K, Kumamoto M, Haruta T, Inoue H, et al. Balloon-occluded retrograde transvenous obliteration versus endoscopic injection sclerotherapy for isolated gastric varices: a comparative study. *The Kurume Medical Journal*. 2014; 60(3.4): 105-113. doi: 10.2739/kurumedj.ms63009
28. Biecker E. Portal hypertension and gastrointestinal bleeding: diagnosis, prevention and management. *World Journal of Gastroenterology*. 2013; 19(31): 5035-5050. doi: 10.3748/wjg.v19.i31.5035
29. Агеев В.А., Кельчевская Е.А., Нетесин Е.С. Эрозивно-язвенный эзофагит, осложненный кровотечением. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2009; 85(2): 105-108.
30. Байжанов С.Ш., Меньшикова И.Л., Байжанов А.С., Болотова О.Г., Ердалиева Л.К., Рысбек Т.Б., и др. Эндоскопический гемостаз при эрозивно-язвенных поражениях верхних отделов желудочно-кишечного тракта. *Вестник КазНМУ*. 2013; (2): 218-220.
31. Волков С.В. Химические ожоги пищевода: эндоскопическая диагностика и лечение. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2002; 12(1): 58-61.
32. Годжелло Э.А. Галлингер Ю.И. Пищевод Баррета, аденокарцинома пищевода и задачи современной гастроэнтерологии. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2001; 11(6): 71-75.
33. Годжелло Э.А. Пищевод Баррета: эндоскопическая диагностика, стратегия наблюдения и лечения. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2002; (5): 67.
34. Геллер Л.И., Бессонова Г.А., Петренко В.Ф. Эрозивный рефлюкс-эзофагит и его лечение. *Терапевтический архив*. 1991; 63(1): 81-84.
35. Касумов Н.А. Рефлюкс-эзофагит: современное состояние проблемы (обзор литературы). *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2007; (4): 62-65.
36. Райхлин Н.Т., Рапопорт С.И., Лаптева О.Н., Расулов М.И., Хуцишвили М.Б., Смирнова Е.А. Гастроэзофагальная рефлюксная болезнь, новые данные по механизму заживления эрозивно-язвенных поражений пищевода. *Клиническая медицина*. 2000; (8): 31-37.
37. Трухманов А.С. Пищевод Баррета: эпидемиология, патогенез, клиническое течение и профилактика. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2002; (5): 59-62.
38. Сотников В.Н., Дубинская Т.К., Разживина А.А. Эндоскопическая диагностика острых кровотечений из

верхних отделов пищеварительного тракта: Учебное пособие. М.: РМАПО; 2000.

39. Эфендиев В.М., Алиев Т.М., Алиев Ф.Г., Велиев М.А., Касумов Н.А., Кязимов А.К. Ваготомия в лечении кровоточащего рефлюкс-эзофагита и гастродуоденальных кровотечений. *Хирургия*. 2004; (6): 24-26.

40. Baker CR, Forshaw MJ, Gossage JA, Ng R, Mason RC. Long-term outcome and quality of life after supercharged jejunal interposition for oesophageal replacement. *Surgeon*. 2015; 13(4): 187-193. doi: 10.1016/j.surge.2014.01.004

41. DeMeester SR. Colon interposition following esophagectomy. *Diseases of the Esophagus*. 2001; 14(3-4): 169-172. doi: 10.1046/j.1442-2050.2001.00180.x

42. Orringer MB, Marshall B, Iannettoni MD. Transhiatal esophagectomy: clinical experience and refinements. *Annals of Surgery*. 1999; 230(3): 392-403. doi: 10.1097/00000658-199909000-00012

REFERENCES

1. Beloborodov VA, Kelchevskaya EA. Relapses of bleeding from acute ulcers and erosions of upper digestive tract. *Acta Biomedica Scientifica*. 2012; (4-1): 21-24. (In Russ.)

2. Zubarev PN, Trofimov VM. *Surgical diseases of the esophagus and cardia. A guide for doctors*. SPb.: Foliant; 2005. (In Russ.)

3. Petrov VP, Eryukhin IA, Shemyakin IS. *Bleeding due to diseases of the digestive tract*. M.: Meditsina; 1987. (In Russ.)

4. Chernousov AF, Bogopolskiy PM, Kurbanov FS. *Surgery of the esophagus: a guide for physicians*. M.: Meditsina; 2000. (In Russ.)

5. Sinelnikov RD, Sinel'nikov YaR. *Atlas of human anatomy*. In 4 volumes. M.: Meditsina; 1996. (In Russ.)

6. Shalimov AA, Polupan VN. *Atlas of operations on the esophagus, stomach and duodenum*. M.: Meditsina; 1975. (In Russ.)

7. Gorpinich AB, Mangilev SV. Diagnosis and treatment experience of Mallory-Weiss syndrome. *Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke*. 2016; 18(11): 32-35. (In Russ.)

8. Pantsirev YuM, Fedorov VD, Timofeyev ME, Mikhailov AI. Endoscopic treatment of Mellory-Weiss syndrome bleeding. *Khirurgiya*. 2003; (10): 35-40. (In Russ.)

9. Timerbulatov ShV, Timerbulatov VM, Mustafin TI, Yamalov RA. Etiopatogenetic aspects of Mallory-Weiss syndrome. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana*. 2010; 5(3): 24-27. (In Russ.)

10. Cherednikov EF, Mareev YuF, Chernykh AV, Litovkina TE, Bondarenko AA, Cherednikov EE, et al. Modern views on diagnosis, treatment and prevention discontinuous-hemorrhagic syndrome (syndrome Mallory-Weiss). *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2016; 23(4): 161-172. (In Russ.)

11. Forrest JA, Finlayson ND, Shearman DJ. Endoscopy in gastrointestinal bleeding. *Lancet*. 1974; 304(7877): 394-397. doi: 10.1016/S0140-6736(74)91770-X

12. Mallory GK, Weiss S. Hemorrhages from lacerations of the cardiac orifice of the stomach due to vomiting. *American Journal of the Medical Sciences*, 1929; 178: 506-515.

13. Borisov AE. (ed.) *Manual on surgery of the liver and biliary tract*. Vol. 1. SPb: Predpriyatie EFA; 2002. (In Russ.)

14. Dashatsyrenova DB, Gavrilova AK, Tverdokhlebov PO. Esophageal variceal ligation in the primary and secondary prevention of variceal bleeding. *Acta Biomedica Scientifica*. 2017; 2(5-2): 151-153. (In Russ.) doi: 10.12737/article_5a3a0ead02b258.50539404

15. Zherlov GK, Rudaya NS, Koshevoy AP, Karpovich AV, Zherlova TG, Chirkov DN, et al. Optimization of the forecast and surgical prevention of bleeding from varicose-esophageal veins of the esophagus. *Khirurgiya*. 2006; (7): 27-33. (In Russ.)

16. Ivashkin VT, Mayevskaya MV, Pavlov CS, Fedosyina YA, Bessonova YN, Pirogova IY, et al. Treatment of liver cirrhosis complications: Clinical guidelines of the Russian Scientific Liver Society and Russian gastroenterological association. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2016; 26(4): 71-102. (In Russ.) doi: 10.22416/1382-4376-2016-26-4-71-102

17. Lebezev VM, Shertsinger AG, Gunzynov GD, Ukojev AD. Main parameters of surgical treatment of patients with anhepatic portal hypertension. *Acta Biomedica Scientifica*. 2009; (3): 341-342. (In Russ.)

18. Mosharova AA, Sosnin PS, Alisov VA, Vertkin AL. Treatment and prevention of bleeding from esophagus varicosities. *Vrach skoroy pomoshchi*. 2012; (9): 44-50. (In Russ.)

19. Shapovalov AM, Korobka VL, Cherkasov MF. The method of surgical treatment and prophylaxis of bleeding from variceal of the esophagus and stomach. *Meditsinskiy vestnik Yuga Rossii*. 2015; (3): 112-114. (In Russ.)

20. Shertsinger AG, Chzhao AV, Ivashkin VT. Treatment of bleedings from varicose veins of the esophagus and stomach. *Annaly khirurgicheskoy gepatologii*. 2013; 18(3): 110-129. (In Russ.)

21. Albillos AM. Survival of patients with cirrhosis after acute variceal bleeding. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. 2009; 101(4): 231-235.

22. Rosemurgy AS, Zervos EE. Management of variceal hemorrhage. *Current Problems in Surgery*, 2003; 40(6): 255-343. doi: 10.1016/s0011-3840(03)00012-1

23. Berzigotti A, García-Pagán JC. Prevention of recurrent variceal bleeding. *Digestive and Liver Disease*. 2008; 40(5), 337-342. doi: 10.1016/j.dld.2007.12.003

24. Berzigotti A, Seijo S, Reverter E, Bosch J. Assessing portal hypertension in liver diseases. *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*. 2013; 7(2), 141-155. doi: 10.1586/egh.12.83

25. Crisan D, Tantau M, Tantau A. Endoscopic management of bleeding gastric varices-an updated overview. *Current Gastroenterology Reports*. 2014; 16(10): 413. doi: 10.1007/s11894-014-0413-1

26. Franco MC, Gomes GF, Nakao FS, de Paulo GA, Ferrari AP Jr, Libera ED Jr. Efficacy and safety of endoscopic prophylactic treatment with undiluted cyanoacrylate for gastric varices. *World Journal of Gastrointestinal Endoscopy*. 2014; 6(6): 254-259. doi: 10.4253/wjge.v6.i6.254.

27. Emori K, Toyonaga A, Oho K, Kumamoto M, Haruta T, Inoue H, et al. Balloon-occluded retrograde transvenous obliteration versus endoscopic injection sclerotherapy for isolated gastric varices: a comparative study. *The Kurume Medical Journal*. 2014; 60(3.4): 105-113. doi: 10.2739/kurumedj.ms63009

28. Biecker E. Portal hypertension and gastrointestinal bleeding: diagnosis, prevention and management. *World Journal of Gastroenterology*. 2013; 19(31): 5035-5050. doi: 10.3748/wjg.v19.i31.5035

29. Ageenko VA, Kelchevskaya EA, Netesin ES. Erosive and ulcerative esophagitis complicated by bleeding. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*. 2009; 85(2): 105-108. (In Russ.)

30. Bayzhanov SSh, Menshikova IL, Bayzhanov AS, Bolotova OG, Erdaliyeva LK, Rysbek TB, et al. Endoscopic

hemostasis in erosive and ulcerous affection of upper sections of the gastrointestinal tract. *Vestnik KazNMU*. 2013; (2): 218-220. (In Russ.)

31. Volkov SV. Chemical burns of the esophagus: endoscopic diagnosis and treatment. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2002; 12(1): 58-61. (In Russ.)

32. Godzhello EA, Gallinger Yul. Barrett's esophagus, adenocarcinoma of the esophagus and tasks of modern gastroenterology. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2001; 11(6): 71-75. (In Russ.)

33. Godzhello EA. Barrett's esophagus: endoscopic diagnosis, monitoring and treatment strategies. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2002; (5): 67. (In Russ.)

34. Geller LI, Bessonova GA, Petrenko VF. Erosive reflux-esophagitis and its treatment. *Terapevtichesky arkhiv*. 1991; 63(1): 81-84. (In Russ.)

35. Kasumov NA. Reflux-esophagitis: current state of problem. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova*. 2007; (4): 62-65. (In Russ.)

36. Raykhlin NT, Rapoport SI, Lapteva ON, Rasulov MI, Khutsishvili MB, Smirnova EA. Gastroesophageal reflux disease, new data on the mechanism of healing of erosive and

ulcerative lesions of the esophagus. *Klinicheskaya meditsina*. 2000; (8): 31-37. (In Russ.)

37. Trukhmanov AS. Barrett's esophagus: epidemiology, pathogenesis, clinical course and prevention. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii*. 2002; (5): 59-62. (In Russ.)

38. Sotnikov VN, Dubinskaya TK, Razzhivina AA. *Endoscopic diagnosis of acute bleeding from the upper digestive tract*. M.: RMAPO; 2000. (In Russ.)

39. Efendiev VM, Aliev TM, Aliev FG, Veliev MA, Kasumov NA, Kyazimov AK. Vagotomy in the treatment of hemorrhagic reflux-esophagitis and gastroduodenal bleedings. *Khirurgiya*. 2004; (6): 24-26. (In Russ.)

40. Baker CR, Forshaw MJ, Gossage JA, Ng R, Mason RC. Long-term outcome and quality of life after supercharged jejunal interposition for oesophageal replacement. *Surgeon*. 2015; 13(4): 187-193. doi: 10.1016/j.surge.2014.01.004

41. DeMeester SR. Colon interposition following esophagectomy. *Diseases of the Esophagus*. 2001; 14(3-4): 169-172. doi: 10.1046/j.1442-2050.2001.00180.x

42. Orringer MB, Marshall B, Iannettoni MD. Transhiatal esophagectomy: clinical experience and refinements. *Annals of Surgery*. 1999; 230(3): 392-403. doi: 10.1097/00000658-199909000-00012

Сведения об авторах

Белобородов Владимир Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей хирургии и анестезиологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: bva555@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3299-1924>

Кожевников Михаил Александрович – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры общей хирургии и анестезиологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: mihail.kozhevnikov.1975@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2412-5831>

Кельчевская Елена Арнольдовна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей хирургии и анестезиологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: kelch@yandex.ru

Олейников Игорь Юрьевич – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры общей хирургии и анестезиологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: i.oleynikov@ismu.baikal.ru

Фролов Александр Петрович – кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей хирургии и анестезиологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: frolovphd@mail.ru

Information about the authors

Vladimir A. Beloborodov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of General Surgery and Anesthesiology, Irkutsk State Medical University, e-mail: bva555@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3299-1924>

Mikhail A. Kozhevnikov – Cand. Sc. (Med.), Teaching Assistant at the Department of General Surgery and Anesthesiology, Irkutsk State Medical University, e-mail: mihail.kozhevnikov.1975@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2412-5831>

Elena A. Kelchevskaya – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of General Surgery and Anesthesiology, Irkutsk State Medical University, e-mail: kelch@yandex.ru

Igor Yu. Oleynikov – Cand. Sc. (Med.), Teaching Assistant at the Department of General Surgery and Anesthesiology, Irkutsk State Medical University, e-mail: i.oleynikov@ismu.baikal.ru

Alexandr P. Frolov – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of General Surgery and anesthesiology, Irkutsk State Medical University, e-mail: frolovphd@mail.ru

Статья получена: 20.09.2018. Статья принята: 15.05.2019. Статья опубликована: 26.06.2019.
Received: 20.09.2018. Accepted: 15.05.2019. Published: 26.06.2019.

Нейрогенная дисфункция мочевого пузыря у онкобольных, оперированных на органах малого таза

Онопко В.Ф.¹, Загайнова Е.А.², Кириленко Е.А.¹

¹ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия); ² ГБУЗ «Областной онкологический диспансер» (664035, г. Иркутск, ул. Фрунзе, 32, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Онопко Виктор Федорович, e-mail: onopkovf@mail.ru

Резюме

Обзор посвящён одному из наиболее часто встречаемых осложнений оперативного лечения онкологических больных с заболеваниями органов малого таза – нарушению мочеиспускания. Дизурия у этой категории пациентов чаще всего представлена недержанием мочи, детрузорной арефлексией, гиперактивным мочевым пузырём. Авторы обобщили и проанализировали отечественные и зарубежные работы, описывающие механизм развития нейрогенной дисфункции мочевого пузыря, развивающейся после операций на органах малого таза у онкобольных. Согласно современным представлениям, в основе данных нарушений лежит травма тазовых нервов с прерыванием рефлекторной дуги. Довольно высокий уровень осложнений со стороны мочевой системы обусловлен и тесным анатомо-топографическим взаимоотношением органов малого таза, с одной стороны, и расширением показаний к радикальному хирургическому лечению, с другой. Нарушение функции мочевого пузыря представляет собой серьёзную проблему, требующую адекватных методов лечения, а также принятия мер профилактики мочевой инфекции.

Учитывая сложную нейроанатомию мочевого пузыря, его близкое расположение с прямой кишкой и маткой, а также объём и радикальность онкологических операций, урологических осложнений избежать сложно, а часто невозможно. Однако тщательный сбор урологического анамнеза позволяет прогнозировать развитие, тяжесть послеоперационных расстройств мочеиспускания, отличить имевшие место до операции симптомы дисфункции мочевого пузыря от развившихся в послеоперационном периоде. Их ранняя диагностика в послеоперационном периоде способствует своевременно начать комплекс лечебных и реабилитационных мероприятий, а значит повысить уровень качества жизни пациентов и избежать более тяжёлых урологических проблем в последующем.

Ключевые слова: колоректальный рак, нейрогенная дисфункция мочевого пузыря, онкологический больной, операции на органах малого таза, рак шейки матки

Для цитирования: Онопко В.Ф., Загайнова Е.А., Кириленко Е.А. Нейрогенная дисфункция мочевого пузыря у онкобольных, оперированных на органах малого таза. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 89-95. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.11

Neurogenic Bladder Dysfunction in Cancer Patients after Operations on the Pelvic Organs

Onopko V.F.¹, Zagainova E.A.², Kirilenko E.A.¹

¹ Irkutsk State Medical University (ul. Krasnogo Vosstaniya 1, Irkutsk 664003, Russian Federation); ² Irkutsk Regional Oncological Dispensary (ul. Frunze 32, Irkutsk 664035, Russian Federation)

Corresponding author: Viktor F. Onopko, e-mail: onopkovf@mail.ru

Abstract

The review is devoted to the generalization and analysis of domestic and foreign works describing the mechanism of development of neurogenic dysfunction of the bladder after surgery on the pelvic organs in cancer patients. All modern authors agree that the cause of these disorders is trauma of the pelvic nerves and interruption of the reflex arc. Unfortunately, when removing malignant tumors of the pelvic organs, urological complications are difficult and often impossible to avoid. This is due to the complex neuroanatomy of the bladder, its proximity to the rectum, the uterus, as well as the volume and radicality of cancer operations. The article shows that if the parasympathetic ganglia are damaged, there is a violation of the evacuation function of the bladder and a weakening or absence of the urge to urinate. If the sympathetic nervous system is damaged in isolation, on the contrary, an increase in the detrusor tone, intravesical pressure and a decrease in the capacity of the bladder is observed, which is in conditions of low bladder sphincter tone causes imperative urges, frequent urination and incontinence. Prior radiation therapy also affects the development of urological complications. Postradiation soft tissue changes, ischemia, fibrosis lead to great technical difficulties during surgery. In addition, factors that are important in the development of pelvic disorders in this category of patients include urinary system diseases and metabolic – endocrine disorders in case history.

Key words: cancer patients, colorectal cancer, cervical cancer, neurogenic bladder dysfunction, surgery on the pelvic organs

For citation: Onopko V.F., Zagainova E.A., Kirilenko E.A. Neurogenic bladder dysfunction in cancer patients after operations on the pelvic organs. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 89-95. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.11

Среди осложнений оперативного лечения онкологических больных с заболеваниями органов малого таза одно из первых мест занимают нарушения мочеиспускания [1, 2]. Частота развития и вид данных расстройств зависят от объёма и вида оперативного вмешательства, локализации опухолевого процесса [1–3]. Среди онко-

логических больных с заболеваниями органов малого таза одно из первых мест занимают нарушения мочеиспускания [1, 2]. Частота развития и вид данных расстройств зависят от объёма и вида оперативного вмешательства, локализации опухолевого процесса [1–3]. Среди онко-

заболеваний, лечение которых вызывает нейрогенные нарушения мочеиспускания, колоректальный рак и рак шейки матки занимают определённую нишу. Распространённость рака прямой кишки, ректосигмоидного отдела и ануса в 2017 г. составила 108,5 случая на 100 тыс. населения, что на 3,1 случая больше, чем в предыдущем, 2016 г. [4, 5]. Распространённость рака шейки матки в 2017 г. составила 122,3 случая на 100 тыс. населения, а рака тела матки – 175,5 случая на 100 тыс. населения, с приростом на 1,0 и 4,7 случая соответственно [5]. При этом хирургическое лечение этих заболеваний остаётся преобладающим и, в среднем, проводится у 85,2–95,4 % больных [5, 6].

Стандартными объёмами операции по поводу колоректального рака и рака сигмовидной кишки являются чрезбрюшная резекция прямой кишки, низкая чрезбрюшная резекция прямой кишки, брюшно-анальная резекция прямой кишки, операция Гартмана, брюшно-промежностная экстирпация прямой кишки [7, 8, 9]. Согласно рекомендациям Российского общества онкологов, операция должна предусматривать сохранение тазовых вегетативных нервов, преаортального и нижнего брыжеечного вегетативного нервных сплетений [10]. Как правило, изолированная перевязка сосудов позволяет избежать пересечения поясничных внутренностных нервов, участвующих в формировании верхнего гипогастриального сплетения.

Таким образом, мобилизация кишки начинается заведомо выше верхнего гипогастриального сплетения. После его обнаружения диссекция продолжается вплотную к его передней поверхности. Мобилизация кишки продолжается в каудальном направлении, оставляя визуализированные верхнее гипогастриальное сплетение и гипогастриальные нервы на задней брюшной стенке. Визуальный контроль за положением гипогастриальных нервов продолжается до их соединения с нижним гипогастриальным сплетением, или до латеральных связей прямой кишки, а пересечение последних производится при помощи современного электроинструмента, под контролем зрения, что позволяет избежать грубого травмирования нижнего гипогастриального сплетения [10].

Не смотря на рекомендации по максимальному сохранению вегетативных нервных волокон, визуально определить и выделить сосудисто-нервный пучок при местно-распространённом раке и/или после лучевой терапии чаще всего невозможно. Кроме того, даже прецизионное выделение гипогастриальных нервов, визуализируемых интраоперационно не профилактирует развитие нейрогенных нарушений мочеиспускания, ввиду повреждения в дистальных отделах нижнего гипогастриального и пресакрального сплетений [11]. Свою роль вносит и электротравма при «горячем» выделении структур.

Число дисфункций мочевого пузыря после оперативного лечения колоректального рака в течение последних 50 лет остаётся стабильно высоким. Л.С. Гельфенбейн и А.Х. Волкова (1970) констатировали развитие дисфункций мочевого пузыря в первые сутки после операции у 47 % больных, но уже к моменту выписки, после проведения консервативных лечебных мероприятий нарушения мочеиспускания сохранялись только у 3 % из них [12]. С.А. Холдин (1977) провёл анализ осложнений у 720 пациентов, оперированных по поводу колоректального рака, и констатировал стойкие нарушения мочеиспу-

скания в позднем послеоперационном периоде только у 3,3 % случаев [11]. И всё же эти цифры существенно разнятся. Так, М. Амниев (1981) описывает дисфункцию мочевых путей после оперативного лечения в 44 % случаев, однако стоит заметить, что он не оценивает её в позднем послеоперационном периоде [13]. Уже в наше время А.А. Доманский (2011) проводил анализ группы пациентов из 187 человек в зависимости от анатомии гипогастриального нерва и степени его повреждения. Согласно результатам его работы, при локализации опухоли в ректосигмоидном отделе чаще сохранялись элементы вегетативной нервной системы. При полном пересечении тазовой вегетативной нервной системы задержка мочи происходила в 16 случаях, но только у 3 пациентов тяжёлой степени тяжести. При частичном повреждении нервных структур у пяти пациентов возникла лёгкая преходящая задержка мочеиспускания, не требующая лечения, и у двоих пациентов задержка мочеиспускания средней степени тяжести. Кроме того, 4 пациента из данной группы отмечали в послеоперационном периоде недержание мочи. Н.И. Глушков с соавт. (2012) провели подобную работу, ретроспективно оценивая частоту урологических осложнений у 1083 пациентов, прооперированных по поводу рака прямой кишки. У 255 (23,6 %) пациентов в послеоперационном периоде были отмечены урологические осложнения, и у 43,7 % из них (131 человек) – нейрогенной природы [2, 3].

Нарушения мочеиспускания в послеоперационном периоде описывают и другие исследователи [14–19]. Вероятно, такой разброс данных по развитию осложнений зависит от опыта хирурга, стадии заболевания, выполненной первым этапом лечения лучевой терапии и ряда других факторов.

Частота развития в послеоперационном периоде дисфункций мочевого пузыря у онкогинекологических пациенток сопоставима с колопроктологическими операциями и составляет от 0,8 до 40,8 % [17, 18, 20–25]. В своё время J.L. Powell et al. (1981) после радикальной гистерэктомии описали нарушения мочеиспускания только у 4 из 135 (3 %) пациенток [26]. A.G.G. Kenter et al. (1989), проведя наблюдение за 213 пациентами в послеоперационном периоде, сообщают о дизурии и других более тяжёлых нарушениях мочеиспускания уже у 87 (40,8 %) из них [20]. В отдалённом послеоперационном периоде (спустя 12 месяцев после радикальной гистерэктомии) P. Benedetti-Panici et al. (2004) отмечали нарушение функции мочевого пузыря у 52 % пациенток [21]. В более поздние сроки (от 6 до 30 лет) её нормализация наступает лишь у 4,1 % женщин [27].

Возможно ли снизить количество осложнений со стороны нижних мочевых путей при онкогинекологических оперативных вмешательствах?

В лечении рака шейки матки в настоящее время используются, в основном, два метода – хирургический и лучевой, а также их комбинация. Основным методом хирургического лечения больных раком шейки матки является операция Вертгейма – Мейгса, предполагающая удаление большей части кардинальных, крестцово-маточных связок, верхней трети влагалища и лимфатических узлов таза [4, 28, 29]. При этом риск повреждения вегетативных сплетений малого таза велик. Так, при пересечении крестцово-маточной связки происходит повреждение гипогастриального нерва, являющегося частью

симпатической иннервации мочевого пузыря и тазовых внутренностных нервов, отвечающих за парасимпатическую иннервацию. Парасимпатическая иннервация нарушается также при пересечении кардинальной связки и лимфаденэктомии в области внутренней подвздошной вены и её притоков. Нижнее гипогастральное сплетение может травмироваться при иссечении крестцово-маточной связки и глубокой маточной вены. А при диссекции пузырно-маточной связки пересекаются пузырные ветви тазового сплетения. При расширенной лимфаденэктомии в области общих подвздошных сосудов и бифуркации аорты и нижней полой вены повреждается верхнее гипогастральное сплетение [1, 29–32].

Если проводилась предоперационная лучевая терапия, то число послеоперационных осложнений со стороны мочевых путей возрастает до 25 %, и ряд авторов предлагают выполнять катетеризацию мочеточников [33]. Но осложнения после предшествующей лучевой терапии могут развиваться в отдалённом послеоперационном периоде, развивается рубцово-спаечный процесс с уретерогидронефрозом. Такие осложнения T. Tsursaki, K. Hoshino et al. (1994) диагностировали у 9 % больных [34]. Следует отметить, что количество осложнений прямо пропорционально объёму оперативного вмешательства. Так, при исследовании парных когорт W. Wang (2017) определил, что при гистерэктомии I класса интраоперационных осложнений не было, тогда как при гистерэктомии III класса ранение мочевых органов встречались в 5,7 % случаев [35]. Однако большинство авторов отмечают дисфункции мочевого пузыря довольно частым осложнением при лечении рака шейки матки, возникающим от 0,8 до 40,8 % случаев [17, 18, 20–25].

Все современные авторы сходятся во мнении [2, 3, 11, 13, 15, 17, 27], что причиной данных нарушений является травма тазовых нервов и прерывание нервной дуги. Однако ещё в середине XX в. причина дизурии у этих больных вызвала значительные дискуссии. В 1950 г. P. Watson и D. Williams полагали, что причиной нарушений мочеиспускания у мужчин является обструкция мочевых путей, обусловленная предстательной железой, вследствие её послеоперационного отёка, что чаще возникает у пациентов с аденомой простаты. Авторы предлагали превентивную аденомэктомию во избежание урологических осложнений после хирургического лечения рака прямой кишки [36]. Но уже в 1991 г. J. Anderson, J. Grant доказали ошибочность суждений P. Watson и D. Williams, проведя пациентам уродинамическое исследование до и после операции по поводу рака прямой кишки и показав, что 18 % пациентов с послеоперационным нарушением мочеиспускания до операции не имели никаких признаков обструкции нижних мочевых путей [37]. Кроме того, доброкачественная гиперплазия предстательной железы никак не может быть причиной нарушений мочеиспускания у онкогинекологических пациенток. Также высказывалось предположение о значимой роли тугой тампонады промежности после экстирпации прямой кишки, однако с развитием инструментария и при современных методах коагуляции данные ситуации крайне редки, а нарушения мочеиспускания сохраняются в том же количестве [38].

Первая работа, посвящённая нейрофизиологии акта мочеиспускания, появилась в 1903 г., когда Jean Casimir Félix Guyon опытным путём доказал значение спинномозговых нервов в регуляции мочеиспускания и констати-

ровал, что их повреждение ведёт к нарушению функции мочевого пузыря [39]. Чуть позже F.D. Barrington (1914) отметил роль подчревного нервного ствола, а в 1925 г. он же описывает мозговой центр регуляции мочеиспускания [40, 41]. Изучение механизмов управления и нарушения мочеиспускания продолжили и другие физиологи.

J.T. Fowler (1973), H.U. Eickenberg (1976) одними из первых высказывались о нейрогенной природе дисфункций мочевого пузыря в послеоперационном периоде [16]. Но подробная анатомия тазового нервного сплетения была описана лишь в 1982 г. A.R. Mundy, который показал ход нервных пучков, их прохождение по переднее-латеральной поверхности прямой кишки и плотную связь с ней [42]. После этой работы уже не стояли сомнения в роли интраоперационного нарушения целостности тазовых нервов в развитии дизурии и других дисфункций мочевого пузыря. Впоследствии J.R. Woodside и F.D. Crawford (1980) доказали роль интраоперационной травмы срамного нерва в развитии дизурии [19].

Учитывая сложную нейроанатомию мочевого пузыря, его близкую взаимосвязь с прямой кишкой и маткой, а также объёмы и радикальность онкологических операций, урологические осложнения при удалении злокачественных опухолей органов малого таза неизбежны. Статистически значимое количество нарушений мочеиспускания возникают при лечении колоректального рака, рака шейки матки и предстательной железы, что обусловлено связью мочепузырного сплетения множеством соединительных ветвей со средним и нижним прямокишечными сплетениями, сплетением семявыносящего протока, предстательной железы (у мужчин), маточно-влагалищным (у женщин) [5, 10, 31, 42, 43, 44]. Несомненно, что довольно высокий уровень осложнений со стороны мочевой системы обусловлен и тесным анатомо-топографическим взаимоотношением органов малого таза, с одной стороны, и расширением показаний к радикальному хирургическому лечению, с другой.

И гинекологи, и проктологи в послеоперационном периоде часто констатируют развитие детрузорно-сфинктерной диссинергии. Основным расстройством после расширенной экстирпации матки и операций по поводу рака прямой кишки в раннем послеоперационном периоде является затруднение мочеиспускания, связанное с поражением парасимпатической системы. При этом большинство пациентов отмечают ослабление или отсутствие позыва на мочеиспускание. Нарушение эвакуаторной функции мочевого пузыря представляет собой серьёзную проблему, требующую адекватного и порой длительного дренирования мочевого пузыря, а также принятия мер профилактики мочевой инфекции [31, 45].

Изолированное повреждение симпатической нервной системы наоборот приводит к увеличению тонуса детрузора и снижению ёмкости мочевого пузыря, и увеличению внутрипузырного давления. А это в условиях сниженного тонуса сфинктера мочевого пузыря является причиной императивных позывов, учащённого мочеиспускания и недержания мочи [45].

Однако не существует достаточного количества работ, сравнивающих урологические осложнения после колопроктологических и гинекологических операций с описанием их особенностей и методов лечения.

Не стоит забывать и о комбинированном виде лечения, когда операция проводится после лучевой терапии,

приводящей к повреждению кровеносных сосудов, некрозу эндотелиальных клеток и развитию ишемии и фиброза с облитерацией клетчаточных пространств и, как следствие, диссекция тканей у таких пациентов проводится с большими техническими трудностями, сосудисто-нервные пучки не дифференцируются, чаще используется электроинструментарий [46–49].

Поэтому сохранить тазовые нервы чаще удавалось у больных, не получавших лучевую терапию, в то время как их повреждение чаще происходило у больных, получавших предоперационное облучение (25,0 % и 11,6 % соответственно) [50].

Исключая общие для различных видов хирургического вмешательства послеоперационные осложнения, такие, как парезы кишечника, кишечная непроходимость, нагноения послеоперационных ран и другие, а для лучевой терапии – лучевые ректиты и циститы, наиболее характерными для рака шейки матки являются лимфатические кисты, тогда как для колоректального рака – несостоятельность анастомоза. Урологические осложнения при этом не отличались [12, 31, 45].

Кроме всего изложенного такая сопутствующая патология, как эндокринно-обменные нарушения, сахарный диабет, гипертоническая болезнь, существенно влияет на развитие осложнений. Метаболическая патология зачастую вызывает изменения стенок сосудов, нарушение кровоснабжения и иннервации внутренних органов [29].

К возможным факторам риска развития послеоперационных осложнений относятся и заболевания мочевыделительной системы в анамнезе. Стрессовое или смешанное недержание мочи в дооперационном периоде проявит себя и после операции. Дизурия, связанная с гиперплазией предстательной железы, в послеоперационном периоде может усилиться из-за наличия воспалительного процесса в малом тазу и как следствие отёка простаты. По данным С.В. Мухтарулина и А.Д. Каприна (2016), при тщательном уродинамическом исследовании до операции 80,0 % больных раком шейки матки перед операцией сталкивались с той или иной степенью дисфункции мочевого пузыря, что не позволяет сделать окончательные выводы о периодичности дисфункции нижних мочевых путей после радикальной гистерэктомии. Поэтому тщательный сбор анамнеза и урологическое исследование необходимо ещё до операции, для уточнения характера дизурии в последующем [45].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в основе развития дисфункции мочевого пузыря при хирургическом лечении рака прямой кишки и рака шейки матки лежат сложная нейроанатомия мочевого пузыря (его близкая взаимосвязь с прямой кишкой и маткой), а также объём и радикальность операций. Наиболее часто у этих больных развиваются недержание мочи, детрузорная арефлексия, гиперактивный мочевой пузырь. Избежать их при таких видах операций практически невозможно, а профилактика больше носит теоретический характер. Тем не менее, тщательный сбор урологического анамнеза позволяет отличить имевшие место до операции симптомы дисфункции мочевого пузыря от развившихся в послеоперационном периоде как осложнение операции. Их ранняя диагностика в послеоперационном периоде позволяет своевременно начать лечение и избежать более тяжёлых урологи-

ческих проблем. Такие пациенты, имеют, как правило, низкий уровень качества жизни и подлежат длительной реабилитации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Басиашвили Г.Т., Хайруллина Г.Р., Ахмадеев Н.Р., Гатауллин И.Г., Ульянов М.Ю. Урологические осложнения операций на органах малого таза. *Поволжский онкологический вестник*. 2017; (4): 99-104.
2. Доманский А.А., Манихас Г.М., Беляев А.М., Фридман М.Х., Братов О.З. Роль нервосохраняющих операций в профилактике дисфункции мочеполовой системы при операциях по поводу рака прямой кишки. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2009; (1-2): 83.
3. Глушков Н.И., Гуляев А.В., Мусукаев Х.М., Иогансон Д.Р., Черных Д.А. Профилактика, лечение и прогнозирование послеоперационных урологических осложнений у больных раком прямой кишки. *Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина*. 2012; (1): 165-171.
4. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. (ред.) *Состояние онкологической помощи населению России в 2016 году*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2017.
5. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. *Состояние онкологической помощи населению России в 2017 году*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2018.
6. Керимов А.Х., Велибекова М.Ч. Непосредственные результаты хирургического лечения рака прямой кишки. *Сибирский онкологический журнал*. 2010; (5): 59-63.
7. Григорьев Е.Г., Шелехов А.В. Рак прямой кишки (лекция). *Acta Biomedica Scientifica*. 2015; (1): 84-90.
8. Кожевников А.И., Парахоняк В.И., Голубинский В.И. Обрушно-анальных резекциях прямой кишки при раке. *Вопросы онкологии*. 1978; (4): 9-11.
9. Царьков П.В., Воробьев Г.И., Одарюк Т.С. Место и роль расширенной аортоподвздошно-тазовой лимфаденэктомии в лечении рака нижнеампулярного отдела прямой кишки. В кн.: Тюлядин С.А., Моисеенко В.М. (ред.) *Практическая онкология: избранные лекции*. СПб.: Центр ТОММ; 2004, 168-180.
10. Алиев В.А., Артамонова Е.В., Балясникова С.С., Барсуков Ю.А., Глебовская В.В., Гордеев С.С. и др. *Клинические рекомендации по диагностике и лечению больных раком прямой кишки*. М.; 2014.
11. Холдин С.А. *Новообразования прямой и сигмовидной кишок*. М.: Медицина; 1977.
12. Гельфейнбейн Л.С., Волкова А.Х. *О болезнях прямой и толстой кишок*. М.; 1970.
13. Аминев А.М., Блинничев Н.М., Веретенников В.И., Чернягина З.А. Послеоперационные осложнения радикальных операций при раке прямой кишки. *Проблемы проктологии: Тез. докл. 2-й Всесоюз. конф.* Ереван; 1981, 62-63.
14. Астапов В.М., Микадзе Ю.В. *Атлас «Нервная система человека. Строение и нарушения»*. М.: ПЕР СЭ; 2004.
15. Eickenberg HU, Amin M, Klompus W, Lich R Jr. Urologic complications following abdominoperineal resection. *J Urol*. 1976; 115(2): 180-182. doi: 10.1016/S0022-5347(17)59124-7
16. Fowler JW. Bladder function following abdominoperineal excision of the rectum for carcinoma. *Br J Surg*. 1973; 60(7): 574-576. doi: 10.1002/bjs.1800600721

17. Lin HH, Yu HJ, Sheu BC, Huang SC. Importance of urodynamic study before radical hysterectomy for cervical cancer. *Gynecol Oncol.* 2001; 81(2): 270-272. doi: 10.1006/gyno.2001.6155
18. Mundy AR. An anatomical explanation for bladder dysfunction following rectal and uterine surgery. *Br J Urol.* 1982; 54(5): 501-504. doi: 10.1111/j.1464-410X.1982.tb13575.x
19. Woodside JR, Crawford ED. Dissolution of vesical calculi with Renacidin in a paraplegic man. *Paraplegia.* 1980; 18(1): 69-71. doi: 10.1038/sc.1980.11
20. Kenter GG, Ansink AC, Heintz AP, Aartsen EJ, Delemarre JF, Hart AA. Carcinoma of the uterine cervix stage I and IIA: results of surgical treatment: complications, recurrence and survival. *Eur J Surg Oncol.* 1989; 15(1): 55-60
21. Benedetti-Panici P, Zullo MA, Plotti F, Mancini N, Muzii L, Angioli R. Long-term bladder function in patients with locally advanced cervical carcinoma treated with neoadjuvant chemotherapy and type 3-4 radical hysterectomy. *Cancer.* 2004; 100(10): 2110-2117. doi: 10.1002/cncr.20235
22. Kindermann G, Debus-Thiede G. Postoperative urological complications after radical surgery for cervical cancer. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol.* 1988; 2(4): 933-941.
23. Ralph G, Burmucic RF. Functional disorders of the lower urinary tract following a radical abdominal operation in cervical cancer. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 1985; 45(9): 625-629. doi: 10.1055/s-2008-1036381
24. Sharma R, Bailey J, Anderson R, Murdoch J. Laparoscopically assisted radical vaginal hysterectomy (Coelio-Schauta): a comparison with open Wertheim/Meigs hysterectomy. *Int J Gynecol Cancer.* 2006; 16(5): 1927-1932. doi: 10.1111/j.1525-1438.2006.00661.x
25. Valente S. Urological problems and quality of life after treatment in early cervical cancer. *Eur J Gynaecol Oncol.* 1988; 9(5): 424-427.
26. Powell JL, Burrell MO, Franklin EW. Radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy. *Gynecol oncol.* 1981; 12(1): 23-32.
27. Chuang TY, Yu KJ, Penn IW, Chang YC, Lin PH, Tsai YA. Neurourological changes before and after radical hysterectomy in patients with cervical cancer. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2003; 82(10): 954-959. doi: 10.1034/j.1600-0412.2003.00177.x
28. Бохман Я.В. *Руководство по онкогинекологии.* М.: Медицина; 1989.
29. Вернер П., Зердель Ю. *Радикальная операция Вертгейма при раке шейки матки.* М.: Медгиз; 1960: 76
30. Кузнецов В.В., Морхов К.Ю., Лебедев А.И., Нечушкина В.М., Усманова Л.Ш. Радикальные операции при раке шейки матки. *Материалы VIII Российского онкологического конгресса, 23-25 ноября 2014 года.* М.: Издат. группа РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН: Клевер Принт; 2004.
31. Свиницкий В.С., Воробьева Л.И., Стаховский Э.А., Лигирда Н.Ф., Дерменжи Т.В., Яцина А.И. Расширенная гистерэктомия (C1 nerve-sparing dissection) у больных инвазивным раком шейки матки. *Клиническая онкология.* 2013; (2): 72-78.
32. Sakuragi N, Todo Y, Sato T. Functional and anatomical consideration of systematic nerve-sparing radical hysterectomy in invasive cervical cancer. In: Banks EP (ed.) *Cervical cancer research trends.* New York: Nova Science Publishers; 2007. 33-68.
33. Франк М.А., Санжаров А.Е., Мирошниченко В.И., Шамуратов Р.Ш., Мурзин М.О., Капустин К.И., и др. Лапароскопические операции в урологии и их осложнения. *Уральский медицинский журнал.* 2017; (2): 96-99.
34. Tsurusaki T, Hoshino K, Igawa T, Koga S, Matsuya F, Yamashita S, et al. Clinical examination and therapies of hydronephrosis after radical hysterectomy. *Nihon Hinyokika Gakkai Zasshi.* 1994; 85(2): 328-332. doi: 10.5980/jpnj-uro1989.85.328
35. Wang W, Shang CI, Du Qq, Wu D, Liang Yc, Liu Ty, et al. Class I versus Class III radical hysterectomy in stage IB1 (tumor \leq 2 cm) cervical cancer: a matched cohort study. *J Cancer.* 2017; 8(5): 825-831. doi: 10.7150/jca.17663
36. Williams DI, Watson PC, Goligher JC, Riches EW, Gabriel WB, Pyrah LN. Discussion on urological complications of excision of the rectum. *Proc R Soc Med.* 1951; 44(9): 819-828.
37. Anderson JB, Grant JB. Postoperative retention of urine: a prospective urodynamic study. *BMJ.* 1991; 302(6781): 894-896. doi: 10.1136/bmj.302.6781.894
38. Rankin JT. Urological complications of rectal surgery. *Br J Urol.* 1969; 41(6): 655-659. doi: 10.1111/j.1464-410X.1969.tb09972.x
39. Guyon Felix JC. *Leçons cliniques sur les maladies des voies urinaires: sémiologie, diagnostic, pathologie et thérapeutique générale.* Paris: J.B. Baillière et fils; 1903.
40. Barrington FJF. The relation of the hind-brain to micturition. *Brain.* 1921; 44(1): 23-53. doi: 10.1093/brain/44.1.23
41. Barrington FJF. The effect of lesions of the hind- and mid-brain on micturition in the cat. *Experimental Physiology.* 1925; 15(1): 81-102. doi: 10.1113/expphysiol.1925.sp000345
42. Mundy AR, Fitzpatrick J, Neal DE, George NJR (eds.). *The Scientific Basis of Urology.* 3rd edition. London: Informa healthcare; 2010. doi: 10.3109/9781841847498
43. Дерменжи Т.В., Свиницкий В.С., Неспрядько С.В., Лигирда Н.Ф., Саховский А.Э., Яцина А.И., и др. Нервосохраняющая радикальная гистерэктомия у больных инфильтративным раком шейки матки. *Здоровье женщины.* 2016; 6(112): 46-51. doi: 10.15574/HW.2016.112.46
44. Фениш Х., Даубер В. *Карманный атлас анатомии человека: на основе международной номенклатуры.* М.: Дилия; 2007.
45. Мухтарулина С.В., Каприн А.Д. Причины развития дисфункций нижних мочевыводящих путей у больных инвазивным раком шейки матки после радикальной гистерэктомии (обзор литературы). *Экспериментальная и клиническая урология.* 2016; (3): 137-143
46. Гусарева М.А., Розенко Л.Я., Непомнящая Е.М., Новикова И.А., Ульянова Е.П. Неоадъювантная лучевая терапия рака прямой кишки. *Современные проблемы науки и образования.* 2017; (2): 116
47. Дворниченко В.В., Афанасьев С.Г., Шелехов А.В., Расулов Р.И., Москвина Н.А. Неоадъювантная терапия осложненного рака прямой кишки. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск).* 2009; (3): 158-160.
48. Деньгина Н.В., Родионов В.В. *Основы лучевой терапии злокачественных новообразований.* Ульяновск: УлГУ; 2013.
49. Крячок И.А., Ульянченко Е.О., Кадникова Т.В., Титоренко И.Б., Алексок И.М., Мартынич А.В., и др. Отдаленные осложнения лучевой терапии у больных со злокачественными заболеваниями. *Клиническая онкология.* 2017; (4): 59-62.
50. Российское общество клинической онкологии. *Практические рекомендации по лекарственному лечению больных раком шейки матки.* М.: RUSSCO; 2014.

REFERENCES

1. Basiashvili GT, Khairullina GR, Akhmadeev NR, Gataulin IG, Ulyanin MYu. Urological complications of operations on the pelvic organs. *Povolzhskiy onkologicheskii vestnik*. 2017; (4): 99-104. (In Russ.)
2. Domansky AA, Manikhas GM, Belyaev AM, Friedman MH, Bratov OZ. The role of nerve-sparing surgeries in the prevention of urogenital dysfunction during operations for colorectal cancer. *Vestnik Rossiyskoy voenno-meditsinskoy akademii*. 2009; (1-2): 83. (In Russ.)
3. Glushkov NI, Gulyaev AV, Musukaev HM, loganson DR, Chernykh DA. Prevention, treatment and prognosis of post-operative urological complications in patients with colorectal cancer. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta. Meditsina*. 2012; (1): 165-171. (In Russ.)
4. Kaprin AD, Starinsky VV, Petrova GV. (ed.) *State of cancer care in Russia in 2016*. M.: MNIOL im. P.A. Gertsena filial FGBU «NMITs radiologii» Minzdrava Rossii; 2017. (In Russ.)
5. Kaprin AD, Starinsky VV, Petrova GV. *State of cancer care in Russia in 2017*. M.: MNIOL im. P.A. Gertsena – filial FGBU «NMITs radiologii» Minzdrava Rossii, 2018. (In Russ.)
6. Kerimov AKh, Velibekova MC. Direct results of surgical treatment of rectal cancer. *Sibirskiy onkologicheskii zhurnal*. 2010; (5): 59-63. (In Russ.)
7. Grigoriev EG, Shelekhov AV. Rectal cancer (lecture). *Acta Biomedica Scientifica*. 2015; 1(101): 84-90. (In Russ.)
8. Kozhevnikov AI, Parakhonyak VI, Golubinsky VI. On abdominal and anal resections of the rectum in cancer. *Voprosy onkologii*. 1978; (4): 9-11. (In Russ.)
9. Tsar'kov PV, Vorobiev GI, Odaryuk TS. Place and role of extended aorto-iliac-pelvic lymphadenectomy in the treatment of cancer of the rectum. In: Tyulyandin SA, Moiseenko VM. (ed.). *Prakticheskaya onkologiya: izbrannye lektsii*. SPb.; 2004, 168-180. (In Russ.)
10. Aliev VA, Artamonova EV, Balyasnikova SS, Barsukov YuA, Glebovskaya VV, Gordeev SS, et al. *Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of patients with rectal cancer*. M.; 2014. (In Russ.)
11. Kholdin SA. *Neoplasms of direct and sigmoid intestines*. M.: Meditsina; 1977. (In Russ.)
12. Gelfeinbane LS, Volkova AKh. *On the diseases of the rectum and colon*. M.; 1970. (In Russ.)
13. Aminev AM, Blinnichev NM, Veretennikov VI, Chernyagina ZA. Postoperative complications of radical surgery for rectal cancer. *Problemy proktologii: Tez. dokl. 2-y Vsesoyuzn. konf.* Erevan; 1981, 62-63. (In Russ.)
14. Astopov VM, Mikadze YV. *Atlas. Human nervous system. The structure and violations*. M.: PER SE; 2004. (In Russ.)
15. Eickenberg HU, Amin M, Klompus W, Lich R Jr. Urologic complications following abdominoperineal resection. *J Urol*. 1976; 115(2): 180-182. doi: 10.1016/S0022-5347(17)59124-7
16. Fowler JW. Bladder function following abdominoperineal excision of the rectum for carcinoma. *Br J Surg*. 1973; 60(7): 574-576. doi: 10.1002/bjs.1800600721
17. Lin HH, Yu HJ, Sheu BC, Huang SC. Importance of urodynamic study before radical hysterectomy for cervical cancer. *Gynecol Oncol*. 2001; 81(2): 270-272. doi: 10.1006/gyno.2001.6155
18. Mundy AR. An anatomical explanation for bladder dysfunction following rectal and uterine surgery. *Br J Urol*. 1982; 54(5): 501-504. doi: 10.1111/j.1464-410X.1982.tb13575.x
19. Woodside JR, Crawford ED. Dissolution of vesical calculi with Renacidin in a paraplegic man. *Paraplegia*. 1980; 18(1): 69-71. doi: 10.1038/sc.1980.11
20. Kenter GG, Ansink AC, Heintz AP, Aartsen EJ, Delemarre JF, Hart AA. Carcinoma of the uterine cervix stage I and IIA: results of surgical treatment: complications, recurrence and survival. *Eur J Surg Oncol*. 1989; 15(1): 55-60
21. Benedetti-Panici P, Zullo MA, Plotti F, Mancini N, Muzii L, Angioli R. Long-term bladder function in patients with locally advanced cervical carcinoma treated with neoadjuvant chemotherapy and type 3-4 radical hysterectomy. *Cancer*. 2004; 100(10): 2110-2117. doi: 10.1002/cncr.20235
22. Kindermann G, Debus-Thiede G. Postoperative urological complications after radical surgery for cervical cancer. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol*. 1988; 2(4): 933-941.
23. Ralph G, Burmucic RF. Functional disorders of the lower urinary tract following a radical abdominal operation in cervical cancer. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 1985; 45(9): 625-629. doi: 10.1055/s-2008-1036381
24. Sharma R, Bailey J, Anderson R, Murdoch J. Laparoscopically assisted radical vaginal hysterectomy (Colio-Schauta): a comparison with open Wertheim/Meigs hysterectomy. *Int J Gynecol Cancer*. 2006; 16(5): 1927-1932. doi: 10.1111/j.1525-1438.2006.00661.x
25. Valente S. Urological problems and quality of life after treatment in early cervical cancer. *Eur J Gynaecol Oncol*. 1988; 9(5): 424-427.
26. Powell JL, Burrell MO, Franklin EW. Radical hysterectomy and pelvic lymphadenectomy. *Gynecol oncol*. 1981; 12(1): 23-32.
27. Chuang TY, Yu KJ, Penn IW, Chang YC, Lin PH, Tsai YA. Neurourological changes before and after radical hysterectomy in patients with cervical cancer. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2003; 82(10): 954-959. doi: 10.1034/j.1600-0412.2003.00177.x
28. Bohman YV. *Oncogynecology Guide*. M.: Meditsina; 1989. (In Russ.)
29. Werner P, Zündel Y. *The Radical Wertheim operation for cancer of the cervix*. M.: Medgiz; 1960. (In Russ.)
30. Kuznetsov VV, Morkhov KYu, Lebedev AI, Nechushkina VM, Usmanova LS. Radical surgery for cervical cancer. *Materialy VIII Rossiyskogo onkologicheskogo kongressa, 23-25 noyabrya 2014 goda*. M.: Izdatelskaya gruppa RONTs imeni N.-N. Blokhina RAMN: Clever Print; 2004. (In Russ.)
31. Svintsitskiy VS, Vorobyeva LI, Stakhovsky EA, Lygina NF, Dermengi TV, Yatsina IA. Extended hysterectomy (C1 nerve-sparing dissection) in patients with invasive cervical cancer. *Klinicheskaya onkologiya*. 2013; (2): 72-78. (In Russ.)
32. Sakuragi N, Todo Y, Sato T. Functional and anatomical consideration of systematic nerve-sparing radical hysterectomy in invasive cervical cancer. In: Bankes EP (ed.) *Cervical cancer research trends*. New York: Nova Science Publishers; 2007, 33-68.
33. Frank MA, Sanzharov AE, Miroshnichenko VI, Sharmuratov RSh, Murzin MO, Kapustin KI, et al. Laparoscopic operations in urology and their complications. *Ural'skiy meditsinskiy zhurnal*. 2017; (2): 96-99. (In Russ.)
34. Tsurusaki T, Hoshino K, Igawa T, Koga S, Matsuya F, Yamashita S, et al. Clinical examination and therapies of hydro-nephrosis after radical hysterectomy. *Nihon Hinyokika Gakkai Zasshi*. 1994; 85(2): 328-332. doi: 10.5980/jpnjurol1989.85.328
35. Wang W, Shang CI, Du Qq, Wu D, Liang Yc, Liu Ty, et al. Class I versus Class III radical hysterectomy in stage IB1

(tumor ≤ 2 cm) cervical cancer: a matched cohort study. *J Cancer*. 2017; 8(5): 825-831. doi: 10.7150/jca.17663

36. Williams DI, Watson PC, Goligher JC, Riches EW, Gabriel WB, Pyrah LN. Discussion on urological complications of excision of the rectum. *Proc R Soc Med*. 1951; 44(9): 819-828.

37. Anderson JB, Grant JB. Postoperative retention of urine: a prospective urodynamic study. *BMJ*. 1991; 302(6781): 894-896. doi: 10.1136/bmj.302.6781.894

38. Rankin JT. Urological complications of rectal surgery. *Br J Urol*. 1969; 41(6): 655-659. doi: 10.1111/j.1464-410X.1969.tb09972.x

39. Guyon Felix JC. *Leçons cliniques sur les maladies des voies urinaires: sémiologie, diagnostic, pathologie et thérapeutique générale*. Paris: J.B. Baillière et fils; 1903.

40. Barrington FJF. The relation of the hind-brain to micturition. *Brain*. 1921; 44(1): 23-53. doi: 10.1093/brain/44.1.23

41. Barrington FJF. The effect of lesions of the hind- and mid-brain on micturition in the cat. *Experimental Physiology*. 1925; 15(1): 81-102. doi: 10.1113/expphysiol.1925.sp000345

42. Mundy AR, Fitzpatrick J, Neal DE, George NJR (eds.). *The Scientific Basis of Urology*. 3rd edition. London: Informa healthcare; 2010. doi: 10.3109/9781841847498

43. Dermenzhi TV, Svintsitsky VS, Nespryadko SV, Ligirda NF, Sakhovsky AE, Yatsina AI, et al. Nerve-sparing radical hysterectomy in patients with infiltrative cervical cancer. *Zdorov'e zhenshchiny*. 2016; 6(112): 46-51. (In Russ.) doi 10.15574/HW.2016.112.46

44. Fenish H, Dauber V. *Pocket Atlas of human anatomy, based on the international nomenclature*. M.: Dilya; 2007. (In Russ.)

45. Mukhtarullin SV, Kaprin AD. The causes of lower urinary tract dysfunction in patients with invasive cervical cancer after radical hysterectomy (literature review). *Experimental'naya i klinicheskaya urologiya*. 2016; (3): 137-143. (In Russ.)

46. Gusarova MA, Rozenko LY, Nepomnyashchaya EM, Novikova IA, Ulyanov EP. Neoadjuvant radiotherapy of rectal cancer. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2017; (2): 116 (In Russ.)

47. Dvornichenko VV, Afanasiev SG, Shelekhov AV, Rasulov RI, Moskvina NA. Neoadjuvant therapy of complicated colorectal cancer. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*. 2009; (3): 158-160. (In Russ.)

48. Dengina NV, Rodionov VV. Fundamentals of radiotherapy of malignant tumors. Ulyanovsk: UIGU; 2013. (In Russ.)

49. Kryachok IA, Ulyanchenko EO, Kadnikova TV, Titarenko IB, Alekseyuk IM, Martynchik VA, et al. Remote complications of radiation therapy in patients with malignant diseases. *Klinicheskaya onkologiya*. 2017; (4): 59-62 (In Russ.)

50. Russian Association on clinical oncology. *Practical recommendations for the medicinal treatment of patients with cervical cancer*. M.: PUSSCO; 2014. (In Russ.)

Сведения об авторах

Онопко Виктор Фёдорович – доктор медицинских наук, профессор кафедры нейрохирургии и инновационной медицины ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: urology@irk.ru

Елена Андреевна Загайнова – врач-онколог, уролог, ГБУЗ «Областной онкологический диспансер», e-mail: zagainova.irk@yandex.ru

Кириленко Елена Анатольевна – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры нейрохирургии и инновационной медицины ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: Kirilenka2005@yandex.ru

Information about the authors

Viktor F. Onopko – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Neurosurgery and Innovative Medicine, Irkutsk State Medical University, e-mail: urology@irk.ru

Elena A. Zagainova – Oncologist, Urologist of Irkutsk Regional Cancer Center, e-mail: zagainova.irk@yandex.ru

Elena A. Kirilenko – Cand. Sc. (Med.), Teaching Assistant at the Department of Neurosurgery and Innovative Medicine, Irkutsk State Medical University, e-mail: Kirilenka2005@yandex.ru

Статья получена: 11.04.2019. Статья принята: 16.05.2019. Статья опубликована: 26.06.2019.
Received: 11.04.2019. Accepted: 16.05.2019. Published: 26.06.2019.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.3.12

Перспективы использования термоэкстрактов *Brucella abortus* И-206 в S- и L-формах в диагностике и профилактике бруцеллёза

Дубровина В.И., Юрьева О.В., Пятидесятникова А.Б., Старовойтова Т.П., Коновалова Ж.А.,
Баранникова Н.Л., Николаев В.Б., Балахонов С.В.

ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора (664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Дубровина Валентина Ивановна, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru

Резюме

Актуальность. В настоящее время одним из актуальных направлений исследований является разработка новых антигенных препаратов для специфической диагностики и профилактики бруцеллёза, поскольку индикация возбудителя и профилактика заболевания осложняется способностью бруцелл к диссоциации, а используемые для специфической профилактики бруцеллёза живые вакцины обладают остаточной вирулентностью. В качестве таких перспективных антигенов могут быть использованы термоэкстракты (ТЭ), полученные из *Brucella abortus* И-206 в L- и S-форме. Известно, что ТЭ в L- и S-форме обладают иммуногенными свойствами, а также модулирующим действием на пролиферацию иммунокомпетентных клеток, морфологические изменения в иммунокомпетентных органах экспериментальных животных.

Цель работы: изучение влияния термоэкстрактов *Brucella abortus* в L- и S-формах на функциональное состояние клеток экспериментальных животных.

Материалы и методы. Исследование проводили на 100 сертифицированных белых мышах. В качестве объектов исследования использовали ТЭ *B. abortus* И-206 в L- и S-формах. Оценку влияния антигенных препаратов на функциональное состояние фагоцитов лабораторных животных в условиях *in vitro* проводили на перитонеальных макрофагах. Определяли суммарную активность ферментов дыхательной цепи в НСТ-тесте и супероксиддисмутазы. Контролем служили клетки интактных животных. В качестве положительного контроля использовали коммерческий антигенный препарат ЛПС *Escherichia coli*. Содержание циклических нуклеотидов в гомогенатах иммунокомпетентных органов определяли с помощью ИФА.

Результаты. В данном исследовании представлены материалы по изучению действия ТЭ на бактерицидную активность фагоцитов и уровень циклических нуклеотидов в иммунокомпетентных органах. Установлено, что ТЭ активируют кислородзависимые бактерицидные системы фагоцитов. При изучении действия ТЭ на содержание циклических нуклеотидов в иммунокомпетентных органах белых мышей выявлено увеличение их концентрации, свидетельствующее о повышении функциональной активности клеток.

Заключение. Полученные данные позволяют обосновать необходимость дальнейшего детального исследования иммуногенных свойств ТЭ *B. abortus* в L- или S-форме на организм экспериментальных животных.

Ключевые слова: бруцеллез, антигены, иммунитет, фагоциты

Для цитирования: Дубровина В.И., Юрьева О.В., Пятидесятникова А.Б., Старовойтова Т.П., Коновалова Ж.А., Баранникова Н.Л., Николаев В.Б., Балахонов С.В. Перспективы использования термоэкстрактов *Brucella abortus* И-206 в S- и L-формах в диагностике и профилактике бруцеллёза. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 96-101. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.12

Prospects for the Use of Thermal Extracts of *Brucella abortus* I-206 in S-and L-Forms in the Diagnosis and Prevention of Brucellosis

Dubrovina V.I., Yuryeva O.V., Pyatidesyatnikova A.B., Starovoytova T.P., Konovalova Zh.A., Barannikova N.L.,
Nikolayev V.B., Balakhonov S.V.

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

Corresponding author: Valentina I. Dubrovina, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru

Abstract

Currently, one of the topical areas of research is the development of new antigen preparations for the specific diagnosis and prevention of brucellosis, since indication of the pathogen and prevention of the disease is complicated by the ability of *brucella* to dissociate, and live vaccines used for specific prevention of brucellosis have residual virulence. Thermal extracts (TE) obtained from *Brucella abortus* I-206 in the L- and S-form can be used as such promising antigens. It is

known that TE in the L- and S-forms have immunogenic properties, as well as a modulating effect on the proliferation of immunocompetent cells, morphological changes in the immunocompetent organs of experimental animals.

The aim of the work is to study the effect of *Brucella abortus* thermal extracts in L- and S-forms on the functional state of the cells of experimental animals.

Materials and methods. The study was performed on 100 certified white mice. As objects of study, we used the *B. abortus* I-206 TE in L- and S-forms. Evaluation of the effect of antigenic drugs on the functional state of phagocytes of laboratory animals *in vitro* was performed on peritoneal macrophages. The total activity of the respiratory chain enzymes in the NBT-test and superoxide dismutase was determined. Cells of intact animals served as controls. As a positive control, a commercial antigenic LPS preparation *Escherichia coli* was used. The content of cyclic nucleotides in homogenates of immunocompetent organs was determined using ELISA.

Results. This study presents materials on the study of the effect of TE on the bactericidal activity of phagocytes and the level of cyclic nucleotides in immunocompetent organs. It has been established that TEs activate oxygen-dependent bactericidal systems of phagocytes. When studying the effect of TE on the content of cyclic nucleotides in immunocompetent organs of white mice, an increase in their concentration was revealed, indicating an increase in the functional activity of the cells.

Conclusion. The obtained data make it possible to substantiate the need for a further detailed study of the immunogenic properties of *B. abortus* TE in the L- or S-form on the organism of experimental animals.

Key words: brucellosis, antigens, immunity, phagocytes

For citation: Dubrovina V.I., Yuryeva O.V., Pyatidesyatnikova A.B., Starovoytova T.P., Kononova Zh.A., Barannikova N.L., Nikolayev V.B., Balakhonov S.V. Prospects for the use of thermal extracts of *Brucella abortus* I-206 in S- and L-forms in the diagnosis and prevention of brucellosis. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 96-101. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.12

ОБОСНОВАНИЕ

Разработка новых антигенных препаратов для специфической диагностики и профилактики бруцеллёза остаётся актуальной, поскольку индикация возбудителя и профилактика заболевания осложняется способностью бруцелл к диссоциации (полной замене антигенного спектра микроба или исчезновению клеточной стенки). А используемые для специфической профилактики бруцеллёза живые вакцины обладают остаточной вирулентностью и способны трансформироваться.

Важными этапами в развитии иммунного ответа являются поглощение и процессинг антигена макрофагом. Кроме того, макрофаги играют основную роль в борьбе с внутриклеточными патогенами, к которым относится возбудитель бруцеллёза. Стимуляция выработки промежуточных форм кислорода является важным индикативным показателем бактерицидной активности этого типа клеток иммунной системы, а способность нейтрализовать реактивные радикалы кислорода, используя в этих целях супероксиддисмутазу, может рассматриваться как защита самих фагоцитов от разрушения.

Все физиологические процессы, в том числе и иммуногенез, находятся под нейроэндокринным контролем. Ключевую роль в передаче и амплификации сигналов гормонов и нейромедиаторов, не способных проникать в клетку, играет система циклических нуклеотидов, которая участвует во многих физиологических процессах, в том числе иммунных. Антиген-индуцированные изменения в содержании циклических нуклеотидов (ЦН) некоторые исследователи используют в качестве интегрального показателя, позволяющего прогнозировать развитие иммунных и патологических процессов.

Накопление гуанозин-3,5-циклического монофосфата (ц-ГМФ) в клетках, в том числе и иммунных, как правило, связывают с пролиферацией, а аденозин 3,5-циклического монофосфата (ц-АМФ) – с дифференцировкой [1].

ЦН принимают участие в регуляции функционирования фагоцитирующих клеток, в том числе их поглотительной способности [2]. Вместе с тем показано, что ц-АМФ оказывает позитивный эффект на созревание и дифференцировку макрофагов, а также на их цитотоксическую активность [3], уровень которой связан с механизмами регуляции иммунологической реактивности [4].

Большой интерес в связи с этим представляет изучение иммуногенных и реактогенных свойств слабо-вирулентных бруцелл в L-форме, с целью возможного их использования для конструирования новых диагностических и вакцинных препаратов.

Цель работы – изучение влияния термозэкстрактов *Brucella abortus* в L- и S-формах на функциональное состояние клеток экспериментальных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на 100 сертифицированных белых мышах массой 15–20 г и 30 морских свинках (НПО «Вектор», Новосибирск), содержащихся в стандартных условиях.

В качестве объектов исследования использовали два препарата термозэкстрактов (ТЭ), полученных из штамма *B. abortus* И-206 в L- и S-формах.

Оценку влияния антигенных препаратов на функциональное состояние фагоцитов лабораторных животных в условиях *in vitro* проводили на перитонеальных макрофагах (ПМ). Фагоциты (2×10^7 /мл), полученные общепринятым методом [5], примировали ТЭ в дозе 1 мг/мл (по белку) в течение 30 мин при 37 °С с последующим определением суммарной активности ферментов дыхательной цепи (НСТ тест) [6] в нашей модификации и активности супероксиддисмутазы (СОД) [7]. Контролем служили клетки интактных животных. В качестве положительного контроля использовали коммерческий антигенный препарат ЛПС *Escherichia coli*.

Анализ полученных результатов осуществляли стандартными статистическими методами с использованием пакета программ (Stat Soft, USA) STATISTICA 6, Microsoft Excel 2003 и выражали как индекс стимуляции (ИС) в процентах (%) в виде средней арифметической из выборки (M), стандартного отклонения (s). Для переменных, имеющих распределение близкое к нормальному, применяли t-критерий параметрической статистики Стьюдента. Результаты считали достоверными, если вероятность ошибки не превышала 0,05 ($p < 0,05$) [8]. Эксперименты проводили в двух повторах.

Для выявления содержания циклических нуклеотидов в иммунокомпетентных органах белых мышей подопытным животным подкожно вводили препараты

ТЭ *B. abortus* И-206 в S- (группа 1) и L-формах (группа 2) в ранее установленной иммунизирующей дозе 20 мкг по белку в 0,2 мл забуференного физиологического раствора (ЗФР) pH 7,2. Контролем служили белые мыши, получившие ЗФР в объёме 0,2 мл (группа 3). Животных выводили из эксперимента в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных и Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и других научных целях ETS N 123 (Страсбург, 1986). Забор материала (гомогенаты тимуса и селезёнки) осуществляли на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е и 21-е сутки после иммунизации. Содержание циклических нуклеотидов в гомогенатах иммунокомпетентных органов определяли с помощью ИФА (тест наборов R&D SYSTEMS, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее нами было установлено, что показатели абсолютного и относительного содержания лейкоцитов и их основных популяций (моноциты, гранулоциты, лимфоциты) у экспериментальных животных, иммунизированных ТЭ *B. abortus* И-206, находились в пределах физиологической нормы. Вместе с тем, при анализе динамики содержания субпопуляций лимфоцитов отмечено повышение Т-лимфоцитов за счёт Т-хелперов на 3-и сутки и снижение В-лимфоцитов на 7-е сутки в среднем

в 1,5 раза по сравнению с группой мышей, иммунизированных *B. abortus* 19 BA [9, 10].

При изучении влияния термоэкстрактов *B. abortus* И-206 в S- и L-формах на функциональное состояние фагоцитов лабораторных животных установлено, что ТЭ активируют кислородзависимые бактерицидные системы (КЗМ) ПМ. Так, индекс стимуляции ПМ, примированных ТЭ в S-форме фагоцитов, составлял $62,8 \pm 3,1 \%$, а в случае применения ТЭ в L-форме – $58,3 \pm 4,8 \%$, что в среднем в 1,7 раза больше, чем в контроле ($34,0 \pm 2,4 \%$). Вместе с тем, суммарная активность КЗМ фагоцитов, в частности ферментов дыхательной цепи в НСТ-тесте, показала, что различия сравниваемых величин (активация КЗМ фагоцитов ТЭ в S-форме и ТЭ в L-форме) статистически не были значимы ($p < 0,05$). Кроме того, при изучении функциональной активности антиоксидантной системы (АОС) в условиях *in vitro* статистически значимые различия между антигенными препаратами по степени воздействия на активность СОД также не зарегистрированы. Тем не менее, у фагоцитов, примированных ТЭ в S- и L-формах, выявлена тенденция к снижению активности СОД по сравнению с контролем, что может свидетельствовать о накоплении токсических кислородных радикалов в клетках под действием ТЭ в исследуемой дозе в незначительных количествах.

Экспериментальные препараты ТЭ и инактивированная вакцина *B. abortus* 19 BA по-разному влияли на

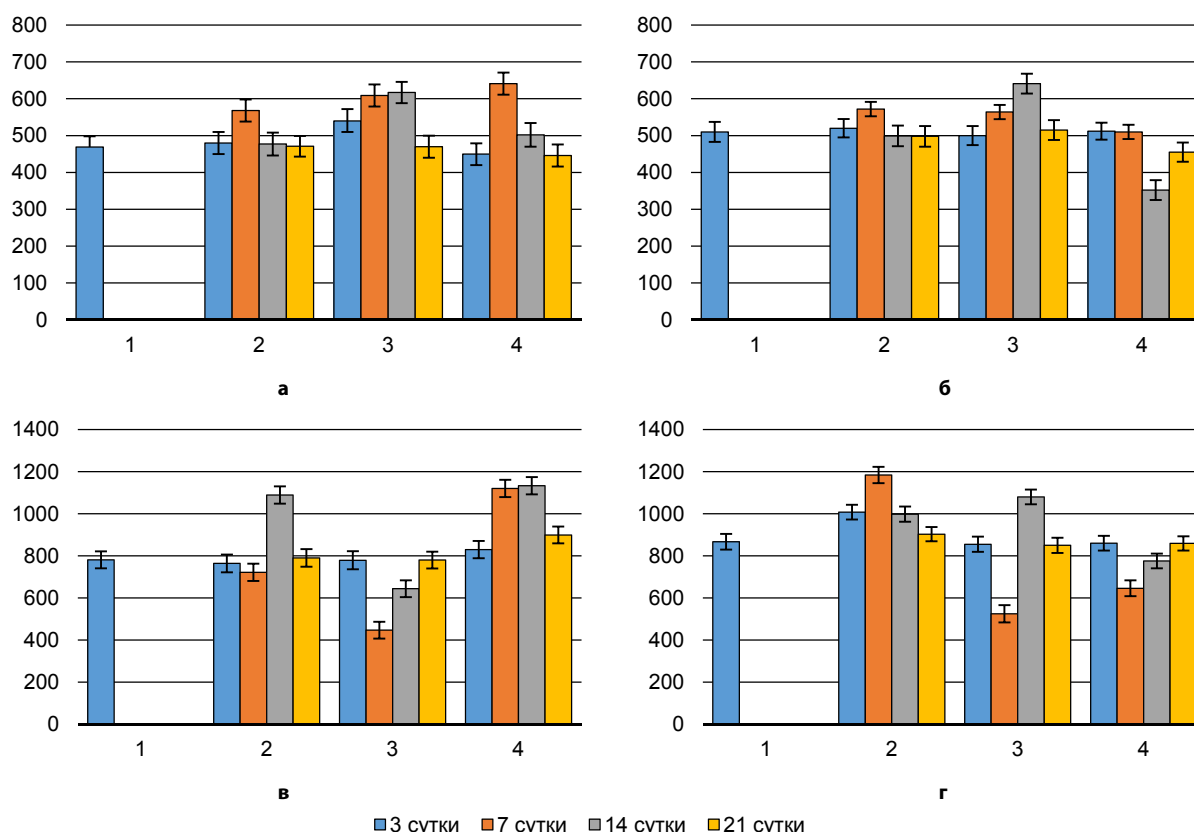


Рис. 1. Влияние термоэкстрактов *Brucella abortus* И-206 на содержание циклических нуклеотидов. **а** – содержание цГМФ в тимусе; **б** – содержание цГМФ в селезёнке; **в** – содержание цАМФ в тимусе; **г** – содержание цАМФ селезёнке. 1 – Контроль; 2 – S-форма; 3 – L-форма; 4 – *B. abortus* 19 BA. По оси абсцисс обозначен срок наблюдения (сутки). По оси ординат обозначена концентрация циклических нуклеотидов (пмоль/г).

Fig. 1. Effect of thermal extracts of *B. abortus* I-206 on the content of cyclic nucleotides. **а** – the content of cGMP in the thymus; **б** – the content of cGMP in the spleen; **в** – the content of cAMP in the thymus; **г** – the content of cAMP in the spleen. 1 – Control; 2 – S-form; 3 – L-form; 4 – *B. abortus* 19 BA. The abscissa axis indicates the period of observation (day). The ordinate shows the concentration of cyclic nucleotides (pmole/g).

динамику содержания ЦН в иммунокомпетентных органах белых мышей (рис. 1).

На 3-и сутки после иммунизации содержание ЦН во всех вариантах не превышало или незначительно превышало контрольное значение. Иммунизация мышей ТЭ *B. abortus* И-206 в S-форме приводила к увеличению концентрации ц-ГМФ в тимусе на 7-е сутки и последующему снижению к 14-м суткам (рис. 1а). Подобная динамика соответствует представлению о роли ц-ГМФ в активации пролиферации. Действие ТЭ бруцелл в L-форме на накопление ЦН кардинально отличалось от действия на этот процесс ТЭ бруцелл в S-форме. В тимусе этой группы на 7-е сутки уровень ц-ГМФ, так же как в первом варианте, существенно повышался, но в отличие от него оставался на таком же высоком уровне и на 14-е сутки.

Руководствуясь сведениями о коррелятивной взаимосвязи накопления ц-ГМФ с активацией пролиферации, можно предположить, что высокий уровень посредника на 7-е и 14-е сутки в тимусе животных, привитых ТЭ, полученных из L-формы *B. abortus* И-206, свидетельствует о высокой пролиферативной активности на протяжении всего срока исследования.

Уровень ц-АМФ в тимусе указанной выше группы на 7-е сутки снижался по сравнению с контрольным значением, а к 14-м суткам возрастал (рис. 1в).

По данным ряда авторов, смещение равновесия ЦН в иммунокомпетентных органах в сторону ц-ГМФ свидетельствует об активации пролиферации, а в сторону ц-АМФ – об активации дифференцировки иммунных клеток.

По-видимому, повышение уровня ц-ГМФ в тимусе животных, иммунизированных ТЭ *B. abortus* И-206 в S-форме, на 7-е сутки свидетельствует об активации пролиферации, а повышение уровня ц-АМФ на 14-е сутки – об активации созревания клеток. Вместе с тем, выявлены особенности в продолжительности и интенсивности плазмоцитарной реакции у животных, иммунизированных экспериментальными препаратами, которые свидетельствуют о более выраженной пролиферации антителообразующих клеток при введении ТЭ в S-форме [9]. О разнонаправленном действии экстрактов бруцелл в S- и L-формах также свидетельствуют результаты исследований активности перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты. Так, ТЭ в L-форме в меньшей степени, чем ТЭ в S-форме влиял на накопление малонового диальдегида, свидетельствующее об его незначительной реактогенности, связанной с наличием в ТЭ в составе S-форме липополисахарида [11].

В селезёнке мышей, привитых ТЭ *B. abortus* И-206 в S-форме (группа 1) обнаружена схожая с тимусом динамика содержания ц-ГМФ (рис. 1б). В группе 2 на 7-е сутки уровень ц-ГМФ оставался в пределах контрольного значения, но на 14-е сутки он достоверно возрастал, в отличие от группы 1, где максимальная концентрация ц-ГМФ была определена в более ранний срок. Вероятно, в селезёнке препарат *B. abortus* И-206 в L-форме активировал пролиферацию в более поздние сроки, чем ТЭ в S-форме.

Наряду со стимулирующим действием на накопление ц-ГМФ в тимусе, ТЭ в L-форме оказывал ингибирующее действие на накопление ц-АМФ в органе (рис. 1г). В отличие от тимуса, уровень ц-АМФ в селезёнке повышался не на 14-е, а на 7-е сутки. Возможно, повышение концентрации ц-АМФ в селезёнке экспериментальных животных группы 2 на 7-е сутки связано с более ранней

реакцией органа на препарат. Обнаруженный эффект, на наш взгляд, связан с низкой активностью процессов, определяющих созревание и дифференцировку клеток в изученный период вакцинального процесса. Кроме того, проведённое нами морфологическое исследование надпочечников и сравнительный анализ периферической крови белых мышей, иммунизированных ТЭ *B. abortus* И-206 в L- и S-форме, показал, что термоэкстракты *B. abortus* И-206 в S- и L-формах не вызывают алергизацию организма и развитие поствакцинальных осложнений у экспериментальных животных [10].

На основании полученных данных, изменение соотношения ц-ГМФ и ц-АМФ в динамике вакцинального процесса играет прогностическую роль и может рассматриваться в качестве интегрального показателя иммунного статуса.

Таким образом, выявленный в ходе исследования фазовый характер изменения уровня ЦН в процессе иммуногенеза свидетельствует об их участии не только в активации, но и в регуляции иммунореактивности организма экспериментальных животных. Вместе с тем, однозначную интерпретацию описанных выше феноменов можно сделать только после более детального исследования, включающего изучение динамики медиаторов широкого спектра. Кроме того, важно учитывать возможность патологических реакций, в развитии которых тоже может принимать участие система ЦН как эндогенного, так и экзогенного происхождения.

О возможности применения ТЭ для идентификации и дифференциации возбудителя бруцеллёза могут свидетельствовать данные о получении высокоактивных и специфичных кроличьих сывороток к ТЭ *B. abortus* И-206 в L- и S-формах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведённых экспериментов отмечена тенденция активирующего воздействия на иммунные процессы термоэкстрактов *B. abortus* И-206.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего исследования воздействия ТЭ *B. abortus* И-206 в L- и S-форме на организм экспериментальных животных.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ogunniyi AD, Paton JC, Kirby AC, McCullers JA, Cook J, Hyodo M, et al. C-di-GMP is an effective immunomodulator and vaccine adjuvant against pneumococcal infection. *Vaccine*. 2008; 26(36): 4676-4685. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.06.099
2. Лебедев О.Е., Крутецкая З.И., Крутецкая Н.И. Роль аденилатциклазной системы в регуляции Ca²⁺-сигналов, индуцированных пуриnergическими агонистами ингибиторами эндоплазматических Ca-АТФаз, в перитонеальных макрофагах крысы. Матер. II съезда биофизиков России. М.; 1999.
3. Kanda N, Watanabe S. Intracellular 3',5'-ad-enosine cyclic monophosphate level regulates house dust mite-induced interleukin-13 production by T-cells from mite-sensitive patients with atopic dermatitis. *J. Invest. Dermatol*. 2001; 116: 3-11. doi: 10.1046/j.1523-1747.2001.01196.x

4. Schmitt CK, Meysick KC, O'Brien AD. Bacterial toxins: friends or foes? *Emerging infectious diseases*. 1999; 5(2): 224-234. doi: 10.3201/eid0502.990206

5. Фрейдлин И.С. Методы изучения фагоцитирующих клеток при оценке иммунного статуса человека. Л.; 1986.

6. Нарциссов Р.П. Применение р-нитротетразолия фиолетового для количественной цитохимии дегидрогеназ лимфоцитов человека. Архив анатомии и гистологии. 1969; (5): 85-91.

7. Матюшин Б.Н., Логинов А.С., Ткачев В.Д. Определение супероксиддисмутазной активности в материале пункционной биопсии печени при ее хроническом поражении. Лабораторное дело. 1991; (7): 16-19.

8. Закс Л. Статистическое оценивание. М.: Статистика; 1976.

9. Михайлов Л.М., Баранникова Н.Л., Токарева Л.Е., Витязева С.А., Старовойтова Т.П., Дубровина В.И. и др. Изучение иммуногенных свойств термоэкстрактов из бруцелл в S- и L-формах на морских свинках. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2016; 4(89): 82-86. doi: 10.31631/2073-3046-2016-15-4-82-86

10. Дубровина В.И., Старовойтова Т.П., Витязева С.А., Баранникова Н.Л., Иванова Т.А., Шкаруба Т.Т. и др. Влияние термоэкстрактов *Brucella abortus* И-206 в L- и S-форме на морфофункциональное состояние надпочечников белых мышей. *Acta Biomedica Scientifica*. 2018; 4(3): 109-113. doi: 10.29413/ABS.2018-3.4.15

11. Дубровина В.И., Балахонов С.В., Юрьева О.В., Старовойтова Т.П., Баранникова Н.Л., Токарева Л.Е. и др. Влияние термоэкстрактов бруцелл S- и L-форм на активность перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в органах лабораторных животных. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2018; 165(2): 202-206.

12. Михайлов Л.М., Андреевская Н.М., Михайлова В.А., Баранникова Н.Л., Токарева Л.Е., Ястремская К.Ю. и др. Получение гипериммунных сывороток к термоэкстрактам из бруцелл в S- и L-формах. Проблемы особо опасных инфекций. 2016; (4): 98-101. doi: 10.21055/0370-1069-2016-4-98-101

REFERENCES

1. Ogunniyi AD, Paton JC, Kirby AC, McCullers JA, Cook J, Hyodo M, et al. C-di-GMP is an effective immunomodulator and vaccine adjuvant against pneumococcal infection. *Vaccine*. 2008; 26(36): 4676-4685. doi: 10.1016/j.vaccine.2008.06.099

2. Lebedev OE, Krutetskaya ZI, Krutetskaya NI. The role of the adenylate cyclase system in the regulation of Ca²⁺ signals induced by adrenergic agonists with endoplasmic CA-ATPase inhibitors in rat peritoneal macrophages. *Mater. II sjezda biofizikov Rossii*. Moscow; 1999. (In Russ.)

3. Kanda N, Watanabe S. Intracellular 3',5'-adenosine cyclic monophosphate level regulates house dust mite-induced interleukin-13 production by T-cells from mite-sensitive patients with atopic dermatitis. *J. Invest. Dermatol*. 2001; 116: 3-11. doi: 10.1046/j.1523-1747.2001.01196.x

4. Schmitt CK, Meysick KC, O'Brien AD. Bacterial toxins: friends or foes? *Emerging infectious diseases*. 1999; 5(2): 224-234. doi: 10.3201/eid0502.990206

5. Freydlin IS. *Methods of studying phagocytic cells in the evaluation of human immune status*. Leningrad; 1986. (In Russ.)

6. Narcissov RP. The use of R-nitrotetrazolio purple for the quantitative cytochemistry of dehydrogenases in lymphocytes. *Arhiv anatomii i gistologii*. 1969; (5): 85-91. (In Russ.)

7. Matyushin BN, Loginov AS, Tkachev VD. Determination of superoxide dismutase activity in the material of liver puncture biopsy in its chronic lesion. *Laboratornoe delo*. 1991; (7): 16-19 (In Russ.)

8. Zaks L. *Statistical estimation*. M.: Statistika; 1976. (In Russ.)

9. Mikhaylov LM, Barannikova NL, Tokareva LE, Vityazeva SA, Starovoytova TP, Dubrovina VI, et al. Study of immunogenic properties of thermoextracts from *Brucella* in S- and L-forms on guinea pigs. *Jepidemiologiya i vakcinoprofilaktika*. 2016; 4(89): 82-86. doi: 10.31631/2073-3046-2016-15-4-82-86 (In Russ.)

10. Dubrovina VI, Starovoytova TP, Vityazeva SA, Barannikova NL, Ivanova TA, Shkaruba TT, et al. Influence of thermal extracts of *Brucella abortus* And-206 in L- and S-form on the morphological and functional state of the adrenal glands of white mice. *Acta Biomedica Scientifica*. 2018; 4(3): 109-113. doi: 10.29413/ABS.2018-3.4.15 (In Russ.)

11. Dubrovina VI, Balakhonov SV, Yuryeva OV, Starovoytova TP, Barannikova NL, Tokareva LE, et al. Effect of thermal extracts of brucell S and L forms on the activity of lipid peroxidation and antioxidant protection in the organs of laboratory animals. *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 2018; 2(165): 202-206. (In Russ.)

12. Mikhaylov LM, Andreevskaya NM, Mikhaylova VA, Barannikova NL, Tokareva LE, Yastremskaya KYu, et al. Preparation of hyperimmune sera to thermal extract from *Brucella* in S- and L-forms. *Problemy osobo opasnyh infekcij*. 2016; (4): 98-101. doi: 10.21055/0370-1069-2016-4-98-101 (In Russ.)

Сведения об авторах

Дубровина Валентина Ивановна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией патофизиологии ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

Юрьева Ольга Викторовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, e-mail: olga.yur1963@gmail.com, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7357-2219>

Пятидесятникова Анна Борисовна – лаборант-исследователь лаборатории патофизиологии ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6381-4517>

Старовойтова Татьяна Пантелеевна – научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0952-8755>

Коновалова Жанна Анатольевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отделения обеспечения качества ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, e-mail: konovalova-shanna@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4217-9171>

Баранникова Наталья Леонидовна – кандидат биологических наук, врач-бактериолог отдела эпидемиологии ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5471-2164>

Николаев Валерий Борисович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник биохимического отдела ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7282-3696>

Балахонов Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, директор ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Information about the authors

Valentina I. Dubrovina – Dr. Sc. (Biol.), Head of Pathophysiological Laboratory of Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

Olga V. Yuryeva – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at Pathophysiological Laboratory of Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: olga.yur1963@gmail.com, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7357-2219>

Anna B. Pyatidesyatnikova – Laboratory Assistant at Pathophysiological Laboratory of Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6381-4517>

Tatyana P. Starovoytova – Research Officer at Pathophysiological Laboratory of Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0952-8755>

Shanna A. Konovalova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at Quality Assurance Department of Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: konovalova-shanna@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4217-9171>

Natalia L. Barannikova – Cand. Sc. (Biol.), Bacteriologist at the Department of Epidemiology of Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5471-2164>

Valery B. Nikolayev – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer of Department of Biochemistry, Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7282-3696>

Sergey V. Balakhonov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director of Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Информация о вкладе авторов:

Дубровина В.И. – планирование эксперимента, постановка реакций, учёт и анализ результатов, написание статьи

Юрьева О.В. – постановка реакций, учёт и анализ результатов, написание статьи

Пятидесятникова А.Б. – постановка реакций, учёт результатов

Старовойтова Т.П. – проведение экспериментов, анализ полученных результатов

Коновалова Ж.А. – анализ результатов, написание аннотации статьи

Баранникова Н.Л. – получение экспериментальных препаратов

Николаев В.Б. – получение и характеристика физико-химических свойств экспериментальных препаратов

Балахонов С.В. – планирование научно-исследовательской работы, анализ полученных результатов

Статья получена: 18.02.2019. Статья принята: 22.04.2019. Статья опубликована: 26.06.2019.
Received: 18.02.2019. Accepted: 22.04.2019. Published: 26.06.2019.

Оценка токсических и иммуноадъювантных свойств нанокompозитов

Корытов К.М.¹, Дубровина В.И.¹, Пятидесятникова А.Б.¹, Витязева С.А.¹, Войткова В.В.¹, Прозорова Г.Ф.², Поздняков А.С.², Иванова А.А.², Балахонов С.В.¹

¹ ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора (664047, г. Иркутск, ул. Трилессера, 78, Россия); ² ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Дубровина Валентина Ивановна, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru

Резюме

Актуальность. В настоящее время актуальным направлением в медицине является поиск и создание иммунобиологических препаратов для повышения эффективности специфической иммунотерапии и иммунопрофилактики, содержащих в своём составе иммуномодуляторы – природные или синтетические вещества, способные оказывать регулирующие действие на иммунную систему. В качестве таких перспективных соединений на данный момент могут выступать водорастворимые органо-неорганические полимерные материалы с наночастицами различных химических веществ, обладающие не только бактерицидными, но и иммуномодулирующими свойствами.

Цель работы: изучить острую токсичность полимерных нанокompозитов на основе сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном с наночастицами серебра, золота и селена и их действие на функциональное состояние клеток иммунной системы в условиях *in vitro*.

Материалы и методы. Изучение острой токсичности проводили на белых беспородных мышах. Активность супероксиддисмутазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы исследовали у перитонеальных макрофагов морских свинок. Оценку спонтанной и индуцированной нанокompозитами продукции про- (интерферон-γ и фактор некроза опухоли-α) и противовоспалительных (интерлейкин-4) цитокинов клетками крови проводили с использованием клинического материала, полученного от добровольцев, методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Результаты. Установлено, что нанокompозиты с наночастицами серебра и золота не вызывают гибель белых мышей, повышение у них температуры и снижение массы тела. Определена среднелетальная доза для нанокompозита с наночастицами селена – 1 грамм на килограмм массы животного. Показано, что тестируемые нанокompозиты обладают стимулирующим влиянием на продукцию цитокинов клетками крови человека в условиях *in vitro*. Нанокompозит с наночастицами селена повышает активность супероксиддисмутазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Проведён сравнительный анализ действия изучаемых нанокompозитов с коммерческими препаратами биологического происхождения, обладающими иммуномодулирующими свойствами.

Заключение. Полученные данные позволяют обосновать необходимость дальнейшего всестороннего исследования действий нанокompозитов на основе сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном с наночастицами серебра, золота и селена на макроорганизм в условиях как *in vitro*, так и *in vivo*.

Ключевые слова: нанокompозиты, наночастицы, острая токсичность, макрофаги, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, супероксиддисмутазы, клетки крови, цитокины

Для цитирования: Корытов К.М., Дубровина В.И., Пятидесятникова А.Б., Витязева С.А., Войткова В.В., Прозорова Г.Ф., Поздняков А.С., Иванова А.А., Балахонов С.В. Оценка токсических и иммуноадъювантных свойств нанокompозитов. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 102-109. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.13

Assessment of Toxic and Immunoadjuvant Properties of Nanocomposites

Korytov K.M.¹, Dubrovina V.I.¹, Pyatidesyatnikova A.B.¹, Vityazeva S.A.¹, Voitkova V.V.¹, Prozorova G.F.², Pozdnyakov A.S.², Ivanova A.A.², Balakhonov S.V.¹

¹ Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор (ul. Trilissera 78, Irkutsk 664047, Russian Federation); ² A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS (ul. Favorskogo 1, Irkutsk 664033, Russian Federation)

Corresponding author: Valentina I. Dubrovina, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru

Abstract

Introduction. The current direction in medicine is the creation of immunobiological preparations to increase the effectiveness of specific immunotherapy and immunoprophylaxis, containing immunomodulators in their composition. These natural or synthetic substances can have a regulating effect on the immune system. At present, water-soluble organic-inorganic polymeric materials with nanoparticles of various chemical substances with bactericidal and immunomodulating properties can serve as such promising compounds.

The aim of the work is to study the acute toxicity of polymer nanocomposites based on 1-vinyl-1,2,4-triazole copolymer with N-vinylpyrrolidone with silver, gold and selenium nanoparticles and their effect on the functional state of immune system cells *in vitro*.

Materials and methods. The study of acute toxicity was performed on outbred white mice. The activity of superoxide dismutase and glucose-6-phosphate dehydrogenase were studied in guinea pig peritoneal macrophages. The study of spontaneous and nanocomposite-induced production of pro- (interferon gamma and tumor necrosis factor alpha) and anti-inflammatory (interleukin-4) cytokines by blood cells was carried out using clinical material obtained from volunteers using the ELISA method.

Results. It has been established that nanocomposites with silver and gold nanoparticles do not cause the death of white mice, their temperature increase and body weight decrease. The average lethal dose for a nanocomposite with selenium nanoparticles was determined as 1 gram per 1 kilogram of animal mass. It was shown that the tested nanocomposites have a stimulating effect on the production of cytokines by human blood cells *in vitro*. It was established that a nanocomposite with selenium nanoparticles increases the activity of superoxide dismutase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. A comparative analysis of their actions with the actions of commercial preparations of biological origin, with immunomodulatory properties.

Conclusion. The data obtained allow us to substantiate the need for further research on the effects of nanocomposites based on 1-vinyl-1,2,4-triazole copolymer with N-vinylpyrrolidone with silver, gold and selenium nanoparticles on the macroorganism in both *in vitro* and *in vivo* conditions.

Key words: nanocomposite, nanoparticle, acute toxicity, macrophage, glucose-6-phosphate dehydrogenase, superoxide dismutase, blood cell, cytokine

For citation: Korytov K.M., Dubrovina V.I., Pyatidesyatnikova A.B., Vityazeva S.A., Voitkova V.V., Prozorova G.F., Pozdnyakov A.S., Ivanova A.A., Balakhonov S.V. Assessment of Toxic and Immunoadjuvant Properties of Nanocomposites. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 102-109. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.13

В настоящее время актуальным направлением исследований в медицине является поиск и создание иммунобиологических препаратов с целью повышения эффективности средств специфической иммунотерапии и иммунопрофилактики. Существующие вакцинные препараты содержат различного рода вещества, добавляемые с целью стабилизации, консервации или сорбции антигена, которые могут приводить к тяжёлым последствиям (осложнения и аллергизация привитых). Кроме того, некоторые бактериальные антигены и продукты геномных технологий, используемые при создании таких препаратов, обладают недостаточной иммуногенностью, поэтому возникает необходимость включения в состав вакцин иммуномодуляторов – природных или синтетических веществ, способных оказывать регулирующее действие на иммунную систему. Количество работ, посвящённых изучению свойств иммуномодуляторов, растёт с каждым годом [1–6]. Интерес к веществам данной группы обусловлен тем, что они способны влиять на отдельные звенья иммунного ответа. Такие свойства иммуномодуляторов играют важное значение при создании вакцин с целью повышения их иммуногенности. Однако не все известные иммуномодуляторы могут быть применены в связи с их токсичностью [3, 4, 5]. Данные обстоятельства обуславливают необходимость создания безопасных и эффективных биоорганических комплексов, способных обеспечить иммунный ответ организма с целью снижения инфекционной заболеваемости.

В настоящее время актуальной является разработка новых биологических активных форм синтетических препаратов медицинского назначения в форме наночастиц [7, 8]. В качестве таких перспективных соединений на данный момент могут выступать водорастворимые полимерные материалы и органо-неорганические полимерные наноконпозиты с наночастицами различных химических веществ, обладающие не только бактерицидными, но и иммуномодулирующими свойствами [9–13].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить острую токсичность полимерных наноконпозитов на основе сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном с наночастицами серебра, золота и селена и их действие на функциональное состояние клеток иммунной системы в условиях *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе в качестве объектов исследования использовали полимерные наноконпозиты на основе сополиме-

ра 1-винил-1,2,4-триазола и N-винилпирролидона (СПЛ) с наночастицами серебра (НК-Ag, содержание серебра – 0,8 %, размеры наночастиц – 1–5 нм), золота (НК-Au, содержание золота – 2,2 %, размеры наночастиц – 1–5 нм) и селена (НК-Se, содержание селена – 4,0 %, размеры наночастиц – 20–75 нм). СПЛ синтезировали методом радикальной сополимеризации 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном в присутствии инициатора азобисизобутиронитрила [13]. Наноконпозиты НК-Ag, НК-Au и НК-Se синтезировали методом химического восстановления ионов Ag, Au и Se из нитрата серебра (AgNO_3), золотохлористоводородной кислоты (HAuCl_4) и селенистой кислоты (H_2SeO_3), соответственно, в водных растворах СПЛ с последующей диализной очисткой через мембрану с размером пор 5 КДа (MFPI, Cellu Sep H1) и лиофильной сушкой. Наноконпозиты растворяли в забуференном физиологическом растворе (ЗФР).

Исследования проводили на 30 морских свинок (масса 200–250 г) и 100 белых беспородных мышах (18–20 г) обоих полов, стандартных по условиям содержания, полученных из питомника ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора. Животных выводили из эксперимента в соответствии с Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных и Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и других научных целях ETS N 123 (Страсбург, 1986) [14].

Для изучения острой токсичности было сформировано 10 групп по 10 особей белых мышей в каждой. Экспериментальные препараты (НК-Ag, НК-Au и НК-Se) вводили подкожно однократно в объёме 0,5 мл в дозах 1,0, 0,1 и 0,01 г сухого вещества на килограмм веса животного. Срок наблюдений составлял семь суток. Каждый день проводился осмотр экспериментальных животных (внешний осмотр, взвешивание, измерение температуры тела). При вскрытии павших животных обращали внимание на изменения в паренхиматозных органах и месте введения препаратов. Среднелетальную дозу (LD_{50}) определяли по формуле: $LD_{50} = Dn - \delta(\sum Li - 0,5)$, где n – общее число испытанных доз (разведений), Dn – максимальная доза из испытанных, δ – логарифм отношения каждой последующей дозы к предыдущей, т.е. единица кратности разведений, Li – отношение числа животных, погибших от введения данной дозы к общему числу животных, которым эта доза была введена.

Для изучения влияния полимерных наноконпозитов на функциональное состояние клеток морских свинок

получали перитонеальные макрофаги согласно методическим рекомендациям [15]. Концентрацию клеток доводили до 10^6 клеток/мл. Макрофаги в условиях *in vitro* примировали НК-Ag, НК-Au или НК-Se в дозах 10, 20, 30 и 40 мкг/мл, в течение 60 мин при 37 °C в термостате. Контролем служили интактные клетки. В качестве дополнительного контроля использовали коммерческий Lipopolysaccharides from *Escherichia coli* 055:B5 (Sigma-Aldrich, США) (далее по тексту ЛПС *E. coli*) с хорошо изученными свойствами.

Определение суммарной активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФД) и супероксиддисмутазы (СОД) проводили спектрофотометрическим методом [15]. Учёт оптической плотности осуществляли на автоматическом ридере ELx 808 IU (Biotek Instruments Inc, США) при длине волны 340 нм в случае Г6ФД и 490 нм – для СОД. Об активации ферментов (Г6ФД и СОД) перитонеальных макрофагов судили по индексу стимуляции (ИС), который рассчитывали по формуле $ИС = ПО/ПК$, где ПО – показатель оптической плотности в опытной группе), ПК – показатели оптической плотности в контрольной группе, значения ИС выражали в условных единицах (у.е.).

При изучении действия экспериментальных препаратов на продукцию клетками крови цитокинов интерферон- γ (IFN- γ), фактор некроза опухоли- α (TNF- α) и интерлейкин-4 (IL-4) использовали кровь от 11 условно-здоровых добровольцев обоих полов в возрасте 28–60 лет.

Исследование спонтанной/индуцированной продукции цитокинов клетками крови человека проводили в группах: 1 – образцы со спонтанной продукцией цитокинов (контроль); 2 – индуцированные конканавалином А; 3 – индуцированные ЛПС *E. coli*; 4 – индуцированные полимерным НК-Ag; 5 – индуцированные НК-Au; 6 – индуцированные НК-Se. Для этого гепаринизированную кровь в объёме 1 мл смешивали со средой RPMI-1640 (Пан-Эко, Россия) в соотношении 1:3. К 1 мл смеси добавляли тестируемые препараты в концентрации 10, 20, 30 и 40 мкг/мл и инкубировали в течение 24 часов при 37 °C в термостате. В качестве положительного контроля использовали коммерческий Т-клеточный митоген конканавалин А (Пан-Эко, Россия) в конечной концентрации 15 мкг/мл, в образцы со спонтанной продукцией добавляли ЗФР. Уровень цитокинов определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих тест-систем (Вектор-Бест, Россия) согласно инструкции производителя, полученные данные выражали в пг/мл.

Этическая экспертиза

В работе с добровольцами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. Все участники прошли предварительное анкетирование и подписали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Протокол утверждён локальным этическим комитетом ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский

Таблица 1

Спонтанная и индуцированная конканавалином А, ЛПС *E. coli* и наноконкомпозитами продукция цитокинов (IFN- γ , TNF- α , IL-4) клетками крови, Ме (Q25%–Q75%)

Table 1

Spontaneous and induced by concanavalin A, LPS *E. coli* and nanocomposites production of cytokines (IFN- γ , TNF- α , IL-4) by blood cells, Me (Q25%–Q75%)

Наименование препарата	Доза, мкг/мл	IFN- γ , пг/мл	TNF- α , пг/мл	IL-4, пг/мл
Референсные значения	–	0–14	1–42	0–2,4
Контроль	–	180 (100–280)	60 (60–550)	0 (0–1,0)
Конканавалин А	15	240 (240–800)*	60 (60–1000)	0,5 (0–2,0)
ЛПС <i>E. coli</i>	10	350 (200–1100)	4300 (3550–4450)*	1 (1,0–1,0)
	20	650 (350–950)*	3600 (2510–4700)*	1,3 (1,0–1,5)
	30	500 (350–800)*	2910 (1910–3750)*	1,3 (0,5–1,5)
	40	1100 (650–1100)*	4450 (4000–4850)*	1,5 (1,3–1,6)*
НК-Ag	10	155 (65–250)	495 (60–1235)	0 (0–1,0)
	20	65 (10–230)	345 (60–775)	1,0 (0,3–2,1)
	30	160 (90–200)	495 (140–1000)	1,8 (1,0–2,3)*
	40	180 (110–270)	345 (100–700)	1,0 (0,5–1,3)*
НК-Au	10	110 (10–300)	850 (140–1000)*	1,0 (0–1,5)
	20	10 (10–200)	850 (140–1150)*	1,5 (1,0–1,6)*
	30	10 (10–260)	400 (140–1000)	1,0 (0,5–1,5)
	40	110 (10–240)	550 (140–850)*	1,5 (1,0–2,0)*
НК-Se	10	65 (10–130)	140 (140–400)	0,8 (0–1,3)
	20	135 (10–280)	350 (140–775)	0,5 (0–1,3)
	30	155 (105–290)	650 (140–1600)*	1,0 (0,3–1,3)
	40	260 (10–380)	220 (140–1470)*	0,8 (0–1,0)

Примечание. * – $p < 0,05$ при сравнении с показателем в контроле.

Note. $p < 0.05$ when compared with the indicator in the control.

противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора.

Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA» версия 6.1 непараметрическими критериями Крускала – Уоллиса и Манна – Уитни, так как сравниваемые выборки не соответствовали условиям нормальности распределения, оценку которой проводили с помощью W-критерия Шапиро – Уилка. Полученные данные выражали в виде медианы (Me) и диапазона квартильных отклонений (Q25%–Q75%). При этом различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При испытании тестируемых препаратов (НК-Ag, НК-Au) на острую токсичность установлено, что они при однократном подкожном введении в дозах 1,0, 0,1 и 0,01 г сухого вещества на килограмм веса животного

не вызывали гибели белых мышей, а также повышения температуры и уменьшения массы тела по сравнению с исходными значениями. Важно отметить, что при подкожном введении экспериментальным животным НК-Se в дозе 1,0 г/кг массы наблюдалась гибель 50 % особей, у которых при вскрытии отмечалось изменение цвета печени (глинистый цвет), что может указывать на развитие интоксикации. LD₅₀ для этого препарата составила 1,0 г/кг массы животного.

Согласно полученным результатам статистически значимые различия между спонтанной и индуцированной конканавалином А продукцией цитокинов были установлены лишь в случае IFN-γ (табл. 1), тем не менее в отношении TNF-α и IL-4 можно говорить о тенденции к повышению уровня этих цитокинов под влиянием этого митогена ($0,1 > p > 0,05$).

Экспериментально показано, что НК-Au в дозах 10, 20 и 40 мкг повышал продукцию TNF-α в среднем в 12,3 раза, а в случае с НК-Se в дозах 30 и 40 мкг – в 10,8 и 3,7 раза

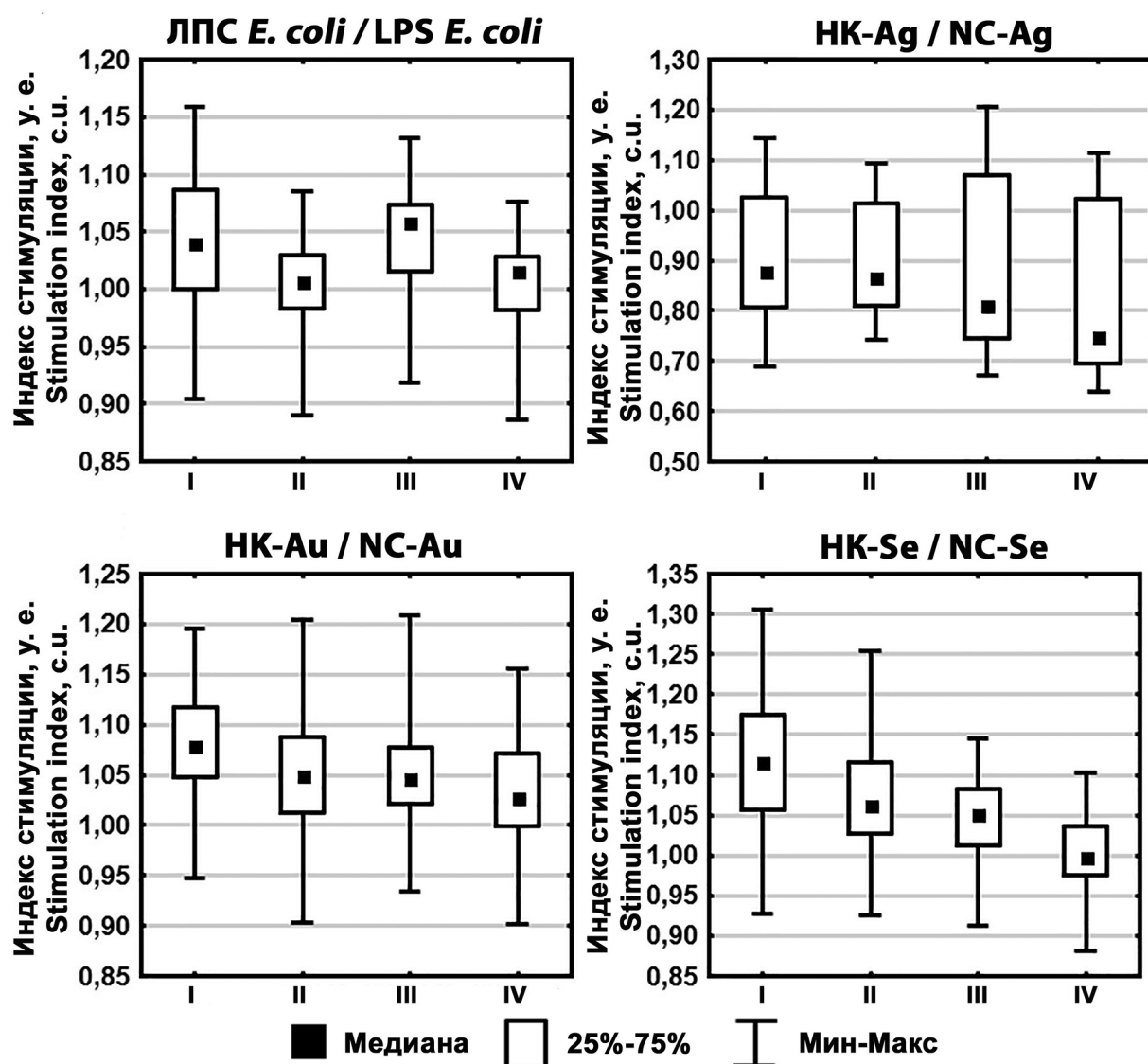


Рис. 1. Индекс стимуляции Г6ФД перитонеальных макрофагов под влиянием ЛПС *E. coli* и нанокмпозитов, Ме (Q25%–Q75%). I – концентрация 40 мкг/мл, II – концентрация 30 мкг/мл, III – концентрация 20 мкг/мл, IV – концентрация 10 мкг/мл.

Fig. 1. G6PD stimulation index of peritoneal macrophages under the influence of LPS *E. coli* and nanocomposites, Me (Q25%–Q75%). I – concentration 40 μg/ml, II – concentration 30 μg/ml, III – concentration 20 μg/ml, IV – concentration 10 μg/ml.

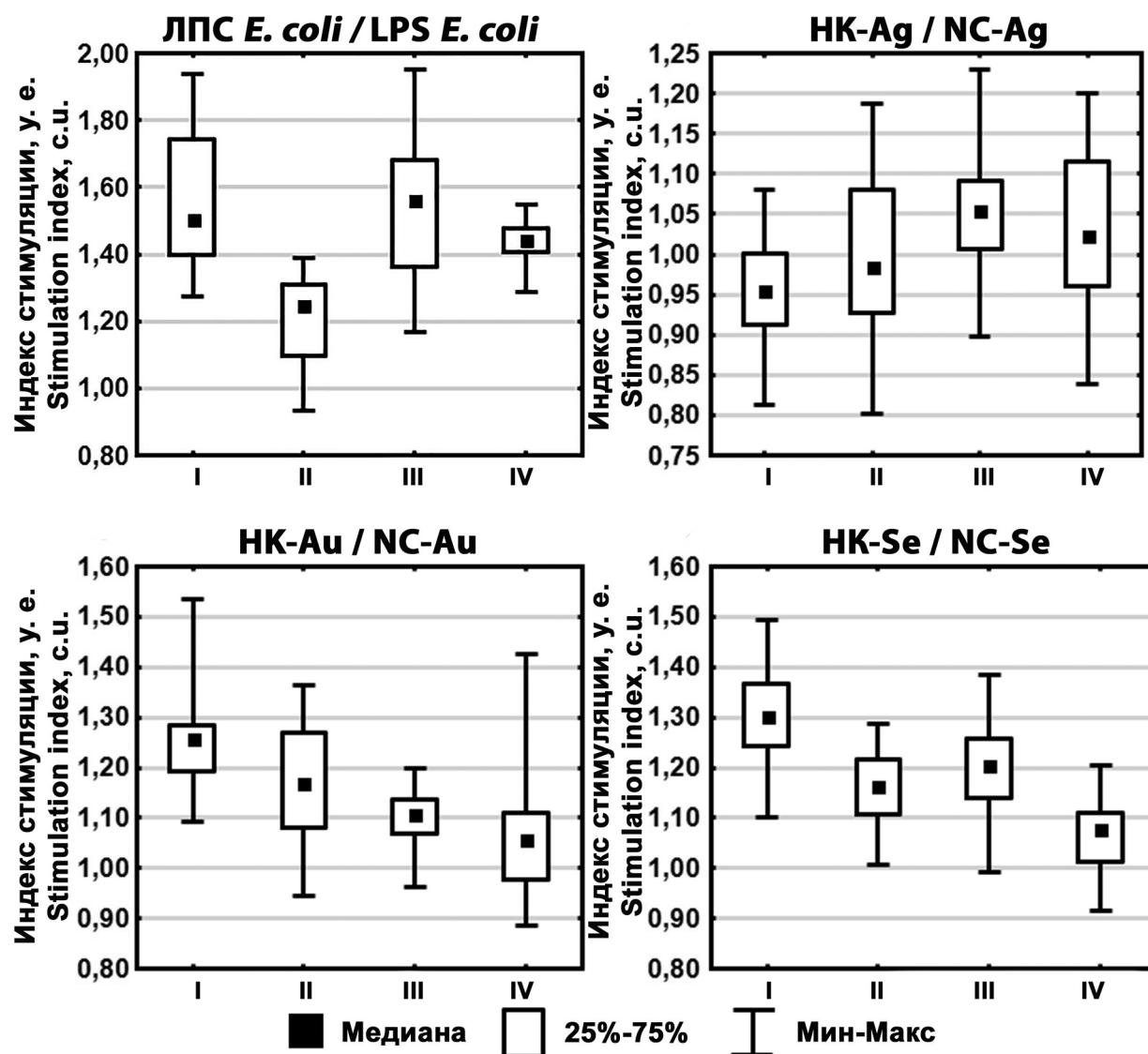


Рис. 2. Индекс стимуляции СОД перитонеальных макрофагов под влиянием ЛПС *E. coli* и нанокмпозитов, Ме (Q25%–Q75%). I – концентрация 40 мкг/мл, II – концентрация 30 мкг/мл, III – концентрация 20 мкг/мл, IV – концентрация 10 мкг/мл.

Fig. 2. SOD stimulation index of peritoneal macrophages under the influence of LPS *E. coli* and nanocomposites, Me (Q25%–Q75%). Note: I – concentration 40 µg/ml, II – concentration 30 µg/ml, III – concentration 20 µg/ml, IV – concentration 10 µg/ml.

соответственно, по сравнению со спонтанными пробами ($p < 0,05$). ЛПС *E. coli* в аналогичных дозах значительно, в среднем в 63,6 раза ($p < 0,05$), увеличивал продукцию TNF- α клетками крови человека в сравнении с показателями в контроле. Вместе с этим, выявлено отличие ЛПС *E. coli* от Т-клеточного митогена конканавалина А. Так, показатели концентрации цитокина у первого препарата статистически значимо выше ($p < 0,05$), в среднем в 63,6 раза, чем в случае конканавалина А. Стоит отметить, что достоверных различий эффектов действия нанокмпозитов с наночастицами серебра, золота и селена при сравнении друг с другом независимо от дозы обнаружено не было.

При анализе продукции IFN- γ (табл. 1) было показано, что конканавалин А достоверно повышал концентрацию данного цитокина в 1,3 раза, в случае ЛПС *E. coli* в дозах 20, 30 и 40 мкг – в 3,6, 2,7 и 6,1 раза соответственно ($p < 0,05$) в сравнении с показаниями в контроле. Отличий между спонтанной и индуцированной нанокмпозитами с на-

ночастицами серебра, золота и селена продукцией IFN- γ выявлено не было, однако имела место тенденция к повышению концентрации данного цитокина в сравнении с показателями в контроле ($0,1 > p > 0,05$).

Установлено, что ЛПС *E. coli* вызывал достоверное повышение синтеза IL-4 лишь в дозе 40 мкг ($p < 0,01$), в случае НК-Ag в дозах 30 и 40 мкг и НК-Au – 20 и 40 мкг ($p < 0,05$) в сравнении с контролем. Стоит отметить, что у всех тестируемых препаратов при сравнении их действия на продукцию IL-4 с показателями в контроле отмечалась тенденция к повышению концентрации данного цитокина ($0,1 > p > 0,05$).

Согласно результатам непараметрического дисперсионного анализа (критерий Крускала – Уоллиса) статистически значимых различий показателей концентраций цитокинов (TNF- α , IFN- γ , IL-4) клетками крови при действии нанокмпозитов и коммерческих препаратов (конканавалином А и ЛПС *E. coli*) не было выявлено ($p > 0,05$).

Активность Г6ФД перитонеальных макрофагов, примированных ЛПС *E. coli* в дозах 10, 20, 30 и 40 мкг, статистически значимо выше, чем в пробах с интактными клетками ($p < 0,05$). При этом достоверных различий между выборками с разными дозами выявлено не было (рис. 1). В случае с НК-Ag также не установлены различия между дозами, тем не менее ИС статистически значимо ниже, чем НК-Au и НК-Se ($p < 0,01$). Стоит отметить, что НК-Se в дозе 40 мкг обладал самым высоким стимулирующим влиянием на активность Г6ФД перитонеальных макрофагов морских свинок среди всех тестируемых препаратов ($p < 0,01$).

Показано, что ЛПС *E. coli* стимулирует активность СОД независимо от дозы, превышая показатели в контроле в среднем в 1,4 раза ($p < 0,01$). Сходным действием обладали наноконпозиты с наночастицами золота и селена в высокой дозе 40 мкг, тем самым повышая активность СОД в 1,3 и 1,2 раза соответственно ($p < 0,05$) (рис. 2).

Таким образом, при испытании тестируемых препаратов НК-Ag и НК-Au на острую токсичность LD_{50} для белых мышей не установлена. При однократном подкожном введении этих препаратов в дозах 1,0, 0,1 и 0,01 г сухого вещества на килограмм веса животного повышение температуры и уменьшение массы тела не выявлено. Следует отметить, что ранее нами было отмечено развитие некроза и яркое окрашивание в чёрный цвет подлежащей ткани при введении экспериментальным животным НК-Au (содержание золота 8,3 %, размеры наночастиц – в диапазоне 1–14 нм, из них преимущественное количество наночастиц золота (90 %) имеют размеры 1–4 нм) в дозах 1,0 и 0,1 г/кг, а также патоморфологическое изменение печени в случае применения НК-Au в дозе 1,0 г/кг [9]. В настоящем исследовании подобных изменений не было зарегистрировано, что возможно связано со снижением содержания металлов в НК (НК-Au, содержание золота 2,2 %, размеры наночастиц – 1–5 нм). Для препарата НК-Se установлена LD_{50} – 1,0 г/кг массы животного, что указывает на токсичность данного препарата в указанной дозе.

Полученные в ходе исследования данные свидетельствуют, что тестируемые наноконпозиты с наночастицами серебра, золота и селена обладали способностью стимулировать продукцию про- и противовоспалительных цитокинов клетками крови человека в условиях *in vitro*. Так, НК-Ag и НК-Au достоверно повышали концентрацию IL-4, а НК-Au и НК-Se – TNF- α , тем не менее у всех тестируемых препаратов независимо от дозы показана тенденция к увеличению синтеза IL-4, что подтверждает ранее проведённые исследования [9].

Установлено, что достоверному увеличению активности антиоксидантного фермента СОД и Г6ФД (главного фермента пентозофосфатного пути) перитонеальными макрофагами морских свинок способствовал только препарат НК-Se в высокой дозе (40 мкг/мл). Следует отметить, что активность СОД также стимулировал НК-Au в дозе 40 мкг, но в гораздо меньшей степени, чем было продемонстрировано ранее [9], что также объясняется снижением содержания металла в составе наноконпозита.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом данное исследование продемонстрировало способность наноконпозитов с наночастицами серебра,

золота и селена стимулировать функциональную активность перитонеальных макрофагов и клеток крови. Тем не менее цитокиновый статус (TNF- α , IFN- γ), активность СОД и Г6ФД, а также токсические свойства НК-Ag и НК-Au зависят от содержания металлов в составе сополимера 1-винилтриазола с N-винилпирролидоном, что подтверждается ранее полученными данными при изучении металлосодержащих наноконпозитов [6].

Полученные данные позволяют обосновать необходимость дальнейшего всестороннего исследования действий полимерных наноконпозитов на основе сополимера 1-винилтриазола с N-винилпирролидоном с наночастицами серебра, золота и селена в условиях как *in vitro*, так и *in vivo*.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Немировская Т.И., Ковтун В.П., Абрамцева М.В., Александрова Н.В., Тарасов А.П., Салахова Р.Д., Волков В.А., Меркулов В.А. Иммуномодуляторы бактериальной природы, зарегистрированные в Российской Федерации. БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2014; (3): 19-26.
- Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Современные иммуномодуляторы. Классификация. Механизм действия. М.: ФАРМАРУС ПРИНТ; 2005.
- Романцов М.Г., Шульдякова О.Г., Коваленко А.Л. Иммуномодуляторы с противовирусной активностью: опыт применения метилглюкамина акридоната в педиатрической практике. Фундаментальные исследования. 2004; 1: 29-33.
- Смирнов В.С. Профилактика и лечение группа и острых респираторных вирусных инфекций. СПб.: АЙСИНГ; 2012.
- Bascones-Martinez A, Mattila R, Gomez-Font R, Meurman JH. Immunomodulatory drugs: Oral and systemic adverse effects. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2014; 19(1): 24-31.
- Балахонов С.В. (ред.) Иммуномодулирующее действие металлосодержащих наноконпозитов. Иркутск: Мегаринт; 2017.
- Broz P. *Polymer-Based Nanostructures: Medical Applications*. RSC Publishing, Cambridge; 2010.
- Jones CF, Grainger DW. In vitro assessments of nanomaterial toxicity. *Adv Drug Deliv Rev*. 2009; 61 (6): 438-456. doi.org/10.1016/j.addr.2009.03.005
- Дубровина В.И., Витязева С.А., Корытов К.М., Пятидесятникова А.Б., Войткова В.В., Прозорова Г.Ф., Поздняков А.С., Иванова А.А., Балахонов С.В. Функциональное состояние клеток иммунофагоцитарной системы под действием сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном и металлосодержащих наноконпозитов. *Acta biomedica scientifica*. 2018; 3(5): 132-136. https://doi.org/10.29413/ABS.2018-3.5.19
- Прозорова Г.Ф., Коржова С.А., Поздняков А.С., Емельянов А.И., Ермакова Т.Г., Дубровина В.И. Иммуномодулирующие свойства серебросодержащего наноконпозита на основе поливинилтриазола. *Известия Академии наук. Серия химическая*. 2015; 64(6): 1437-1439.
- Dallas P, Zboril R, Sharma VK. Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: classification, synthetic paths, applications, and perspectives.

Adv Colloid Interface Sci. 2011; 166(1-2): 119-135. doi.org/10.1016/j.cis.2011.05.008

12. Dubrovina VI, Balakhonov SV, Voitkova VV, Vityazeva SA, Starovoitova TP, Korytov KM, Prozorova GF, Aleksandrova GP, Kolesnikov SI. Effect of metal-containing nanocomposites on functional status of the thymus in experimental animals. *Bull Exp Biol Med.* 2017; 162(5): 666-670. doi.org/10.1007/s10517-017-3683-4

13. Поздняков А.С., Иванова А.А., Емельянов А.И., Ермакова Т.Г., Прозорова Г.Ф. Наноконпозиты с наночастицами серебра на основе сополимера 1-винил-1,2,4-триазола с N-винилпирролидоном. *Известия Академии наук. Серия химическая.* 2017; (6): 1099-1103.

14. Каркищенко Н.Н., Грачев С.В. (ред.) *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях.* М.: Профиль; 2010.

15. Дубровина В.И., Коновалова Ж.А., Колесникова О.Б. *Методические рекомендации по определению функционального состояния фагоцитов в качестве показателя неспецифической защиты организма.* Иркутский НИПЧИ; 2008.

REFERENCES

1. Nemirovskaya TI, Kovtun VP, Abramtseva MV, Alexandrova NV, Tarasov AP, Salakhova RD, Volkov VA, Merkulov VA. Immunomodulators of bacterial origin registered in the Russian Federation. *BIOPreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie.* 2014; (3): 19-26. (In Russ.)

2. Khaitov RM, Pinegin BV. *Modern immunomodulators. Classification. Mechanism of action.* M.: FARMARUS PRINT; 2005. (In Russ.)

3. Romantsov MG, Shuldyakova OG, Polyakov VK, Kovalenko AL. Immunomodulators with antiviral activity: methylglucamine acridoneacetate in pediatrics. *Fundamental'nye issledovaniya.* 2004; 1: 29-33. (In Russ.)

4. Smirnov VS. *Prevention and treatment of influenza and acute respiratory viral infections.* Sankt-Peterburg: AYSING; 2012. (In Russ.)

5. Bascones-Martinez A, Mattila R, Gomez-Font R, Meurman JH. Immunomodulatory drugs: Oral and systemic adverse effects. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2014; 19(1): 24-31.

6. Balakhonov SV. (ed.) *Immunomodulatory effects of metal-containing nanocomposites.* Irkutsk: Megaprint; 2017. (In Russ.)

7. Broz P. *Polymer-Based Nanostructures: Medical Applications.* RSC Publishing, Cambridge; 2010.

8. Jones CF, Grainger DW. In vitro assessments of nanomaterial toxicity. *Adv Drug Deliv Rev.* 2009; 61(6): 438-456. doi.org/10.1016/j.addr.2009.03.005

9. Dubrovina VI, Vityazeva SA, Korytov KM, Pyatidesyatnikova AB, Voytkova VV, Prozorova GF, Pozdnyakov AS, Ivanova AA, Balakhonov SV. Action of 1-Vinyl-1,2,4-Triazole Copolymer with N-Vinylpyrrolidone and Metal-Containing Nanocomposites on Functional State of Phagocytic Cells. *Acta biomedica scientifica.* 2018; 3(5): 132-136. doi.org/10.29413/ABS.2018-3.5.19 (In Russ.)

10. Prozorova GF, Korzhova SA, Pozdnyakov AS, Emelyanov AI, Ermakova TG, Dubrovina VI. Immunomodulatory properties of silver-containing nanocomposite on the basis of polyvinyltriazole. *Izvestiya Akademii nauk. Seriya khimicheskaya.* 2015; 64(6): 1437-1439. (In Russ.)

11. Dallas P, Zboril R, Sharma VK. Silver polymeric nanocomposites as advanced antimicrobial agents: classification, synthetic paths, applications, and perspectives. *Adv Colloid Interface Sci.* 2011; 166(1-2): 119-135. doi.org/10.1016/j.cis.2011.05.008

12. Dubrovina VI, Balakhonov SV, Voitkova VV, Vityazeva SA, Starovoitova TP, Korytov KM, Prozorova GF, Aleksandrova GP, Kolesnikov SI. Effect of metal-containing nanocomposites on functional status of the thymus in experimental animals. *Bull Exp Biol Med.* 2017; 162(5): 666-670. doi.org/10.1007/s10517-017-3683-4

13. Pozdnyakov AS, Ivanova AA, Emelyanov AI, Ermakova TG, Prozorova GF. Nanocomposites with silver nanoparticles based on copolymer of 1-vinyl-1,2,4-triazole with N-vinylpyrrolidone. *Izvestiya Akademii nauk. Seriya khimicheskaya.* 2017; (6): 1099-1103. (In Russ.)

14. Karkishchenko NN, Grachev SV. (Ed.) *Guidelines to work with laboratory animals and alternative models in biomedical technologies.* M.: Profil'; 2010. (In Russ.)

15. Dubrovina VI, Konovalova ZA, Kolesnikova OB. *Guidelines for determining the functional state of phagocytes as an indicator of nonspecific protection of the organism.* Irkutskiy NIPChI; 2008. (In Russ.)

Сведения об авторах

Корытов Константин Михайлович – научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, ORCID <http://orcid.org/0000-0003-1137-6049>

Дубровина Валентина Ивановна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru, ORCID <http://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

Витязева Светлана Александровна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела микробиологии чумы, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, ORCID <http://orcid.org/0000-0003-0959-4987>

Пятидесятникова Анна Борисовна – младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, ORCID <http://orcid.org/0000-0002-6381-4517>

Войткова Валентина Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, ORCID <http://orcid.org/0000-0002-0685-7625>

Прозорова Галина Фирсовна – доктор химических наук, ведущий научный сотрудник, ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, e-mail: prozorova@irioch.irk.ru, ORCID <http://orcid.org/0000-0003-3833-9002>

Поздняков Александр Сергеевич – кандидат химических наук, заведующий лабораторией функциональных полимеров, ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, ORCID <http://orcid.org/0000-0002-9365-3697>

Иванова Анастасия Андреевна – аспирант, ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, ORCID <http://orcid.org/0000-0003-4738-8906>

Балахонов Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, директор, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID <http://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Information about the authors

Konstantin M. Korytov – Research Officer, Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor. ORCID <http://orcid.org/0000-0003-1137-6049>

Valentina I. Dubrovina – Dr. Sc. (Biol.), Head of Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru, ORCID <http://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

Svetlana A. Vityazeva – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer, Department of Plague Microbiology, Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor. ORCID <http://orcid.org/0000-0003-0959-4987>

Anna B. Pyatidesyatnikova – Junior Research Officer, Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, ORCID <http://orcid.org/0000-0002-6381-4517>

Valentina V. Voitkova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer, Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, ORCID <http://orcid.org/0000-0002-0685-7625>

Galina F. Prozorova – Dr. Sc. (Chem.), Leading Research Officer, A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS, e-mail: prozorova@iriocch.irk.ru, ORCID <http://orcid.org/0000-0003-3833-9002>

Aleksandr S. Pozdnyakov – Cand. Sc. (Chem.), Head of the Laboratory of Functional Polymers, A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS, ORCID <http://orcid.org/0000-0002-9365-3697>

Anastasiya A. Ivanova – Graduate Student, A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS, ORCID <http://orcid.org/0000-0003-4738-8906>

Sergey V. Balakhonov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Irkutsk Anti plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, ORCID <http://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Информация о вкладе авторов

Корытов К.М. – планирование эксперимента, постановка реакций, учёт и анализ результатов, написание статьи

Дубровина В.И. – планирование эксперимента, анализ результатов, написание статьи

Витязева С.А. – планирование и проведение эксперимента на острую токсичность препаратов, учёт и анализ результатов, написание раздела статьи по острой токсичности препаратов

Пятидесятникова А. Б. – постановка реакций, учёт результатов

Войткова В.В. – планирование эксперимента, анализ результатов, оформление статьи

Прозорова Г.Ф. – получение экспериментальных нанокомпозитов, участие в оформлении раздела «Материалы и методы»

Поздняков А.С. – получение экспериментальных нанокомпозитов, участие в оформлении раздела «Материалы и методы»

Иванова А.А. – получение экспериментальных нанокомпозитов

Балахонov С.В. – планирование научной темы, оформление статьи

Статья получена: 01.04.2019. Статья принята: 29.04.2019. Статья опубликована: 26.06.2019.

Received: 01.04.2019. Accepted: 29.04.2019. Published: 26.06.2019.

Влияние статинов (зокора) на кислородзависимые процессы в мышечной ткани и эритроцитах животных с гиперхолестеринемией

Микашинович З.И., Виноградова Е.В., Белоусова Е.С.

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ (344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Виноградова Елена Викторовна, e-mail: mod8792@mail.ru

Резюме

Обоснование. Терапия статинами может сопровождаться токсическим влиянием на скелетную мускулатуру и клетки печени, молекулярные механизмы которых до сих пор не до конца изучены.

Цель исследования: выяснить особенности изменения кислородтранспортной функции эритроцитов и антиоксидантных механизмов в эритроцитах и мышцах животных при длительном введении статинов (симвастатина).

Методы. Исследование проводилось на беспородных крысах-самцах, которые в процессе эксперимента были рандомизированы на группы: контрольная группа – животные, содержащиеся на общем рационе вивария, группа сравнения – животные с индуцированной гиперхолестеринемией, основная группа – животные с индуцированной гиперхолестеринемией, получавшие симвастатин. В эритроцитах и мышечной ткани животных определяли показатели, характеризующие состояние АОЗ и углеводного обмена.

Результаты. Эксперимент показал, что введение животным симвастатина характеризовалось усугублением гипоксии, обусловленной гиперхолестеринемией, на что указывает резкое увеличение концентрации 2,3-ДФГ и лактата в эритроцитах животных, а также значительное снижение активности Г6ПД. В мышечной ткани животных было отмечено снижение концентрации пировиноградной кислоты и лактата относительно группы сравнения, что указывает на их интенсивное участие в обменных процессах.

Выявленные разнонаправленные изменения активности антиоксидантной системы в эритроцитах и мышечной ткани у животных с индуцированной гиперхолестеринемией, получавших симвастатин, свидетельствуют о дезинтеграции защитных механизмов, что может привести к накоплению свободно-радикальных продуктов и окислительному повреждению клеток.

Заключение. Исходя из полученных данных, можно предположить, что особенностью действия статинов в эритроцитах является усиление отдачи кислорода тканям, что в мышцах сопровождалось уменьшением уровня недоокисленных продуктов. В то же время на фоне применения статинов, несмотря на позитивную направленность приспособительных реакций, сохраняются признаки окислительного стресса, что документировается разбалансировкой системы «СОД – каталаза» и снижением активности глутатион-зависимых реакций.

Ключевые слова: статины, дислипидемии, побочные эффекты, эритроциты, мышечная ткань, миопатия, антиоксидантная система

Для цитирования: Микашинович З.И., Виноградова Е.В., Белоусова Е.С. Влияние статинов (зокора) на кислородзависимые процессы в мышечной ткани и эритроцитах животных с гиперхолестеринемией. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 110-116. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.14

Effect of Statins (Zocor) on Oxygen-Dependent Processes in Muscle Tissue and Erythrocytes in Animals with Hypercholesterolemia

Vinogradova E.V., Mikashinovich Z.I., Belousova E.S.

Rostov State Medical University (per. Nakhichevansky 29, Rostov-on-Don 344022, Russian Federation)

Corresponding author: Elena V. Vinogradova, e-mail: mod8792@mail.ru

Abstract

Background. Statin therapy may be accompanied by a toxic effect on skeletal muscle and liver cells, the molecular mechanisms of which have not yet been fully understood.

Aim. To clarify the peculiarities of changes in the oxygen transport function of erythrocytes and antioxidant mechanisms in erythrocytes and muscles of animals with prolonged administration of statins (simvastatin).

Materials and methods. The study was conducted on outbred male rats, which during the experiment were randomly assigned to following groups: the control group contained animals on a common ration of the vivarium, the group of comparison – animals with induced hypercholesterolemia, the main group – animals with induced hypercholesterolemia treated with simvastatin. In erythrocytes and muscle tissue of animals, indicators characterizing the state of antioxidant defense and carbohydrate metabolism were determined.

The results. The experiment showed that the administration of simvastatin to animals was characterized by aggravation of hypoxia due to hypercholesterolemia, as indicated by a sharp increase in the concentration of 2,3-BPG and lactate in erythrocytes of animals, as well as a significant decrease in the activity of G6PD. In the muscle tissue of animals, there was a decrease in the concentration of pyruvic acid and lactate relative to the comparison group, which indicates their intensive participation in metabolic processes.

Conclusion. Based on the data obtained, it can be assumed that the peculiarity of the action of statins in erythrocytes is the increased oxygen delivery to the tissues, which in muscles was accompanied by a decrease in the level of oxidized

products. At the same time, against the background of the use of statins, despite the positive direction of adaptive reactions, signs of oxidative stress remain, which is documented by the imbalance of the SOD-catalase system and a decrease in the activity of glutathione-dependent reactions.

Key words: *statins, dyslipidemia, side effects, erythrocytes, muscle tissue, myopathy, antioxidant system*

For citation: Vinogradova E.V., Mikashinovich Z.I., Belousova E.S. Effect of statins (zocor) on oxygen-dependent processes in muscle tissue and erythrocytes in animals with hypercholesterolemia. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 110-116. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.14

Дислипидемии играют важную роль в патогенезе многих серьёзных заболеваний. На сегодняшний день основными препаратами для лечения патологических состояний, напрямую ассоциированных с нарушениями обмена липидов и холестерина, являются статины.

Статины – эффективные гиполипидемические препараты, с обширной доказательной базой в виде крупных клинических исследований [1]. Но несмотря на это, основной причиной неназначения или отмены препаратов данной группы является риск развития серьёзных побочных эффектов, таких как токсическое влияние на скелетную мускулатуру и клетки печени, молекулярные аспекты которых до сих пор не до конца понятны [2–7].

Важнейшей особенностью функционирования мышц является то, что в процессе мышечного сокращения происходит превращение химической энергии АТФ в механическую энергию, что требует постоянной регенерации аденозинтрифосфата. Энергетический обмен, в свою очередь, напрямую зависит от обеспечения клеток кислородом, недостатком которого чреват накоплением активных форм кислорода в электрон-транспортной системе и, следовательно, является чувствительным индикатором нарушения кислородного гомеостаза.

Эритроциты, являясь одним из важнейших элементов микроциркуляции, в значительной мере определяют гемодинамический и метаболический гомеостаз тканей, влияют на реализацию многих адаптивных реакций организма и являются важным неспецифическим интегральным показателем кислородного обеспечения организма [8].

Исходя из этого, можно предположить, что анализ метаболических изменений, характеризующих кислородтранспортную функцию и антиоксидантные процессы в эритроцитах и мышечной ткани, позволит оценить вклад гипоксии в формирование метаболических и морфофункциональных изменений в мышечной ткани при длительном введении симвастатина [2].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Выяснить особенности изменения кислородтранспортной функции эритроцитов и антиоксидантных механизмов в эритроцитах и мышцах животных при длительном введении статинов (симвастатина).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования использовались беспородные крысы-самцы в возрасте 12–14 месяцев. Содержание животных осуществлялось в соответствии с Приказом Минздрава РФ № 708Н от 23.08.2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики» и санитарными правилами СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) от 29.08.2014 г.».

В процессе эксперимента животные были рандомизированы на группы. Контрольная группа – 35 животных,

содержавшихся на общем рационе вивария, и в течение 3 месяцев получавших через пищеводный зонд 0,5 мл дистиллированной воды один раз в сутки.

У остальных животных индуцировали эссенциальную гиперхолестеринемию путём содержания в течение 3 месяцев на рационе, обогащённом животными жирами (топлёное сливочное масло) и легко усваиваемыми углеводами (тростниковый сахар, манная крупа). Полное описание рациона не приводится, поскольку ведётся работа по оформлению заявки на изобретение по способу моделирования гиперхолестеринемии.

По истечении 3 месяцев у животных определяли уровень общего холестерина (ХС) на анализаторе «Bayet» (Германия). После подтверждения гиперхолестеринемии животные были вновь рандомизированы на две группы:

- группа 1 (сравнения) – 35 животных с экспериментальной гиперхолестеринемией, в течение 2 месяцев получавших рацион без добавления лекарственных веществ и 0,5 мл дистиллированной воды один раз в сутки через пищеводный зонд;
- группа 2 (основная) – 35 животных с экспериментальной гиперхолестеринемией, получавших в течение 2 месяцев симвастатин (Zocor, 20 мг) по 0,0012 г на 100 г массы, один раз в сутки в виде водной суспензии через пищеводный зонд.

Животных выводили из эксперимента декапитацией. Все манипуляции соответствовали общепринятым этическим нормам (протокол ЛНЭК ГБОУ ВПО «Ростовского государственного медицинского университета» МЗ РФ № 21/15 от 10.12.2015 г.).

Для исследования использовали фрагменты скелетных мышц с задней лапы животного. Гомогенат мышечной ткани готовили в соотношении 1 г ткани : 9 мл охлаждённого 0,9% водного раствора хлорида натрия (NaCl), центрифугировали при 3000 об./мин, для определения уровня субстратов и активности ферментов использовали надосадочную жидкость.

Эритроциты получали из крови, стабилизированной гепарином (10 ед./мл), отделяли от лейкоцитов и тромбоцитов в 3% желатиновом растворе с последующим центрифугированием. После отделения плазмы и верхнего слоя клеток эритроциты отмывали охлаждённым физиологическим раствором (2–3 раза). Для получения плотного осадка отмываемые эритроциты центрифугировали при 3000 об./мин в течение 30 минут.

Концентрацию пировиноградной кислоты (ПВК) определяли по образованию окрашенного соединения при взаимодействии с 2,4-динитрофенилгидразином [9]. Концентрацию лактата определяли по реакции окрашивания параоксидифенила с уксусным альдегидом, образующимся из лактата в присутствии серной, фосфорной кислот и ионов меди [10]. Концентрацию 2,3-дифосфоглицерата (2,3-ДФГ) определяли методом, основанном на колориметрическом измерении содержания фосфатов в хлорнокислом экстракте после удаления кислотора-

створимых нуклеотидов абсорбцией на активированном угле [11]. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ) определяли путём регистрации уровня НАДФН₂, образующегося при окислении глюкозо-6-фосфата [10]. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли методом, основанном на способности фермента тормозить автоокисление адреналина в щелочной среде при pH = 10,2 [12]. Активность каталазы определяли по убыли субстрата – пероксида водорода в единицу времени по реакции с молибденовокислым аммонием [13]. Активность глутатионредуктазы (ГР) определяли по скорости окисления НАДФН₂ [10]. Активность глутатионпероксидазы (ГПО) определяли по изменению содержания восстановленного глутатиона в пробах до и после инкубации с модельным субстратом с помощью цветной реакции с 5,5-дитиобис-(2-нитробензойной) кислотой (5,5-ДТНБК) [10]. Концентрацию восстановленного глутатиона (GSH) определяли методом, в основе которого лежит реакция 5,5-ДТНБК с восстановленным глутатионом [13].

Статистическую обработку полученного материала проводили с использованием программы STATISTICA 10.0 и Excel Microsoft.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание животных на рационе с повышенным содержанием жира и углеводов (группа 1) в течение 3 месяцев привело к увеличению уровня ХС ($2,785 \pm 0,342$ ммоль/л) на 75,37 % по сравнению с жи-

вотными контрольной группы ($1,588 \pm 0,154$ ммоль/л) (табл. 1).

Как известно, уровень пирувата и лактата, конечных продуктов гликолиза, является косвенным показателем эффективности утилизации молекулярного кислорода при внутриклеточном метаболизме.

В эритроцитах животных этой группы было отмечено увеличение концентрации лактата на 42,77 % ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой, в то время как концентрация ПВК снизилась на 15,84 % ($p < 0,05$) (табл. 2).

Увеличение концентрации лактата на фоне снижения ПВК свидетельствует о развитии метаболического ацидоза, что способствует нарушению работы ферментных систем клетки и формированию «метаболических блоков» на уровне ключевых метаболитов.

В эритроцитах крыс этой группы (группа 1) выявлено статистически значимое увеличение на 385,28 % ($p < 0,001$) концентрации 2,3-ДФГ – аллостерического регулятора сродства гемоглобина к кислороду, по сравнению с контрольной группой (табл. 2). Такое значительное увеличение концентрации 2,3-ДФГ на фоне увеличения концентрации лактата, свидетельствуют об усилении отдачи кислорода тканям и формировании тканевой гипоксии. Таким образом, выявленная метаболическая реакция эритроцитов свидетельствует о нарушении кислородного режима при гиперхолестеринемии.

При определении в эритроцитах активности Г6ФДГ-фермента окислительной ветви пентозофосфатного

Таблица 1

Липидограмма животных исследуемых групп

Table 1

Lipid profile of animals in the study groups

Показатели	Группы	Контрольная группа, n = 35	Группа 1 (сравнения), n = 35	Группа 2 (основная), n = 35
ХС, ммоль/л		$1,588 \pm 0,154$	$2,785 \pm 0,342$ $p < 0,001$	$1,637 \pm 0,136$ $p_1 < 0,001$ $p > 0,05$
ХС ЛПВП, ммоль/л		$0,680 \pm 0,031$	$1,059 \pm 0,038$ $p < 0,001$	$0,779 \pm 0,030$ $p_1 < 0,001$ $p < 0,05$
ХС ЛПНП, ммоль/л		$0,576 \pm 0,050$	$1,561 \pm 0,046$ $p < 0,001$	$1,199 \pm 0,032$ $p_1 < 0,001$ $p < 0,001$
ТАГ, ммоль/л		$0,646 \pm 0,036$	$1,182 \pm 0,027$ $p < 0,001$	$0,751 \pm 0,030$ $p_1 < 0,001$ $p > 0,05$

Примечание. p – степень достоверности относительно показателей контрольной группы; p₁ – степень достоверности относительно показателей группы сравнения.

Note. p – the degree of reliability relative to the indicators of the control group; p₁ – the degree of reliability relative to the indicators of the comparison group.

Таблица 2

Концентрация метаболитов гликолиза и активность Г6ФДГ в эритроцитах животных исследуемых групп

Table 2

The concentration of glycolysis metabolites and G6PD activity in the erythrocytes of animals in the study groups

Показатели	Группы	Контрольная группа n = 35	Группа 1 (сравнения) n = 35	Группа 2 (основная) n = 35
пировиноградная кислота, мкмоль/мл плотного осадка		$2,203 \pm 0,734$	$1,854 \pm 0,112$ $p < 0,05$	$1,211 \pm 0,116$ $p_1 < 0,001$
лактат, мкмоль/мл плотного осадка		$4,879 \pm 0,396$	$6,966 \pm 0,898$ $p < 0,001$	$18,243 \pm 0,785$ $p_1 < 0,001$
2,3-дифосфоглицерат, мкмоль/мл плотного осадка		$8,14 \pm 0,900$	$39,502 \pm 5,038$ $p < 0,001$	$46,419 \pm 2,981$ $p_1 < 0,001$
глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, мкмоль/г Hb		$3,026 \pm 0,507$	$3,336 \pm 0,241$ $p > 0,05$	$1,759 \pm 0,178$ $p_1 < 0,001$

Примечание. p – степень достоверности относительно показателей контрольной группы; p₁ – степень достоверности относительно показателей группы сравнения.

Note. p – the degree of reliability relative to the indicators of the control group; p₁ – the degree of reliability relative to the indicators of the comparison group.

пути в группе сравнения была выявлена тенденция к повышению на 10,24 %, относительно контрольной группы ($p < 0,05$) (табл. 2), что указывает на напряжение адаптивных механизмов, направленных на усиление продукции НАДФН⁺, необходимых для защиты эритроцитов от окислительной деструкции.

Параллельно в мышечной ткани животных группы сравнения на фоне гиперхолестеринемии было выявлено резкое увеличение концентрации лактата на 73,23 % ($p < 0,001$), ПВК на 247,11 % ($p < 0,001$) относительно контрольной группы (табл. 3). Эти данные могут свидетельствовать о нарушении интеграции метаболизма на уровне регуляторных ферментов и блокированию вступления ПВК в энергетические циклы, а постепенное истощение энергетического потенциала клетки, на фоне резкого ацидоза, провоцирует накопление веществ радикальной природы.

В настоящее время имеются доказательства, что состояние системы «ПОЛ – антиоксидантная защита» представляет собой одно из значимых составляющих адаптации организма, подвергающегося воздействию условий внешней среды [14].

В эритроцитах животных с гиперхолестеринемией (группа 1) было выявлено статистически значимое снижение активности СОД на 60,46 % ($p < 0,001$), в то время как активность каталазы значительно повысилась на 143,32 % ($p < 0,001$). Активность ГПО и концентрация GSH снизились на 28,05 % ($p < 0,001$) и 37,80 % ($p < 0,001$) соответственно, а активность ГР достоверно не изменились относительно контрольной группы ($p > 0,05$) (табл. 4).

Выявленные нами разнонаправленные изменения активности ферментов антиоксидантной защиты (АОЗ) могут рассматриваться как чувствительный индикатор

напряжения защитных механизмов эритроцитов, что может привести к их постепенному истощению, активации процессов перекисного гемолиза и несостоятельности процессов кислородного обеспечения органов и тканей при гиперхолестеринемии.

Полученные данные указывают на угрозу перекисного гемолиза в условиях моделирования гиперхолестеринемии. Эти данные согласуются с результатами исследований В.Г. Банзаракшеева, Е.Г. Седуновой (2016 г.). По мнению этих авторов, атерогенная дислипидемия усиливает процессы перекисидации и снижает активность эндогенной антиоксидантной защиты [15].

В мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией (группа 1) были получены иные результаты: выявлена тенденция к повышению активности СОД на 12,10 % ($p > 0,05$), на фоне значительного увеличения активности каталазы на 82,60 % ($p < 0,001$). Обращает внимание выраженное повышение концентрации GSH на 235,36 % ($p < 0,001$), при этом активность ГПО снизились на 49,46 % ($p < 0,001$), а активность ГР статистически значимо повысилась на 108,69 % ($p < 0,001$) относительно контрольной группы (табл. 5).

Резкое повышение активности восстановленного GSH в мышечной ткани животных с гиперхолестеринемией можно рассматривать как важный адаптационный механизм, направленный на сохранение устойчивости к окислительному стрессу, который формируется в условиях резкого снижения ГПО, что приводит к накоплению окисленных дериватов.

Можно отметить, что в условиях гиперхолестеринемии у животных группы сравнения сохраняется исходная активность СОД, на фоне увеличения активности катала-

Концентрация метаболитов гликолиза в мышцах животных исследуемых групп ($M \pm m$)

Таблица 3

Concentration of glycolysis metabolites in the muscles of animals in the study groups ($M \pm m$)

Table 3

Показатели	Группы	Контрольная группа $n = 35$	Группа 1 (сравнения) $n = 35$	Группа 2 (основная) $n = 35$
пировиноградная кислота, мкмоль/мг белка		2,25 \pm 0,024	7,81 \pm 0,570 $p < 0,001$	3,28 \pm 0,269 $p_1 < 0,001$ $p < 0,001$
лактат, мкмоль/мг белка		3,96 \pm 0,447	6,86 \pm 0,657 $p < 0,001$	4,64 \pm 0,491 $p_1 < 0,01$ $p > 0,05$

Примечание. p – степень достоверности относительно показателей контрольной группы; p_1 – степень достоверности относительно показателей группы сравнения.
Note. p – the degree of reliability relative to the indicators of the control group; p_1 – the degree of reliability relative to the indicators of the comparison group.

Активность ферментов антиоксидантной защиты в эритроцитах животных исследуемых групп

Таблица 4

The activity of antioxidant protection enzymes in the erythrocytes of animals in the study groups

Table 4

Показатели	Группы	Контрольная группа $n = 35$	Группа 1 (сравнения) $n = 35$	Группа 2 (основная) $n = 35$
супероксиддисмутаза, усл. ед./г Hb		817,088 \pm 85,239	323,043 \pm 90,856 $p < 0,001$	245,583 \pm 98,229 $p_1 < 0,001$
каталаза, мкмоль/г Hb		2,615 \pm 0,731	6,363 \pm 0,359 $p < 0,001$	3,833 \pm 0,243 $p_1 < 0,001$
восстановленный глутатион, мкмоль/г Hb		17,185 \pm 2,783	10,689 \pm 1,787 $p < 0,001$	9,702 \pm 0,878 $p_1 > 0,05$
глутатионпероксидаза, мкмоль/г Hb		14,856 \pm 2,676	2,507 \pm 0,381 $p < 0,001$	2,685 \pm 0,351 $p_1 > 0,05$
глутатионредуктаза, мкмоль/г Hb		3,92 \pm 0,550	3,988 \pm 0,734 $p > 0,05$	5,863 \pm 0,803 $p_1 < 0,001$

Примечание. p – степень достоверности относительно показателей контрольной группы; p_1 – степень достоверности относительно показателей группы сравнения.
Note. p – the degree of reliability relative to the indicators of the control group; p_1 – the degree of reliability relative to the indicators of the comparison group.

Таблица 5

Активность ферментов антиоксидантной защиты в мышцах животных исследуемых групп

Table 5

The activity of enzymes of antioxidant protection in the muscles of animals in the studied groups

Показатели	Группы	Контрольная группа n = 35	Группа 1 (сравнения), n = 35	Группа 2 (основная), n = 35
супероксиддисмутаза, усл. ед./мг белка		0,446 ± 0,049	0,500 ± 0,046 $p > 0,05$	0,219 ± 0,024 $p_1 < 0,001$ $p < 0,001$
каталаза, мКат/мг белка		1,494 ± 0,211	2,729 ± 0,162 $p < 0,001$	2,786 ± 0,438 $p_1 > 0,05$ $p < 0,001$
восстановленный глутатион, мкмоль/мг белка		28,79 ± 4,187	96,55 ± 7,894 $p < 0,001$	48,44 ± 3,213 $p_1 < 0,001$ $p < 0,001$
глутатионпероксидаза, мкмоль/мг белка		13,04 ± 0,892	6,59 ± 0,554 $p < 0,001$	2,43 ± 0,191 $p_1 < 0,001$ $p < 0,001$
глутатионредуктаза, мкмоль/мг белка		0,023 ± 0,0042	0,048 ± 0,0030 $p < 0,001$	0,030 ± 0,0029 $p_1 < 0,001$ $p > 0,05$

Примечание. p – степень достоверности относительно показателей контрольной группы; p_1 – степень достоверности относительно показателей группы сравнения.

Note. p – the degree of reliability relative to the indicators of the control group; p_1 – the degree of reliability relative to the indicators of the comparison group.

зы и ГР практически в два раза, тогда как активность ГПО снизилась практически вдвое, что указывает на разобщение основных антиоксидантов клетки.

В то же время можно полагать, что такие изменения параметров антиоксидантной системы в мышцах в условиях гиперхолестеринемии носят приспособительный характер, направленный на сохранение антиокислительного потенциала миоцитов.

При этом активация каталазы и накопление восстановленного глутатиона на фоне резкого уменьшения активности ГПО отражает несостоятельность защитных реакций. При сохранении физиологической активности СОД основную нагрузку по устранению потенциально опасных окислителей берёт на себя каталаза и восстановленный глутатион.

Разработки последнего времени свидетельствуют об обладании прооксидантными свойствами значительного числа ксенобиотиков, в том числе лекарственных препаратов [14].

Введение животным с эссенциальной гиперхолестеринемией (основная группа) в течение двух месяцев симвастина способствовало снижению уровня ХС в сыворотке крови на 41,22 % ($1,637 \pm 0,136$, $p_1 < 0,001$) по сравнению животными группы 1, что не отличалось от показателей контрольной группы ($1,588 \pm 0,154$).

В эритроцитах крыс, которым вводили симвастин (основная группа) на фоне эссенциальной гиперхолестеринемии, было выявлено дальнейшее увеличение концентрации лактата на 161,89 % ($p_1 < 0,001$) относительно группы сравнения, а концентрация ПВК снизилась на 34,68 % ($p_1 < 0,001$) (табл. 2). Также в эритроцитах животных основной группы было выявлено статистически значимое увеличение концентрации 2,3-ДФГ – на 17,51 % ($p_1 < 0,001$) относительно группы сравнения (табл. 2). В эритроцитах животных также выявлено достоверное снижение активности Г6ФДГ – на 47,27 % ($p_1 < 0,001$) и увеличение активности ГР относительно группы сравнения, что свидетельствует о формирующемся дефиците восстановленных коферментов, обеспечивающих работу глутатионредуктазы, которая утилизирует НАДФН⁺, восстанавливающей глутатион (табл. 4).

Полученные данные указывают на приспособительные изменения в эритроцитах, направленные на усиление отдачи кислорода тканям, в большей мере, чем в предыдущей группе животных с гиперхолестеринемией.

В мышечной ткани введение в течение двух месяцев симвастина животным с гиперхолестеринемией привело к снижению концентрации ПВК на 58 % ($p_1 < 0,001$) и лактата на 32,36 % ($p_1 < 0,001$) относительно группы 1 (сравнения), что указывает на их интенсивное участие в обменных процессах (табл. 3).

В эритроцитах животных группы 2 выявлено синхронное снижение активности каталазы на 39,76 % ($p_1 < 0,001$) и активности СОД на 23,98 % ($p_1 < 0,001$). Активность ГПО и концентрация GSH достоверно не изменились, а активность ГР увеличилась на 47 % ($p_1 < 0,001$) относительно группы сравнения (табл. 4). Известно, что увеличение активности ГР играет важную роль в развитии адаптивного антиоксидантного ответа, направленного на поддержание уровня GSH [16].

В мышечной ткани крыс основной группы было выявлено снижение активности СОД на 56,2 % ($p_1 < 0,001$), тогда как активность каталазы осталась без изменений относительно показателей животных группы сравнения (группа 1). Обращают на себя внимание значительные изменения активности глутатионзависимых ферментов: дальнейшее резкое снижение активности ГПО на 63,13 % ($p_1 < 0,001$), ГР на 37,5 % ($p_1 < 0,001$) и концентрации GSH на 49,83 % ($p_1 < 0,001$) относительно показателей группы сравнения, что указывает на снижение адаптивного потенциала глутатионовой системы миоцитов (табл. 5). Полученные данные согласуются с результатами В.З. Ланкина и соавторов, согласно которым, некоторые статины обладают прооксидантным действием, что приводит к снижению сократительной активности миокарда в эксперименте при моделировании окислительного стресса путём введения пероксида водорода [17]. GSH, являясь одним из основных компонентов антиоксидантной системы, препятствует развитию перекисного окисления липидов, снижает выход цитохрома C и предотвращает развитие апоптоза при действии факторов, индуцирующих окислительный стресс [16]. Поэтому можно полагать,

что выявленная высокая концентрация GSH в мышцах отражает недостаточное вовлечение GSH в окислительно-восстановительные процессы.

Таким образом, в результате проведенных нами исследований было установлено, что индуцированная гиперхолестеринемия сопровождалась общими метаболическими изменениями в эритроцитах и мышечной ткани, выявлено статистически значимое увеличение концентрации лактата, что свидетельствует о формировании смешанной гипоксии. В то же время обнаружено, что в эритроцитах концентрация ПВК резко снизилась, а в мышцах её концентрация, наоборот, достоверно увеличилась, что свидетельствует о нарушении окислительно-восстановительных процессов, обусловленных метаболическим ацидозом.

Введение животным симвастатина характеризовалось резким увеличением концентрации 2,3-ДФГ и лактата в эритроцитах и значительным снижением активности Г6ФДГ, что свидетельствует об угрозе нарушения структурно-функциональной целостности эритроцитов.

При этом в мышечной ткани концентрация лактата уменьшается по сравнению с группой 1 (сравнения), но остаётся выше исходных величин.

Уменьшение концентрации лактата может способствовать сдвигу рН в миоцитах, модифицировать регуляторное действие O_2^- и снижать дисмутацию супероксидных радикалов. Удлиненный период полужизни супероксидных радикалов позволяет им накапливаться или взаимодействовать с другими молекулами, образуя радикалы в митохондриальной мембране и направляя действие митохондриального генома на восстановление металлов переходной валентности. Нарушение баланса между оксидантами и восстановителями является признаком повреждения.

Нужно отметить, что выявляется взаимосвязь между уровнем 2,3-ДФГ и активностью СОД в мышцах: чем выше уровень 2,3-ДФГ в эритроцитах, тем меньше активность СОД в мышцах, что может быть индикатором угрозы развития окислительного стресса.

Таким образом, особенностью действия статинов в эритроцитах является усиление отдачи кислорода тканям, что в мышцах сопровождалось уменьшением уровня недоокисленных продуктов. В то же время на фоне применения статинов, несмотря на позитивную направленность приспособительных реакций, сохраняются признаки окислительного стресса, что документируется разбалансировкой системы «СОД – каталаза» и снижением активности глутатион-зависимых реакций. По-видимому, наличие выявленных метаболических сдвигов определяет риск побочных эффектов статиновой терапии, клинический эффект которой характеризуется снижением смертности на 30 %.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексанян Л.А., Силина Е.Г. Статины и «бремя» цивилизации: доказанная выгода при атеросклеротических заболеваниях. *РМЖ*. 2011; 19(4): 186-190.
2. Микашинович З.И., Белоусова Е.С. Биохимические изменения в эритроцитах как молекулярный индикатор клеточного повреждения при длительном введении сим-

вастатина. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2016; (2): 122-125.

3. Agouridis AP, Nair DR, Mikhailidis DP. Strategies to overcome statin intolerance. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2015; 11(6): 851-855. doi: 10.1517/17425255.2015.1027685

4. Bruckert E, Ferrières J. Evidence supporting primary prevention of cardiovascular diseases with statins: Gaps between updated clinical results and actual practice. *Arch Cardiovasc Dis*. 2014; 107(3): 188-200. doi:10.1016/j.acvd.2014.01.011

5. Pawelczyk M, Chmielewski H, Kaczorowska B, Przybyła M, Baj Z. The influence of statin therapy on platelet activity markers in hyperlipidemic patients after ischemic stroke. *Arch Med Sci*. 2015; 11(1): 115-121. doi: 10.5114/aoms.2015.49216

6. Pirillo A, Catapano AL. Statin intolerance: diagnosis and remedies. *Curr Cardiol Rep*. 2015; 17(5): 582. doi:10.1007/s11886-015-0582-z

7. Russo MW, Hoofnagle JH, Gu J, Fontana RJ, Barnhart H, Kleiner DE, Chalasani N, Bonkovsky HL. Spectrum of statin hepatotoxicity: experience of the drug-induced liver injury network. *Hepatology*. 2014; 60(2): 679-686. doi: 10.1002/hep.27157

8. Белоусова Е.С., Микашинович З.И., Саркисян О.Г. Гипоксия как патофизиологическая основа изменения метаболических процессов в эритроцитах и гепатоцитах крыс после длительного приема симвастатина (зокора). *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2015; 59(4): 93-96.

9. Камышников В.С. (ред.) *Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике*. М.: МЕДпресс-информ; 2004.

10. Данилова Л.Н. (ред.) *Справочник по лабораторным исследованиям*. СПб.: Питер; 2003.

11. Луганова И.С., Блинов М.Н. Определение 2,3-дифосфолицерата неэнзиматическим методом и АТФ в эритроцитах больных хроническим лимфолейкозом. *Лабораторное дело*. 1975; (7): 652-654.

12. Гуревич В.С., Конторщикова К.Н., Шатилина Л.В. Сравнительный анализ двух методов определения активности супероксиддисмутазы. *Лаб. дело*. 1990; (4): 44-47.

13. Микашинович З.И., Летуновский А.В., Волжин О.О., Белоусова Е.С. *Биохимические исследования слюны в клинической практике*. Ростов-на-Дону: Изд-во РостГМУ. 2004.

14. Овсянникова О.А. Состояние перекисного окисления липидов в костном мозге, плазме крови и эритроцитах крыс на этапах онтогенеза в норме, после воздействия серосодержащего газа и с использованием протектора. *Успехи современной науки*. 2016; 10(11): 16-21.

15. Банзаракшеев В.Г. Патофизиологическое обоснование результатов моделирования атерогенной дислипидемии у крыс. *Acta Biomedica Scientifica*. 2016; 1(3): 33-36.

16. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Алеид Р., Новичкова М.Д., Саприн А.Н., Березов Т.Т. Современные представления об антиоксидантной роли глутатиона и глутатионзависимых ферментов. *Вестник Российской АМН*. 2010; (3): 46-54.

17. Ланкин В.З., Иванова М.В., Коновалова Г.Г., Тихадзе А.К., Каминный А.И., Кухарчук В.В. Влияние ингибитора β -гидрокси- β -метилглутарил-коэнзим-А-редуктазы и витаминов-антиоксидантов на свободнорадикальное

окисление липидов печени крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2007; 143(4): 390-393.

REFERENCES

1. Aleksanjan LA, Silina EG. Statins and the "burden" of civilization: proven benefit in atherosclerotic disease. *Russkij medicinskij zhurnal*. 2011; 19(4): 186-190. (In Russ.)
2. Mikashinovich ZI, Belousova ES. Biochemical changes in erythrocytes as a molecular indicator of cellular damage during long-term administration of simvastatin. *Kletochnye tehnologii v biologii i medicine*. 2016; (2): 122-125. (In Russ.)
3. Agouridis AP, Nair DR, Mikhailidis DP. Strategies to overcome statin intolerance. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2015; 11(6): 851-855. doi: 10.1517/17425255.2015.1027685
4. Bruckert E, Ferrières J. Evidence supporting primary prevention of cardiovascular diseases with statins: Gaps between updated clinical results and actual practice. *Arch Cardiovasc Dis*. 2014; 107(3): 188-200. doi:10.1016/j.acvd.2014.01.011
5. Pawelczyk M, Chmielewski H, Kaczorowska B, Przybyła M, Baj Z. The influence of statin therapy on platelet activity markers in hyperlipidemic patients after ischemic stroke. *Arch Med Sci*. 2015; 11(1): 115-121. doi:10.5114/aoms.2015.49216
6. Pirillo A, Catapano AL. Statin intolerance: diagnosis and remedies. *Curr Cardiol Rep*. 2015; 17(5): 582. doi:10.1007/s11886-015-0582-z
7. Russo MW, Hoofnagle JH, Gu J, Fontana RJ, Barnhart H, Kleiner DE, Chalasani N, Bonkovsky HL. Spectrum of statin hepatotoxicity: experience of the drug-induced liver injury network. *Hepatology*. 2014; 60(2): 679-686. doi: 10.1002/hep.27157
8. Belousova ES, Mikashinovich ZI, Sarkisjan OG. Hypoxia as functional base of metabolic processes changes in erythrocytes and hepatocytes of rats after prolonged

Simvastatin (Zokor) intake. *Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija*. 2015; 59(4): 93-96. (In Russ.)

9. Kamyshnikov VS. (ed.) *The handbook of clinical and biochemical research and laboratory diagnosis*. M.: MEDpress-inform; 2004. (In Russ.)
10. Danilova LN. (ed.) *Handbook of laboratory research*. Saint-Petersburg: Piter; 2003. (In Russ.)
11. Luganova IS, Blinov MN. Determination of 2,3-diphosphoglycerate by non-enzyme method and ATP in erythrocytes in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Laboratornoe delo*. 1975; (7): 652-654. (In Russ.)
12. Gurevich VS, Kontorshhikova KN, Shatilina LV. Comparative analysis of two methods for determining the activity of superoxide dismutase. *Laboratornoe delo*. 1990; (4): 44-47. (In Russ.)
13. Mikashinovich ZI, Letunovskij AV, Volzhin OO, Belousova ES. *Biochemical studies of saliva in clinical practice*. Rostov-na-Donu: Izdatelstvo RostGMU. 2004. (In Russ.)
14. Ovsjannikova OA. State of lipid peroxidation in the bone marrow, blood plasma and erythrocytes of rats on the stages of ontogeny in norm, after exposure to sour gas and with the use of protector. *Uspehi sovremennoj nauki*. 2016; 10(11): 16-21. (In Russ.)
15. Banzaraksheev VG. Pathophysiological assessment of the antioxidant system in rats organisms in dyslipidemia. *Acta Biomedica Scientifica*. 2016; 1(3): 33-36 (In Russ.)
16. Kalinina EV, Chernov NN, Aleid R, Novichkova MD, Saprin AN, Berezov TT. Current views of antioxidative activity of glutathione and glutathione-dependent enzymes. *Vestnik Rossijskoj Akademii Nauk*. 2010; (3): 46-54. (In Russ.)
17. Lankin VZ, Ivanova MV, Konovalova GG, Tihadze AK, Kaminnyj AI, Kuharchuk VV. Effect of β -hydroxy- β -methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors and antioxidant vitamins on free radical lipid oxidation in rat liver. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2007; 143(4): 390-393. (In Russ.)

Сведения об авторах

Микашинович Зоя Ивановна – доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой общей и клинической биохимии № 1 ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, e-mail: kbunpk-rostov@yandex.ru

Виноградова Елена Викторовна – старший преподаватель кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, e-mail: mod8792@mail.ru

Белуосова Елена Сергеевна – кандидат биологических наук, заведующая кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, e-mail: belousovalena@mail.ru

Information about the authors

Zoia I. Mikashinovich – Dr. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Department of General and clinical biochemistry N 1 at Rostov State Medical University, e-mail: kbunpk-rostov@yandex.ru

Elena V. Vinogradova – Senior Lecturer of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy at Rostov State Medical University, e-mail: mod8792@mail.ru

Elena S. Belousova – Cand. Sc. (Biol.), Head of the Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy at Rostov State Medical University, e-mail: belousovalena@mail.ru

Статья получена: 17.01.2019. Статья принята: 21.05.2019. Статья опубликована: 26.06.2019.
Received: 17.01.2019. Accepted: 21.05.2019. Published: 26.06.2019.

Экспериментальное моделирование разлитого гнойного перитонита

Чепурных Е.Е.^{1,2}, Шурыгина И.А.¹, Фадеева Т.В.¹, Григорьев Е.Г.^{1,2}

¹ ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов революции, 1, Россия); ² ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Чепурных Елена Евгеньевна, e-mail: chepurnikh.ee@yandex.ru

Резюме

Летальность при послеоперационном гнойном перитоните до сих пор остаётся высокой, что требует разработки новых методов лечения перитонита.

Цель исследования: разработать способ моделирования послеоперационного разлитого перитонита для изучения патофизиологических механизмов его развития и разработки патогенетически обоснованной терапии.

Материалы и методы. Исследование выполнено с использованием 18 крыс самцов породы «Wistar» в возрасте 6 месяцев, массой тела 250–300 грамм. Животным выполняли лапаротомию, моделирование послеоперационного разлитого перитонита по предложенной нами методике. В качестве инфекта использовали госпитальные штаммы *Escherichia coli* БРЛС 10⁹ и *Bacteroides fragilis* 10⁹ (штамм ISCST1982, зарегистрирован в Genbank), выделенных нами от больных острым аппендицитом, общим объёмом 1,0 мл на животного. Животных выводили из эксперимента на 1-е, 3-и и 7-е сутки после операции. Для морфологического исследования забирали образцы фрагмента брюшной стенки и слепой кишки. Бактериологические исследования проводились на 3-и, 7-е сутки от начала эксперимента.

Результаты. В эксперименте доказано, что у всех животных развивался перитонит с развитием гнойно-деструктивных изменений в брюшной полости. При бактериологическом исследовании инфицированность экссудата на 3-и и 7-е сутки выявлена у всех крыс (в 100 % наблюдений). *E. coli* БРЛС были выделены во всех случаях в концентрациях 10³–10⁴ КОЕ/мл. Штамм *B. fragilis* высеян у 3 животных в концентрации 10³ КОЕ/мл на 3-и сутки эксперимента.

Заключение. Разработанный способ моделирования послеоперационного разлитого перитонита позволяет изучать динамику и механизмы развития гнойного процесса в брюшной полости и по клиническим проявлениям приближен к реальному заболеванию человека.

Ключевые слова: перитонит, моделирование, *B. fragilis*, *E. coli*

Для цитирования: Чепурных Е.Е., Шурыгина И.А., Фадеева Т.В., Григорьев Е.Г. Экспериментальное моделирование разлитого гнойного перитонита. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 117-121. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.15

Experimental Modeling of General Purulent Peritonitis

Chepurnykh E.E.^{1,2}, Shurygina I.A.¹, Fadeeva T.V.¹, Grigoryev E.G.^{1,2}

¹ Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (ul. Bortsov Revolutsii 1, Irkutsk 664003, Russian Federation); ² Irkutsk State Medical University (ul. Krasnogo Vosstaniya 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Elena E. Chepurnykh, e-mail: chepurnikh.ee@yandex.ru

Abstract

General purulent peritonitis takes one of the first places in the structure of purulent complications. Despite the improvement of methods of diagnosis and treatment, mortality in postoperative purulent peritonitis remains quite high.

Aim of the study: develop a reproducible model of postoperative general peritonitis to study the pathophysiological mechanisms of its development and the development of pathogenetically substantiated therapy.

Materials and methods. The study was performed on 18 Wistar male rats aged 6 months, weighing 250–300 grams. Animals underwent laparotomy and modeling of postoperative general peritonitis according to the proposed method. Hospital strains of *Escherichia coli* BRLS 10⁹ and *Bacteroides fragilis* 10⁹ (strain ISCST1982, registered in Genbank), which we isolated from patients with acute appendicitis, with a total volume of 1.0 ml per animal, were used as infectious agents. Animals were taken out of the experiment under anesthesia with compliance with the rules of euthanasia at 1st, 3rd, 7th days after surgery. For morphological studies, samples of a fragment of the abdominal wall and cecum were taken. Bacteriological studies were performed on the 3rd, 7th day from the beginning of the experiment.

Results. It was established that all animals developed peritonitis with the progression of purulent-destructive changes in the abdominal cavity and the development of adhesions, which was confirmed by the data of the morphological method of research. According to the results of bacteriological studies on the 3rd day, exudate infection was detected in all rats (in 100 % of observations). *E. coli* BLS were isolated in all cases at concentrations of 10³–10⁴ CFU/ml. The strain *B. fragilis* is inoculated in 3 animals at a concentration of 10³ CFU/ml, which made 50 %.

By the 7th day, only an aerobic *E. coli* strain of BLS was detected in peritoneal exudate at concentrations of 10³ CFU/ml in the complete absence of growth of *B. fragilis*.

Conclusion. We have developed a model of postoperative general peritonitis, which allows us to study the dynamics of the development of the inflammatory process in the abdominal cavity and, in terms of its clinical manifestations, is close to a real human disease. The reproducibility of the model is 100 %, which is confirmed by microbiological and morphological data.

Key words: peritonitis, modeling, *B. fragilis*, *E. coli*

АКТУАЛЬНОСТЬ

В структуре гнойных осложнений перитонит занимает одно из первых мест и сопровождается высоким процентом летальности – от 10 до 50 %, а в случае «госпитального» перитонита этот показатель достигает 90 % [1, 2].

Немаловажное и возможно первостепенное значение в развитии перитонита имеет бактериальный фактор, и это не вызывает сомнений. При этом вид возбудителя, его вирулентность во многом определяют особенности патогенеза, клиническую картину и исход заболевания [3, 4].

Высокий процент летальности при послеоперационном разлитом гнойном перитоните побуждает авторов к разработке новых способов моделирования гнойного процесса в брюшной полости для изучения механизмов его развития и использованию новых методов лечения для купирования разлитого перитонита. Основным условием при моделировании перитонита является воспроизводимость и однотипность его развития, что существенно влияет на результаты экспериментального исследования. На современном этапе существует большое количество экспериментальных моделей перитонита, и все они имеют свои преимущества и недостатки. Условно известные модели перитонита можно разделить на группы: первая – введение в брюшную полость инородных тел или химических веществ; вторая – бактериальное загрязнение брюшной полости культурами патогенных микроорганизмов или путём вскрытия просвета толстой кишки; третья – сочетание первой и второй методик [5].

Так, модели с перфорацией и вскрытием кишки не позволяют контролировать поступающий в брюшную полость объём кишечного содержимого, что может вызвать стремительное развитие абдоминального сепсиса и гибель животного в первые часы эксперимента. Также возможно ограничение воспалительного процесса из-за формирования абсцесса брюшной полости в зоне повреждения слепой кишки, что препятствует развитию разлитого гнойного перитонита [6]. Ещё одним недостатком данной модели является качественный и количественный состав микроорганизмов, вызывающих развитие перитонита, что не даёт возможности получения сопоставимых результатов по клиническому течению и срокам развития заболевания.

Модели, включающие введение микробной взвеси *E. coli* и *B. fragilis* в брюшную полость [7], приводят к гибели не менее 90 % животных, что обусловлено развитием острого тяжёлого перитонеального сепсиса [8] и не позволяют изучать основные механизмы и динамику развития перитонита.

В связи с этим разработка экспериментальных способов моделирования гнойного перитонита по-прежнему является актуальной.

Цель исследования: разработка воспроизводимой модели послеоперационного разлитого перитонита для изучения патофизиологических механизмов его развития и разработки патогенетически обоснованной терапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено с использованием 18 крыс самцов породы «Wistar» в возрасте 6 месяцев, массой тела 250–300 грамм. Животным выполняли лапарото-

мию, моделирование послеоперационного разлитого перитонита по предложенной нами методике (приоритетная справка № 2019109595/14(018355), приоритет от 01.04.2019 г.) [9], суть которой заключалась в повреждении серозно-мышечной оболочки слепой кишки (разрез до 1,0 см в бессосудистой зоне) без вскрытия просвета кишки с последующим ушиванием слепой кишки и введением госпитальных штаммов микробных культур. В качестве инфекта использовали госпитальные штаммы *Escherichia coli* БРЛС и *Bacteroides fragilis* (штамм ISCST1982, зарегистрирован в Genbank) [10], выделенных нами от больных острым аппендицитом. Микробную взвесь вводили общим объёмом 1,0 мл на животного по 0,5 мл 10^9 микробных тел каждого патогена. Все оперативные вмешательства проводились в асептических условиях под общим обезболиванием. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики. Эксперименты выполнялись в соответствии с нормами гуманного обращения с животными, которые регламентированы «Guidelines of the Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care, international» согласно протоколу, одобренному комитетом по этике ФГБНУ «ИНЦХТ» (протокол заседания № 1 от 29.02.2019 г.).

Животных выводили из эксперимента под наркозом с соблюдением правил эвтаназии на 1-е, 3-и, 7-е сутки после операции.

Для морфологического исследования забирали образцы фрагмента брюшной стенки и слепой кишки. Фиксацию материала проводили в растворе FineFix (Milestone, Италия). После фиксации осуществляли проводку и заливку материала в парафиновые блоки, изготавливали серийные срезы толщиной 3 мкм. Исследование проводили методом световой микроскопии с использованием стандартных окрасок гематоксилин-эозином.

Бактериологические исследования проводились на 3-и, 7-е сутки от начала эксперимента. Экссудат из брюшной полости забирали в транспортную систему фирмы «Копан» «Swab transport system» (Италия). Бактериологический метод включал аэробную и анаэробную технику культивирования, выделение, количественное определение, идентификацию аэробных и анаэробных микроорганизмов и определение их чувствительности к антимикробным препаратам с использованием высокоселективных сред, диагностических экспресс-тестов и полуавтоматического микробиологического анализатора «ATB Expression» («Biomerieux», Франция). Обнаружение БЛРС (бета-лактамаз расширенного спектра) у *E. coli* проводили с помощью фенотипического метода и метода «двойных дисков».

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что у всех экспериментальных животных уже на первые сутки исследования развивались характерные признаки клинического течения заболевания – развитие перитонеальной симптоматики с быстро нарастающей интоксикацией, нарушением кишечной моторики, выраженными микроциркуляторными расстройствами. Животные отказывались от приёма пищи, становились вялыми, адинамичными.

На первые сутки при морфологическом исследовании наблюдали умеренно выраженный гнойный процесс в брюшной полости. Морфологическую оценку проводили по максимальной выраженности степени воспалительного процесса. Наблюдались: геморрагии в стенке кишки, расширение сосудов в сальнике, гнойные наложения на брюшине, развитие спаек в брюшной полости (рис. 1).

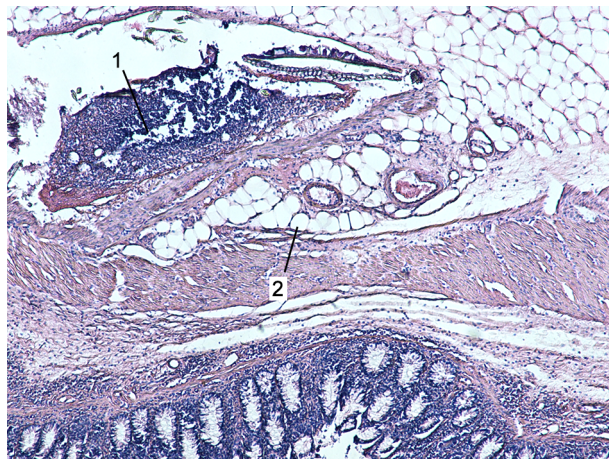


Рис. 1. Первые сутки эксперимента. 1 – гнойные наложения на брюшине, 2 – рыхлые спайки в брюшной полости (окрашивание гематоксилином и эозином, ув. 40х).

Fig. 1. The first day of the experiment. 1 – purulent overlays on the peritoneum, 2 – loose adhesions in the abdominal cavity (staining with hematoxylin and eosin, magnification 40х).

На 3-и сутки эксперимента наблюдали картину разлитого выраженного гнойно-воспалительного процесса в брюшной полости с геморрагическим компонентом – брюшина отёчная, инфильтрована, гиперемизована, в брюшной полости гнойный выпот, который подтверждён бактериологическим исследованием, воспаление в зоне шва кишки, развитие спаек в брюшной полости (рис. 2).

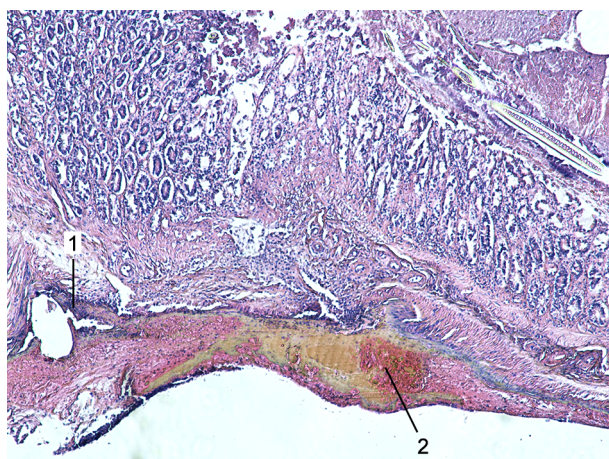


Рис. 2. Третьи сутки эксперимента. 1 – зона кишечного шва, 2 – гнойно-воспалительный процесс в брюшине с геморрагическим компонентом (окрашивание гематоксилином и эозином, ув. 40х).

Fig. 2. The third day of the experiment. 1 – zone of intestinal suture, 2 – purulent-inflammatory process in the peritoneum with a hemorrhagic component (hematoxylin and eosin staining, magnification 40х).

На 7-е сутки эксперимента отмечен выраженный гнойно-воспалительный процесс в брюшной полости с

геморрагическим компонентом. При морфологическом исследовании – признаки разлитого фибринозно-гнойного перитонита с вовлечением глубоких слоёв брюшины и подлежащей жировой и мышечной ткани с формированием абсцессов в брюшной полости (рис. 3). Брюшина отёчная, инфильтрована полиморфоядерными лейкоцитами. Коллагеновые волокна набухшие, гомогенизированы с участками распада. В подлежащей мышечной и жировой ткани определяются дистрофически-деструктивные изменения, отёк, нарушения кровообращения и признаки острого экссудативного воспаления.

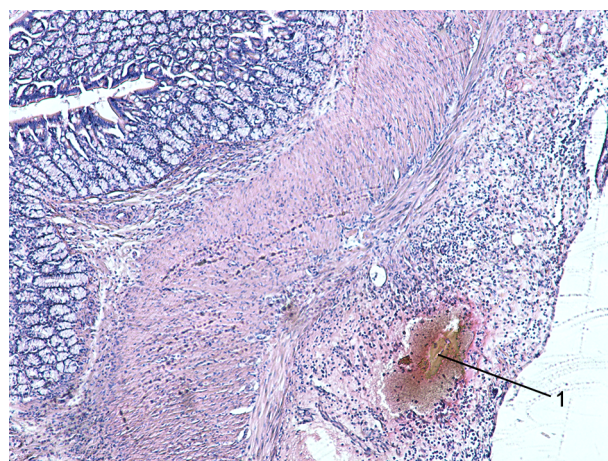


Рис. 3. Седьмые сутки эксперимента. 1 – гнойно-воспалительный процесс в брюшине с геморрагическим компонентом (окрашивание гематоксилином и эозином, ув. 40х).

Fig. 3. The seventh day of the experiment. 1 – purulent-inflammatory process in the peritoneum with a hemorrhagic component (hematoxylin and eosin staining, magnification 40х).

На 7-е сутки наблюдали формирование спаек типа «кишка – кишка», «кишка – сальник», воспаление в зоне наложения шва. При этом кишечные швы были состоятельны. Деструктивных изменений в стенке кишки не отмечено (рис. 4).

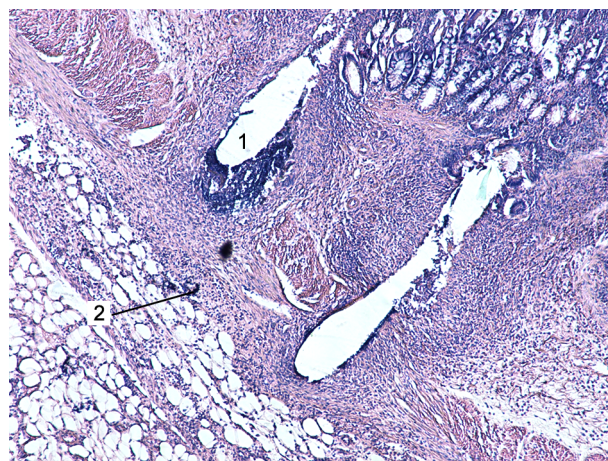


Рис. 4. Седьмые сутки эксперимента. 1 – зона кишечного шва, 2 – спайка типа «кишка – сальник» (окрашивание гематоксилином и эозином, ув. 40х).

Fig. 4. The seventh day of the experiment. 1 – zone of intestinal suture, 2 – adhesion of the "gut - omentum" type (hematoxylin and eosin staining, magnification 40х).

По результатам проведённых нами бактериологических исследований установлено, что на 3-и сутки

Таблица 1

Результаты исследования видового и количественного состава микрофлоры перитонеального экссудата
(3-и, 7-е сутки эксперимента)

Table 1

The results of the study of the specific and quantitative composition of the microflora of peritoneal exudate (the 3rd and 7th days of the experiment)

3-и сутки			7-е сутки		
№	Вид микроорганизмов	КОЕ/мл	№	Вид микроорганизмов	КОЕ/мл
5170	<i>E. coli</i> ESBL	10 ⁶	5176	<i>E. coli</i> ESBL	10 ³
	<i>Bacteroides fragilis</i>	10 ⁴			
	<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁴			
5171	<i>E. coli</i> ESBL	10 ⁵	5177	<i>E. coli</i> ESBL	10 ³
	<i>Bacteroides fragilis</i>	10 ³		<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ³
	<i>Peptostreptococcus</i> spp.	10 ⁴			
5172	<i>E. coli</i> ESBL	10 ⁴	5178	<i>E. coli</i> ESBL	10 ³
	<i>Bacteroides fragilis</i>	10 ³		<i>Lactobacillus</i> spp.	10 ³
	<i>Peptostreptococcus</i> spp.	10 ³			
5173	<i>E. coli</i> ESBL	10 ⁴	5179	<i>E. coli</i> ESBL	10 ³
	<i>Peptostreptococcus</i> spp.	10 ³		<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ³
	<i>Lactobacillus</i> spp.	10 ³			
5174	<i>E. coli</i> ESBL	10 ³	5180	<i>E. coli</i> ESBL	10 ³
	<i>Peptostreptococcus</i> spp.	10 ³		<i>Lactobacillus</i> spp.	10 ³
5175	<i>E. coli</i> ESBL	10 ⁵	5181	<i>E. coli</i> ESBL	10 ³
	<i>Lactobacillus</i> spp.	10 ⁴		<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ³
	<i>Bacteroides fragilis</i>	10 ³			
	<i>Fusobacterium</i> spp.	10 ³			

инфицированность экссудата выявлена у всех крыс (в 100 % наблюдений). *E. coli* БЛРС были выделены во всех случаях в концентрациях 10³–10⁶ КОЕ/мл. Штамм *B. fragilis* высеван у 3 животных в концентрации 10³ КОЕ/мл, что составило 50 %.

К седьмым суткам в перитонеальном экссудате обнаруживался только штамм *E. coli* БЛРС в концентрациях 10³ КОЕ/мл, что на 2–3 порядка ниже (рост в анаэробных условиях), чем в предыдущем исследовании, при полном отсутствии роста *B. fragilis*.

Чистые культуры *E. coli* БЛРС и *B. fragilis*, выделенные из экссудата брюшной полости экспериментальных животных, были идентичны штаммам, использованным при моделировании перитонита. Все выделенные штаммы *E. coli* продуцировали бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС), чем также подтверждена их идентичность.

Помимо тест-штаммов дополнительно нами получен рост микрофлоры, наличие которой свидетельствовало о бактериальной транслокации в условиях гнойного перитонита. Так, на 3-и сутки эксперимента *E. coli* БЛРС представлен во всех образцах экссудата (100 %), *B. fragilis* – в 50 %. В одном случае *E. coli* БЛРС выявлены в ассоциации с *Enterococcus faecalis*, концентрация которого составляла 10⁴ КОЕ/мл (табл. 1), в 2 случаях также выделен *Lactobacillus* spp. (10³–10⁴ КОЕ/мл) и *Fusobacterium* spp. 10³, которые являются представителями нормальной микрофлоры. В 4 образцах экссудата выделен *Peptostreptococcus* spp., концентрация которого составляла 10³–10⁴ КОЕ/мл, что также подтверждает факт бактериальной транслокации в условиях разлитого перитонита.

На 7-е сутки во всех образцах получен рост *E. coli* БЛРС в концентрации 10³ КОЕ/мл в ассоциации с *Enterococcus faecalis* (50 %), концентрация которого в образцах составляла 10³ КОЕ/мл. В 2 образцах выявлен

представитель нормобиоты желудочно-кишечного тракта *Lactobacillus* spp. (10³ КОЕ/мл) (табл. 1).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложенный способ позволяет получить модель послеоперационного разлитого перитонита для изучения динамики развития воспалительного процесса в брюшной полости и по своим клиническим проявлениям приближенную к реальному заболеванию человека. Воспроизводимость модели составляет 100 %, что подтверждено микробиологическими и морфологическими данными. Модель может быть использована в достижении различных целей научных исследований в хроническом эксперименте для изучения патофизиологических механизмов развития послеоперационного разлитого перитонита и разработки патогенетически обоснованной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Томнюк Н.Д., Данилина Е.П., Черных А.Н., Парно А.А., Шурко К.С. Перитонит, как одна из основных причин летальных исходов. *Современные наукоемкие технологии*. 2010; (10): 81–84.
2. Гельфанд Б.Р., Кириенко А.И., Хачатрян Н.Н. (ред.) *Абдоминальная хирургическая инфекция: Российские национальные рекомендации*. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ООО «Медицинское информационное агентство»; 2018.
3. Gauzit R, Péan Y, Barth X, Mistretta F, Lalaude O. Epidemiology, management, and prognosis of secondary nonpostoperative peritonitis: a French prospective observational multicenter study. *Surg Infect*. 2009; 10(2): 119–127.
4. Dever JB, Sheikh MY. Review article: spontaneous bacterial peritonitis – bacteriology, diagnosis, treatment, risk factors and prevention. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015; 41(11): 1116–1131. doi:10.1111/apt.13172

5. Будашеев В.П., Григорьев Е.Г., Цыбиков Е.Н., Лепехова С.А. Моделирование перитонита в условиях эксперимента. *Acta Biomedica Scientifica*. 2007; 6(58): 143-147.

6. Способ моделирования перитонита у крыс: Пат. № 2376648 Рос. Федерация; МПК G09B 23/28 / Новосельцев А.В., Чумаков П.А., Семенюк А.А., Кирсанов В.М. № 2008127554/14; заявл. 07.07.2008; опубл. 20.12.2009, Бюл. № 35.

7. Способ моделирования перитонита: АС № 1631577 СССР, МПК G09B 23/28 / Хорошаев В.А., Исакова Х.И., Касымов А.Х., Ашурметов Р.И., Баженов Л.Г.; № 4648269/14; заявл. 10.20.89; опубл. 28.02.91, Бюл. № 8.

8. Ашурметов Р.И., Сейдинов Ш.М., Жунисов Б.К., Омаралиев М.И., Атажанова В., Манашева А.Р. Моделирование перитонита. *Инновационные технологии в хирургии*. 2010; <https://articlekz.com/article/6304>

9. Чепурных Е.Е., Шурыгина И.А., Фадеева Т.В., Григорьев Е.Г. Способ моделирования перитонита. Заявка на изобретение № 2019109595/14(018355), приоритет от 01.04.2019 г.

10. Shurygina IA, Adelshin RV, Drozdova PB, Fadeeva TV, Shurygin MG. *Bacteroides fragilis* strain ISCST1982, whole genome shotgun sequencing project. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NZ_QUBP00000000.1

REFERENCES

1. Tomnyuk ND, Danilina EP, Chernykh AN, Parno AA, Shurko KS. Peritonitis, as one of the main causes of deaths. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii*. 2010; (10): 81-84. (In Russ.)

2. Gel'fand BR, Kirienko AI, Khachatryan NN. (eds) *Abdominal surgical infection: Russian national recommendations*.

M.: ООО «Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo»; 2018. (In Russ.)

3. Gauzit R, Péan Y, Barth X, Mistretta F, Lalaude O. Epidemiology, management, and prognosis of secondary nonpostoperative peritonitis: a French prospective observational multicenter study. *Surg Infect*. 2009; 10(2): 119-127.

4. Dever JB, Sheikh MY. Review article: spontaneous bacterial peritonitis – bacteriology, diagnosis, treatment, risk factors and prevention. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015; 41(11): 1116-1131. doi: 10.1111/apt.13172

5. Budasheev VP, Grigor'ev EG, Tsybikov EN, Lepekhova SA. Simulation of peritonitis in experimental conditions. *Acta Biomedica Scientifica*. 2007; 6(58): 143-147. (In Russ.)

6. *Peritonitis modelling in rats*: Patent N 2376648 of the Russian Federation; МПК G09B 23/28 / Novosel'tsev AV, Chumakov PA, Semenyuk AA, Kirsanov VM. N 2008127554/14; заявл. 07.07.2008; opubl. 20.12.2009, Byul. N 35. (In Russ.)

7. *Method of modeling peritonitis*: Inventor's Certificate N 1631577 of the USSR, МПК G09B 23/28 / Khoroshaev VA, Isakova Khl, Kasymov AKh, Ashurmetov RI, Bazhenov LG; N 4648269/14; заявл. 10.20.89; opubl. 28.02.91, Byul. N 8. (In Russ.)

8. Ashurmetov RI, Seydinov ShM, Zhunisov BK, Omaraliev MI, Atazhanova V, Manasheva AR. Peritonitis modelling. *Innovatsionnye tekhnologii v khirurgii*. 2010; <https://articlekz.com/article/6304>

9. Chepurnykh EE, Shurygina IA, Fadeeva TV, Grigor'ev EG. Method of modeling peritonitis: Application for a discovery N 2019109595/14(018355), priority from 01.04.2019. (In Russ.)

10. Shurygina IA, Adelshin RV, Drozdova PB, Fadeeva TV, Shurygin MG. *Bacteroides fragilis* strain ISCST1982, whole genome shotgun sequencing project. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NZ_QUBP00000000.1

Сведения об авторах

Чепурных Елена Евгеньевна – кандидат медицинских наук, учёный секретарь ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: chepurnikh.ee@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3197-4276>

Фадеева Татьяна Владимировна – доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных технологий и регенеративной медицины, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: iscst@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4681-905X>

Шурыгина Ирина Александровна – доктор медицинских наук, профессор РАН, заместитель директора по научной работе, заведующая лабораторией клеточных технологий и регенеративной медицины, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: shurygina@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3980-050X>

Григорьев Евгений Георгиевич – член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: egg@iokb.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5082-7028>

Information about the authors

Elena E. Chepurnykh – Cand. Sc. (Med.), Scientific Secretary, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: chepurnikh.ee@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3197-4276>

Tatiana V. Fadeeva – Dr. Sc. (Biol.), Docent, Leading Research Officer at the Laboratory of Cellular Technologies and Regeneration Medicine, Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, e-mail: iscst@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4681-905X>

Irina A. Shurygina – Dr. Sc. (Med.), Professor RAS, Deputy Director for Science, Head of the Laboratory of Cellular Technologies and Regeneration Medicine, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: shurygina@rambler.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3980-050X>

Evgeniy G. Grigoryev – Corr. Member of RAS, Dr. Sc. (Med.), Professor, Scientific Advisor, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: egg@iokb.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5082-7028>

Статья получена: 13.05.2019. Статья принята: 05.06.2019. Статья опубликована: 26.06.2019.
Received: 13.05.2019. Accepted: 05.06.2019. Published: 26.06.2019.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ EPIDEMIOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.3.16

Анализ многолетней динамики заболеваемости инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи в Иркутской области

Носкова О.А.¹, Поталицина Н.Е.², Савилов Е.Д.^{3,4}

¹ ГБУЗ «Иркутская государственная областная детская клиническая больница» (664022, г. Иркутск, б. Гагарина, 4, Россия); ² Управление Роспотребнадзора по Иркутской области (664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 8, Россия); ³ ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия); ⁴ Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664079, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Носкова Ольга Александровна, e-mail: noskovaepid@yandex.ru

Резюме

Одним из ключевых направлений, определяющих качество и безопасность медицинской деятельности, является обеспечение эпидемиологической безопасности в медицинских организациях. Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, увеличивают продолжительность пребывания пациентов в стационаре, снижают эффективность лечения и качество жизни, негативно сказываются на сроках восстановления трудоспособности и увеличивают стоимость лечения.

Целью исследования является изучение региональных особенностей заболеваемости инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи.

Материалы и методы. Проведён ретроспективный эпидемиологический анализ внутрибольничной заболеваемости в лечебно-профилактических организациях Иркутской области различного профиля за период 2006–2017 гг. Использовались данные, представленные в государственных докладах «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации», «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Иркутской области».

Результаты и обсуждение. По результатам проведённых исследований показано, что средний многолетний показатель заболеваемости инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи, в Иркутской области составил $41,94 \pm 2,04 \text{ }^{\circ}/_{00000}$ (РФ – 17,49) с тенденцией к стабилизации в последние годы. Наибольшее эпидемиологическое значение имеют лечебно-профилактические организации хирургического профиля (более 51 %). Вместе с тем удельный вес послеоперационных осложнений за изучаемый период снизился в 1,5 раза. Отмечена восходящая линия тренда с положительным темпом прироста заболеваемости внутрибольничными пневмониями, которые в течение последних двух лет заняли лидирующее положение в структуре инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Заболеваемость новорождённых в Иркутской области занимает третье ранговое место с удельным весом 11,54 %. Причём если до 2013 г. преобладающей нозологической формой были гнойно-септические заболевания новорождённых, то в последние годы первенство прочно заняли пневмонии. За изучаемый период выявлен рост заболеваемости послеродовыми эндометритами у родильниц. Показано, что регистрация сепсиса, инфекций мочевыводящих путей в регионе находится на низком уровне.

Ключевые слова: эпидемиология, инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, гнойно-септические инфекции, внутрибольничные пневмонии, Иркутская область

Для цитирования: Носкова О.А., Поталицина Н.Е., Савилов Е.Д. Анализ многолетней динамики заболеваемости инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи в Иркутской области. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 122-126. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.16

Analysis of Long-Term Dynamics of Healthcare-Associated Infections in the Irkutsk Region

Noskova O.A.¹, Potaltsyna N.E.², Savilov E.D.^{3,4}

¹ Irkutsk State Regional Children's Clinical Hospital (b. Gagarina 4, Irkutsk 664022, Russian Federation); ² Administration of Rospotrebnadzor in the Irkutsk Region (ul. Karla Marksa 8, Irkutsk 664003, Russian Federation); ³ Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (ul. Timiryazeva 16, Irkutsk 664003, Russian Federation); ⁴ Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

Corresponding author: Olga A. Noskova, e-mail: noskovaepid@yandex.ru

Abstract

Introduction. Healthcare-associated infections incidence is one of the most pressing issues in modern healthcare due to their high abundance as well as economic loss they cause.

The aim is to study regional features of the incidence of healthcare-associated infections.

Methods. We conducted a retrospective epidemiological analysis of nosocomial morbidity in hospitals of the Irkutsk region within 2006-2017 years. We used data, presented in the following state reports: "On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation", "On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Irkutsk region".

Results and discussion. According to the results of the conducted analysis, it was shown that the average long-term prevalence of healthcare-associated infections in the Irkutsk region was $41.94 \pm 2.04\%$ (Russian Federation – 17.49) with a tendency to stabilization in recent years. The therapeutic and prophylactic organizations of the surgical profile have the highest epidemiological significance (over 51 %). At the same time, the share of postoperative complications during the study period decreased by 1.5 times. We have noted a rising trend line with a positive rate of increase in the incidence of nosocomial pneumonia, which in the last two years has taken a leading position in the structure of healthcare-associated infections. The incidence of infections in newborns in the Irkutsk region ranks the third, with a specific weight of 11.54 %. Moreover, if before 2013 purulent-septic diseases of the newborns were the predominant nosological form, in recent years pneumonia has firmly taken over the leadership. During the study period we revealed an increase in the incidence of postpartum endometritis in puerperas. It has been shown that the registration of sepsis, urinary tract infections in the region is low.

Key words: epidemiology, infections associated with medical care, purulent septic infections, nosocomial pneumonia, Irkutsk Region

For citation: Noskova O.A., Potalitsyna N.E., Savilov E.D. Analysis of Long-Term Dynamics of Incidence of Healthcare-Associated Infections in the Irkutsk Region. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 122-126. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.16

ВВЕДЕНИЕ

На современном этапе развития здравоохранения обеспечение эпидемиологической безопасности в медицинских организациях является одним из ключевых направлений, определяющих в целом качество и безопасность медицинской деятельности. Эпидемиологическая безопасность характеризуется комплексом условий и факторов, при которых отсутствует недопустимый риск возникновения инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), среди пациентов [1]. В рамках утверждённой в 2011 г. главным государственным санитарным врачом РФ Г.Г. Онищенко национальной концепции профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, определены основные принципы и направления совершенствования системы профилактики ИСМП, механизмы, обеспечивающие её функционирование и социально-экономические перспективы, изменена терминология основных понятий в соответствии с международными требованиями. В настоящее время ИСМП – это случаи инфицирования пациентов, связанные с оказанием любых видов медицинской помощи (независимо от места её оказания), или медицинских работников при выполнении ими профессиональной деятельности [2].

В Российской Федерации ежегодно регистрируется 24–30 тысяч случаев ИСМП (в среднем 0,8 на 1000 пациентов). Однако по данным выборочных исследований специалистов, эти инфекции возникают у 6–8 % пациентов и их истинное число составляет не менее двух миллионов в год, а риск летального исхода возрастает до 5–7 раз [2, 3, 4]. Нозокомиальные инфекции увеличивают продолжительность пребывания пациентов в стационаре, снижают эффективность лечения и качество жизни, негативно сказываются на сроках восстановления трудоспособности и увеличивают стоимость лечения [5, 6, 7]. Заболеваемость ИСМП зависит от многих факторов, в том числе от типа и профиля лечебно-профилактической организации. Так, по данным официальной статистики, наибольший удельный вес этих инфекций в Российской Федерации приходится на учреждения хирургического профиля и родовспомогательные учреждения [8]. Чаще встречаются инфекции в области хирургического вмешательства, пневмонии, в том числе вентилятор-ассоциированные, инфекции мочевыводящих путей.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение особенностей заболеваемости ИСМП в лечебно-профилактических организациях Иркутской области различного профиля.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе применялись описательно-оценочный, аналитический методы эпидемиологического анализа. Ретроспективный анализ проводили по данным, представленным в государственных докладах «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации» за период 2006–2017 гг., «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Иркутской области» за период 2006–2017 гг. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного пакета Microsoft Office Excel. Различия статистических показателей считались значимыми при $p \leq 0,05$. Применяли метод линейного приближения кривой динамического ряда показателей с расчётом коэффициента достоверности аппроксимации (R^2).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В Российской Федерации (РФ) заболеваемость совокупного населения ИСМП имеет устойчивую тенденцию к снижению: с 26 852 случаев в 2006 г. до 22 963 в 2017 г. ($p < 0,01$), среднемноголетний показатель на 100 000 населения составляет 17,49.

В Иркутской области (ИО) за период 2006–2017 гг. зарегистрировано 12 286 случаев ИСМП, средний многолетний показатель заболеваемости составил $41,94 \pm 2,04\%$ и не отмечается тенденции к снижению. Однако, анализируя данные, представленные на рис. 1, можно достаточно условно выделить два периода течения эпидемического процесса: снижение заболеваемости ИСМП с 2006 по 2010 гг. ($p < 0,01$) и её стабилизация с 2011 по 2017 гг. ($p > 0,05$).

Снижение заболеваемости в первом периоде произошло главным образом за счёт уменьшения регистрации инфекций в области хирургического вмешательства, гнойно-септических заболеваний родильниц и новорождённых ($p < 0,05$) (рис. 2). Доля указанных групп инфекций в общей структуре ИСМП составила 65,56 %.

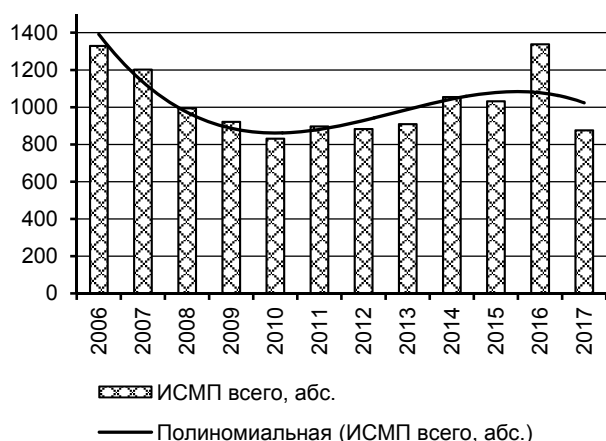


Рис. 1. Динамика заболеваемости ИСМП в Иркутской области, абсолютное число заболеваний.

Fig. 1. The dynamics of the incidence of healthcare-associated infections in the Irkutsk region, the absolute number of diseases.

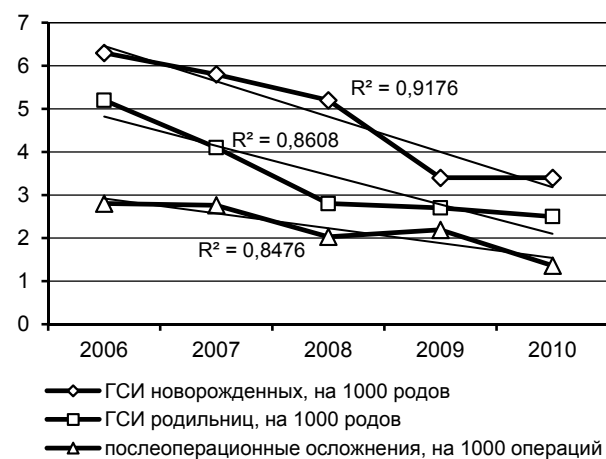


Рис. 2. Динамика заболеваемости родильниц и новорождённых, послеоперационных осложнений (2006–2010 гг.).

Fig. 2. Dynamics of incidence of purulent septic infections in puerperas and newborns, postoperative complications (2006–2010).

Во втором периоде тенденция к снижению указанных нозологических форм не выявлена ($p > 0,05$) и их доля в общей структуре снизилась и составила 57,73 % (рис. 3).

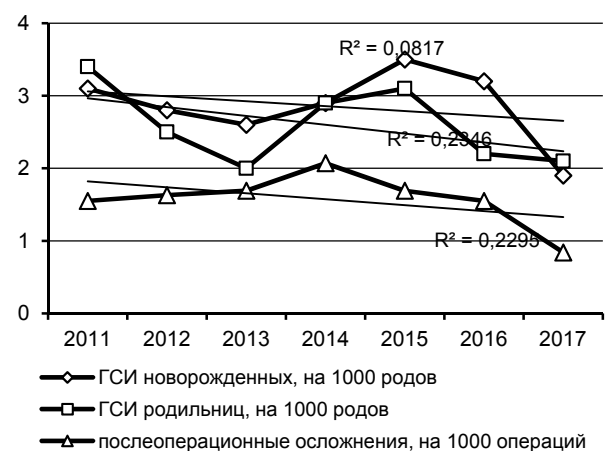


Рис. 3. Динамика заболеваемости послеоперационными осложнениями и ГСИ у родильниц и новорождённых (2011–2017 гг.).

Fig. 3. Dynamics of incidence of purulent septic infections in puerperas and newborns, postoperative complications (2011–2017).

При эпидемиологическом анализе наиболее значимых форм ИСМП за весь период наблюдения обращает на себя внимание существенный рост ($p < 0,05$) заболеваемости пневмониями с 6,54 в 2006 г. до 14,61 ‰ в 2017 г. с минимальным показателем в 2010 г. (3,57) (рис. 4). Такая же динамика, отмечаемая по многим субъектам и в целом по РФ, обусловлена, на наш взгляд, преимущественно улучшением регистрации и введения мониторинга за пневмониями в постпандемический по гриппу период [8].

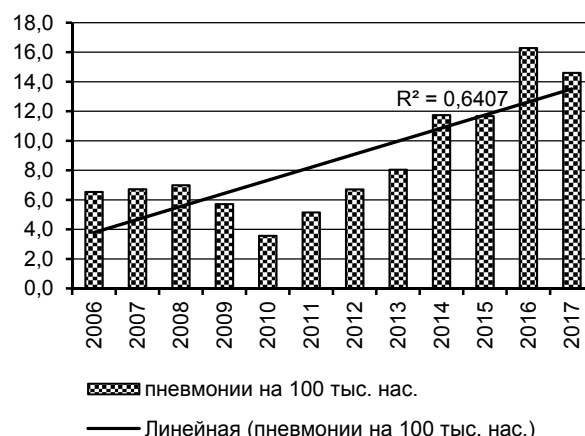


Рис. 4. Динамика заболеваемости внутрибольничными пневмониями.

Fig. 4. Dynamics of nosocomial pneumonia incidence.

Инфекции в области хирургического вмешательства в Иркутской области имеют выраженное значимое снижение ($p < 0,01$). Средний многолетний показатель составил $1,85 \pm 0,16$ на 1000 операций со снижением в 3,3 раза (с 2,8 в 2006 г. до 0,84 в 2017 г.). Подобная тенденция прослеживается и в РФ. Многие авторы объясняют это широким внедрением в хирургическую практику малоинвазивных методов диагностики и лечения, совершенствованием медицинских технологий, применением современных шовных материалов, антисептиков, назначением адекватной периоперационной антибиотикопрофилактики, изменением подходов к предоперационной подготовке зоны хирургического вмешательства (отказ от брития) [9].

Одной из важных характеристик течения эпидемического процесса ИСМП на региональном уровне является уровень инфекционной заболеваемости в родовспомогательных учреждениях. За исследуемый период заболеваемость новорождённых в Иркутской области в структуре ИСМП занимает третье ранговое место, с удельным весом 11,54 %. Средний многолетний показатель ИСМП новорождённых составил $3,84 \pm 0,39$ на 1000 родившихся. Вместе с тем, в период 2006–2010 гг. отмечено существенное снижение заболеваемости ($p < 0,05$), а с 2011 г. намечена её относительная стабилизация ($p > 0,05$). Учитывая направленность представленных исследований, рассмотрим эту группу инфекционной патологии более подробно. Ведущими нозологическими формами среди новорождённых являются пневмонии и гнойно-септические инфекции (ГСИ). Причём если до 2013 г. первую ранговую позицию занимали ГСИ, то в последние годы первенство прочно заняли пневмонии (рис. 5).

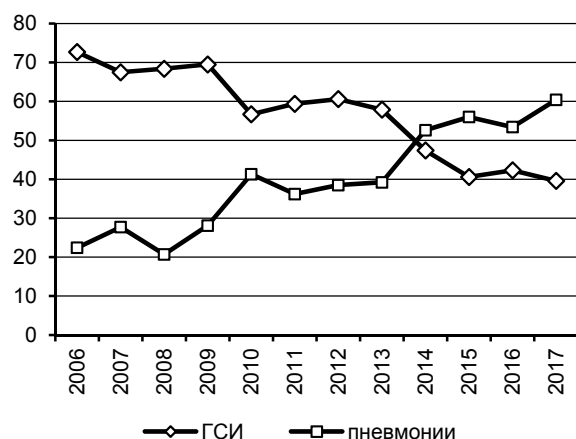


Рис. 5. Динамика заболеваемости ГСИ и пневмониями у новорождённых, на 1000 родившихся.

Fig. 5. Dynamics of incidence of purulent septic infections and pneumonia in newborns, per 1000 births.

При анализе заболеваемости ГСИ новорождённых отмечена нисходящая линия тренда с отрицательным темпом прироста заболеваемости конъюнктивитами, пиодермиями, омфалитами ($p < 0,05$) (рис. 6).

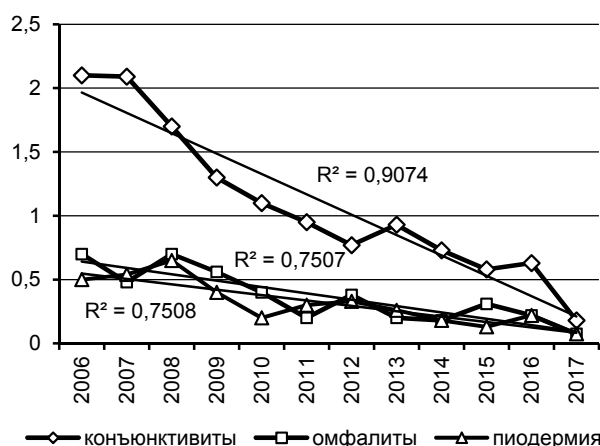


Рис. 6. Динамика заболеваемости ГСИ (нозологические формы) у новорождённых, на 1000 родившихся.

Fig. 6. Dynamics of incidence of purulent septic infections (nosological forms) in newborns, per 1000 births.

Необходимо отметить, что в Иркутской области в предыдущие годы (1995–2000 гг.) у новорождённых в 3,5 раза чаще регистрировались гнойно-септические заболевания ($21,5 \text{ ‰}$), чем у родильниц ($5,4 \text{ ‰}$) [10]. В настоящее же время (2006–2017 гг.) подобной тенденции не отмечено ($3,84$ и $3,04 \text{ ‰}$ соответственно).

Среднегодовная заболеваемость ИСМП родильниц составила $3,04 \pm 0,28$ на 1000 родов. В структуре преобладали послеродовые эндометриты ($1,76 \pm 0,2 \text{ ‰}$), послеоперационные эндометриты ($1,28 \pm 0,08 \text{ ‰}$). Установлено, что заболеваемость послеоперационными эндометритами на протяжении всего изучаемого периода характеризовалась как стабильная, в то время как послеродовые эндометриты имели тенденцию к снижению до 2010 г. с постепенным подъёмом к 2017 г. ($p < 0,05$) (рис. 7).

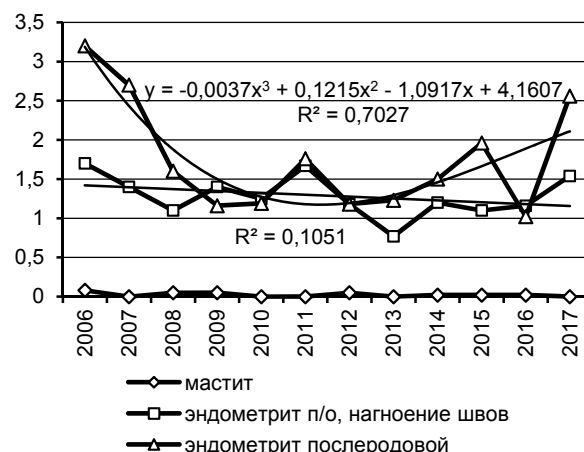


Рис. 7. Динамика заболеваемости ГСИ у родильниц, на 1000 родов.

Fig. 7. Dynamics of incidence of purulent septic infections in puerperas, per 1000 births.

Прочие ИСМП, регистрируемые в лечебно-профилактических организациях Иркутской области, в том числе постинъекционные осложнения, острые кишечные инфекции, сепсис, инфекции мочевыводящих путей, не оказывали существенного влияния на эпидемический процесс. Так, например, за весь изучаемый период зарегистрировано всего 18 случаев инфекций мочевыводящих путей, удельный вес которых составил всего $0,15$. Вместе с тем, в РФ их удельный вес в среднем составляет $2,2 \text{ ‰}$. Аналогичная картина отмечена и для сепсиса, который регистрировался только в 36 случаях, составляя $0,3 \text{ ‰}$ в структуре внутрибольничной заболеваемости.

Однако за исследуемый период в Иркутской области существенно изменилась общая структура ИСМП, и в последние годы на первое место вышли пневмонии, их удельный вес вырос в 3,3 раза с $12,26$ в 2006 г. до $40,18 \text{ ‰}$ в 2017 г. Следует отметить, что эпидемический процесс в Иркутской области отражал динамику в РФ [6].

До последнего времени первое место в структуре ИСМП, как в РФ, так и в Иркутской области, занимали послеоперационные осложнения и лишь в 2016 г. они уступили первенство пневмониям. Удельный вес послеоперационных осложнений снизился в 1,5 раза с $40,78$ в 2006 г. до $28,08 \text{ ‰}$ в 2017 г.

Установлено, что территориями риска ИСМП в Иркутской области являются учреждения хирургического профиля и родовспомогательные учреждения. Наибольший удельный вес внутрибольничной заболеваемости стабильно приходится на учреждения хирургического профиля (в среднем $51,0 \text{ ‰}$), который увеличился с $47,1$ в 2006 г. до $53,7$ в 2016 г., тогда как в РФ удельный вес хирургических стационаров не превышал за исследуемый период $37,2 \text{ ‰}$ и составил в среднем $32,6 \text{ ‰}$. Второе ранговое место по заболеваемости ИСМП, как и в РФ [6], стабильно удерживают родовспомогательные учреждения (24 ‰).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, заболеваемость ИСМП в Иркутской области отражает динамику эпидемического процесса в целом по РФ, но отмечены некоторые особенности структуры данной инфекционной патологии:

1. Средний многолетний уровень заболеваемости ИСМП в Иркутской области составляет $41,94 \pm 2,04$ на

100 000 населения (в РФ – 17,49) и с 2011 г. отмечена отрицательная её стабилизация.

2. Наибольшая заболеваемость ИСМП наблюдается в учреждениях хирургического профиля – 51,0 % (РФ – 32,6).

3. Лидирующее положение в структуре ИСМП в течение последних двух лет стали занимать внутрибольничные пневмонии.

4. В родовспомогательных учреждениях отмечен отрицательный темп прироста заболеваемости конъюнктивитами, пиодермиями, омфалитами у новорождённых и рост заболеваемости послеродовыми эндометритами у родильниц.

5. Отмечено низкое выявление случаев инфекций мочевыводящих путей, сепсиса.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Брико Н.И., Брусина Е.Б., Зуева Л.П., Ефимов Г.Е., Ковалишена О.В., Стасенко В.Л. и др. Эпидемиологическая безопасность – важнейшая составляющая обеспечения качества и безопасности медицинской помощи. *Вестник Росздравнадзора*. 2014; (3): 27-32.

2. Национальная концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. 2011. Режим доступа: <http://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70000121/>

3. Акимкин В.Г. Группы внутрибольничных инфекций и системный подход к их профилактике в многопрофильном стационаре. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2003; (5): 15-19.

4. Покровский В.И., Акимкин В.Г., Брико Н.И., Брусина Е.Б., Зуева Л.П., Ковалишена О.В., и др. Внутрибольничные инфекции: новые горизонты профилактики. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2011; (1): 4-7.

5. Акимкин В.Г. Профилактика внутрибольничных инфекций в ЛПУ Министерства обороны Российской Федерации. *Военно-медицинский журнал*. 2007; (9): 51-56.

6. Шайхразиева Н.Д., Сабеева Ф.Н. Новый взгляд на эпидемиологическую ситуацию в многопрофильном стационаре. *Медицинский альманах*. 2012; 3(22): 120-121.

7. Masud F, Vykoukal D. Preventing healthcare-associated infections in cardiac surgical patients as a hallmark of excellence. *Methodist DeBakey Cardiovasc J*. 2011; 7(2): 48-50.

8. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. *О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия*

населения в Российской Федерации в 2017 году: Государственный доклад. М.; 2018.

9. Брусина Е.Б., Ковалишена О.В., Цигельник А.М. Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи в хирургии: тенденции и перспективы профилактики. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2017; 16(4): 73-80. doi: 10.31631/2073-3046-2017-16-4-73-80

10. Владимиров Н.И., Воробьева Н.А. Эпидемиология внутрибольничных инфекций в родовспомогательных учреждениях г. Иркутска. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2002; 31(2): 64-65.

REFERENCES

1. Brico NI, Brusina EB, Zueva LP, Efimov GE, Kovalishena OV, Stasenko VL, et al. Epidemiological safety is the most important component of ensuring quality and safety of medical care. *Vestnik Roszdravnadzora*. 2014; (3): 27-32. (In Russ.)

2. National concept of prevention of infections associated with the provision of medical care. 2011. Available at: <http://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70000121/>. (In Russ.)

3. Akimkin VG. Groups of nosocomial infections and a systematic approach to their prevention in a multi-field hospital. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2003; (5): 15-19 (In Russ.)

4. Pokrovsky VI, Akimkin VG, Briko NI, Brusina EB, Zueva LP, Kovalishena OV, et al. Hospital infections: new horizons for prevention. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni*. 2011; (1): 4-7. (In Russ.)

5. Akimkin VG. Prevention of nosocomial infections in the medical and preventive treatment facility of the Ministry of Defense of the Russian Federation. *Voенно-meditinskiy zhurnal*. 2007; (9), 51-56. (In Russ.)

6. Shaykhrazieva ND, Sabaeva FN. A new look at the epidemiological situation in a multiprofile hospital. *Meditinskiy al'manakh*. 2012; 3(22): 120-121. (In Russ.)

7. Masud F, Vykoukal D. Preventing healthcare-associated infections in cardiac surgical patients as a hallmark of excellence. *Methodist DeBakey Cardiovasc J*. 2011; 7(2): 48-50.

8. Federal Supervision Agency for Customer Protection and Human Welfare. *On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2017: State report*. M.; 2018. (In Russ.)

9. Brusina EB, Kovalishena OV, Tsigelnik AM. Healthcare-associated infections: trends and prevention perspectives. *Epidemiologiya i Vaksino profilaktika*. 2017; 16(4): 73-80. (In Russ.) doi: 10.31631/2073-3046-2017-16-4-73-80

10. Vladimirov NI, Vorobyeva NA. Epidemiology of nosocomial infections in maternity hospitals of Irkutsk city. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*. 2002; 31(2): 64-65. (In Russ.)

Сведения об авторах

Носкова Ольга Александровна – заместитель главного врача по санитарно-эпидемиологической работе ГБУЗ «Иркутская государственная областная детская клиническая больница», e-mail: noskovaepid@yandex.ru

Поталицына Наталья Евгеньевна – начальник эпидемиологического отдела Управления Роспотребнадзора по Иркутской области, e-mail: Natep1971@mail.ru

Савилов Евгений Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», заведующий кафедрой эпидемиологии и микробиологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: savilov47@gmail.com

Information about the authors

Olga A. Noskova – Deputy Chief Physician for Sanitary and Epidemiological Work, Irkutsk State Regional Children's Clinical Hospital, e-mail: noskovaepid@yandex.ru

Natalya E. Potalitsyna – Head of the Department of Epidemiology, Administration of Rosпотребнадзор in the Irkutsk Region, e-mail: Natep1971@mail.ru

Evgeniy D. Savilov – Doctor of Medical Sciences, Professor, Chief Research Officer, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems Head of the Department of Epidemiology and Microbiology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: savilov47@gmail.com

Персонализированный подход как основа будущей диагностики туберкулёза (обзор литературы)

Хромова П.А.¹, Синьков В.В.¹, Савилов Е.Д.^{1,2}

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

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

Автор, ответственный за переписку: Хромова Полина Андреевна, e-mail: polina.and38@gmail.com

Резюме

Несмотря на внедрение программ, нацеленных на совершенствование системы эпидемиологического надзора за туберкулёзом, глобальное распространение данного заболевания остаётся одной из актуальных проблем практического здравоохранения. Анализ данных, представленных в современной отечественной и зарубежной литературе, позволяет сделать выводы о том, что лечение туберкулёзной инфекции должно иметь персонализированный подход. В первую очередь это обусловлено тем, что взаимодействие патогенных микобактерий с организмом человека представляет собой процесс противостояния микро-организма, «вооружённого» специфическими факторами вирулентности, факторам иммунной защиты макроорганизма. Кроме этого, особое значение в прогнозе исхода заболевания и эффективности лечения, играет определение принадлежности выделенного из клинического материала штамма *Mycobacterium tuberculosis* к известному эпидемически значимому генотипу, например, к генотипу Beijing. Следует также отметить, что эволюционная «эффективность» данного генотипа основана на большом разнообразии мутаций, активно способствующих как выживанию в организме хозяина и преодолению защитных механизмов его иммунной системы, так и формированию новых «стратегий выживания», основанных на агрессивном течении болезни, высокой вирулентности и низкой эффективности применения специфических противотуберкулёзных препаратов. Рост числа новых случаев инфицирования населения данным генотипом в ранее благополучных по туберкулёзной инфекции странах требует к себе пристального внимания. В схемы диагностики данного заболевания необходимо включать не только обнаружение патогена и определение профиля чувствительности инфекционного агента к противотуберкулёжным препаратам, но и исследование особенностей полиморфизма генов иммунной системы человека. Такой подход позволит понять возможное развитие заболевания и вовремя подобрать индивидуальную схему лечения.

Ключевые слова: *M. tuberculosis*, генотип Beijing, гены иммунной системы человека, персонализированное лечение туберкулёза

Для цитирования: Хромова П.А., Синьков В.В., Савилов Е.Д. Персонализированный подход как основа будущей диагностики туберкулёза (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(1), 127-137. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.17

Personalized Approach as a Basis for the Future Diagnosis of Tuberculosis (Literature Review)

Khromova P.A.¹, Sinkov V.V.¹, Savilov E.D.^{1,2}

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

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

Corresponding author: Polina A. Khromova, e-mail: polina.and38@gmail.com

Abstract

The global spread of tuberculosis remains one of actual problems of public health despite of introduction of public health safety programs. Early, rapid and accurate identification of *M. tuberculosis* and determination of drug susceptibility are essential for treatment and management of this disease. Delay in delivering results prolongs potentially inappropriate antituberculosis therapy, contributing to emergence of drug resistance, reducing treatment options and increasing treatment duration and associated costs, resulting in increased mortality and morbidity. Faster, more comprehensive diagnostics will enable earlier use of the most appropriate drug regimen, thus improving patient outcomes and reducing overall healthcare costs. The treatment of infection based on the using of massive antimicrobial therapy with analysis of bacterial strains resistance to first line drugs (FLD) isoniazid (INH), rifampin (RIF), pyrazinamide (PZA), ethambutol (EMB) and streptomycin (SM). However, the public health practitioners pay no attention to functional activity of human immune system genes. The interaction of bacterial genomes and immune system genes plays the major role in infection progress. There is growing evidence that, together with human and environmental factors, *Mycobacterium tuberculosis* complex strain diversity contributes to the variable outcome of infection and disease in human TB. We suppose that the future of diagnosis and treatment of tuberculosis lies in the field of personal medicine with comprehensive analysis of host and pathogen genes.

Key words: *M. tuberculosis*, Beijing genotype, genes of human immune system, personalized treatment of tuberculosis

For citation: Khromova P.A., Sinkov V.V., Savilov E.D. Personalized Approach as a Basis for the Future Diagnosis of Tuberculosis (Literature Review). *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 127-137. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.17

ВВЕДЕНИЕ

Туберкулёз (ТБ) является одной из актуальных проблем мирового здравоохранения и стабильно входит в число десяти ведущих причин смерти на нашей планете. По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) в 2017 г. туберкулёзом заболели 10 миллионов человек, и 1,6 миллиона умерли от этой болезни. Более того, четверть человеческой популяции инфицирована *M. tuberculosis*, что несёт в себе угрозу для дальнейшего повсеместного распространения данной инфекции [1]. К сожалению, Российская Федерация входит в число 22 стран с наибольшим бременем туберкулёза, на которые приходится 80 % от всех случаев заболевания в течение года [2].

Таким образом, туберкулёз все ещё представляет реальную угрозу для здоровья человека (человечества). Однако становится очевидным, что на сегодняшний день традиционные клинические и эпидемиологические подходы для оценки состояния здоровья при этом виде инфекционной патологии нуждаются в расширении сферы своего влияния и, соответственно, в переходе на качественно новый уровень клинической и эпидемиологической диагностики.

В клинической практике необходим углублённый поиск различий в исходах заболевания в зависимости от того, каким генотипом микобактерии туберкулёза (МБТ) был инфицирован больной, и роли полиморфизмов генов иммунной системы человека [3]. При эпидемиологических исследованиях требуется переход от точечного и при этом, как правило, описательного анализа на уровне населённого пункта, района, региона, к более широким эпидемиологическим обобщениям [4,5].

Одной из фундаментальных дисциплин, способных давать ответ на эти вопросы, является молекулярная биология и вышедшая из её недр молекулярная эпидемиология, позволяющие давать краткосрочный и долгосрочный прогноз развития инфекционных болезней на организменном и популяционном уровнях. Термин «молекулярная эпидемиология» был впервые предложен Килборном (E.D. Kilbourne) в 1973 г. в статье «Молекулярная эпидемиология гриппа». В дальнейшем методология и идеология этой дисциплины были обобщены в 1993 г. в изданной в США книге «Молекулярная эпидемиология: принципы и практика» [6]. Одним из наиболее ярких примеров применения методов молекулярной эпидемиологии являются исследования, связанные с историей открытия семейства Beijing («Пекин») в конце прошлого столетия, которые во многом заложили основы нового раздела инфектологии – молекулярной эпидемиологии туберкулёза [7–10].

ЭВОЛЮЦИЯ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

Род *Mycobacterium* насчитывает более 170 видов, большинство из которых живут в окружающей среде и не являются патогенными [11]. По скорости роста на питательных средах они делятся на две группы: быстро- и медленно-растущие [12]. Клиническую значимость играют только медленно-растущие микобактерии, к которым относятся *M. tuberculosis complex* (MTBC), *M. leprae* и *M. ulcerans*, однако т.н. нетуберкулёзные микобактерии (НТМ) всё же способны вызывать заболевание у людей с ослабленной иммунной системой [13].

Возникает вопрос: когда и каким образом общий предок патогенных микобактерий изменил свой образ жизни

и из сапрофита, живущего в почве, стал облигатным паразитом человека? Существует гипотеза, что одним из ключевых моментов в адаптации к внутриклеточной среде стало приобретение им способности выживать и реплицироваться внутри свободноживущих простейших (амёб), основным рационом питания которых являются бактерии окружающей среды [14]. Именно способность к внутриклеточному росту позволила микобактериям размножаться в макрофагах млекопитающих и является важным звеном в патогенезе развития болезни [15]. Завершающим этапом превращения непатогенной микобактерии в облигатного паразита стало развитие способности передавать инфекцию напрямую, от одного хозяина к другому воздушно-капельным путём [16].

Возбудители, непосредственно вызывающие туберкулёз у человека, представлены *M. tuberculosis sensu stricto* и *M. africanum* [17]. Считается, что наиболее вероятным регионом происхождения и распространения *M. tuberculosis complex* в мире является Африка [18]. Именно из этого региона осуществлялось распространение туберкулёза, связанное с волнами миграции по другим континентам, что позволило выдвинуть гипотезу о коэволюции популяции возбудителя и популяции людей [19–21].

РОЛЬ ГЕНОВ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ЧЕЛОВЕКА В ПРОЦЕССЕ РАЗВИТИЯ ТУБЕРКУЛЁЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

Инфицирование человека патогенными микобактериями происходит преимущественно воздушно-капельным путём: бактерии, попадая в лёгкие, оседают на стенках альвеол и захватываются альвеолярными макрофагами. Уничтожение возбудителей макрофагом является универсальным процессом, включающим ряд этапов, начиная от захвата микробной клетки и заканчивая созреванием фагосомы, которая, посредством активных ферментов, разрушает клеточную стенку бактерии. Следует отметить, что МБТ обладает способностью блокировать созревание фагосомы и активно размножаться внутри фагоцита [22].

Взаимодействие бактериальной клетки с макрофагом или другой иммунокомпетентной клеткой (дендритная клетка) начинается с контакта возбудителя с рецептором распознавания. В данном процессе могут принимать участие большое количество рецепторов: С-лектиновые рецепторы (CLR), Толл-подобные рецепторы (TLR), Nod-подобные рецепторы (NLR) и сканенджер рецепторы [23–25].

Одним из наиболее важных классов рецепторов, инициирующих иммунный ответ, являются С-лектиновые рецепторы. Альвеолярные макрофаги экспрессируют маннозный С-лектиновый рецептор (CD206), а дендритные клетки – специфический рецептор межклеточной адгезии дендритных клеток захватывающего неинтегрин (DC-SIGN, CD209) [26], распознающие микобактериальный липоарабиноманан (LAM) и маннозилированный липоарабиноманан (Man-LAM) [27].

Два крупномасштабных исследования, проведённых в Китае на суммарной выборке около 7 тысяч больных и 7 тысяч здоровых лиц, показали, что существует достоверная защитная связь между наличием гуанидинового остатка в позиции -336 гена *CD209* и туберкулёзной инфекцией [28, 29]. Анализ аутопсийного материала умерших от туберкулёза пациентов совместно с материалом

от больных туберкулёзом лёгких показал, что носители генотипа -336A/A *CD209* значимо чаще были инфицированы наиболее эпидемиологически агрессивным генотипом Beijing, однако -336G аллель чаще встречается среди людей, инфицированных данным генотипом и умерших от туберкулёзной инфекции [30]. Таким образом, -336G аллель в человеческих популяциях (Россия, Китай), где доминирующим генотипом МБТ является Beijing, играет защитную роль против инфицирования данным видом возбудителя и, в то же время, ассоциирован с летальными исходами у аналогичных больных.

К С-лектинам также относится лектин, связывающий маннозу (MBL), фактор усиления фагоцитоза, распознающий паттерны маннозы в белковой оболочке бактерий [31, 32]. Высокие концентрации MBL в сыворотке крови были значительно выше у больных туберкулёзом лёгких [33]. Более того, было установлено, что наличие полиморфных локусов в гене *MBL*, достоверно ассоциировано с повышенной чувствительностью к туберкулёзной инфекции у населения Китая и Ирана [34–37]. Однако эти данные не были подтверждены работами из Англии и Индии [38]. В то же время исследование, проведённое в Гане, показало, что действительно полиморфизмы гена *MBL* ассоциированы с чувствительностью к заражению микобактериями, только не *M. tuberculosis*, а *M. africanum* [39]. Такой разброс противоречивых данных из различных стран может быть объяснён как особенностями распространения гена *MBL* в популяции людей, так и особенностями циркулирующего на данной территории генотипа возбудителя.

Изучение взаимосвязи между аллельными вариантами гена *TLR* и инфицированием генотипом Beijing у больных туберкулёзом во Вьетнаме выявило связь между началом развития болезни и наличием цитозина в 597-й позиции данного гена [40]. Анализ генетических вариаций гена *SLC11A1* (*NRAMP1*) выявил достоверную связь между чувствительностью к инфекции и генотипом Beijing у пациентов в Индонезии [41] и Японии [42]. Сравнительное секвенирование транскриптома макрофагов дыхательных путей и тканевых макрофагов показало разные профили экспрессии. Мыши с «выключенным» *CCR2* показали повышенную чувствительность к инфицированию гипервирулентным штаммом HN878 (W-Beijing) [43]. Было установлено, что данный штамм также активирует *TLR2* зависимую продукцию интерлейкина 22, который обеспечивает защиту при хроническом течении инфекции [44, 45]. Рецептор макрофагов с коллагеновой структурой (MARCO) играет важную роль в фагоцитозе патогенных микобактерий. Было установлено, что два гетерозиготных (AG) генотипа гена *MARCO* – rs2278589 и rs6751745 – были ассоциированы с повышенным риском развития туберкулёза лёгких (ОШ 1.4), тяжёлыми поражениями лёгких (ОШ 1.6) и инфицированием штаммами генотипа Beijing [46].

Микобактерии для своей жизнедеятельности требуют секрети большого числа белков, функционирующих как факторы вирулентности и факторы иммуногенности. Транспортировка этих белков в основном осуществляется при помощи секреторной системы VII типа [47]. В частности, секреторная система VII типа ESX-5, включает в себя большую группу *PE_PGRS* и *PPE_MPTR* генов, обеспечивающих целостность и стабильность клеточной оболочки [48–50]. Активность данной системы, возможно,

связана со снижением вирулентности, что является частью стратегии выживания *M. tuberculosis* в организме хозяина. Установлено, что штаммы семейства Beijing несут в своём геноме делецию гена *PPE38*, которая полностью блокирует продукцию двух больших субстратов ESX-5 системы, включающую в себя более 80 белков. Кроме того, анализ мутантных клонов с наличием или отсутствием данной мутации показал её роль в повышении вирулентности патогенных микобактерий [51].

Наиболее вирулентным и эпидемически опасным представителем этих микроорганизмов является генотип Beijing, сформировавшийся на территории Северного Китая более 6000 лет назад с последующим распространением на близлежащие азиатские страны (Япония, Южная Корея, Вьетнам, Тибет), в которых его доля превышает 70 % от числа выявленных случаев. География его распространения очень обширна, и помимо указанных стран он широко распространён на территории Восточной Азии, Центральной Европы и Южной Африки. В большинстве регионов России штаммы генотипа «Пекин» также являются преобладающими и, в зависимости от территории, их выявляемость варьирует от 50 % до 80 % [52, 53]. Изоляты данного генотипа ассоциированы с повышенной лекарственной устойчивостью, обусловленной точечными мутациями в геноме [54]. Известно, что около 80 % этих штаммов устойчивы по крайней мере к одному противотуберкулёзному препарату и около 65 % обладают множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) [53].

Особый интерес вызывает тот факт, что обнаружение данного генотипа в более чем половине всех зарегистрированных случаев туберкулёза в Евразии, наблюдается строго по границе стран бывшего СССР [5]. Изначально было предположено, что генотип Beijing был «ввезён» на территорию стран постсоветского пространства относительно давно с войсками Чингисхана [55] и до момента индустриальной революции находился в относительно «дремлющем» состоянии, либо его занос осуществлялся в относительно короткое время с середины XX века с большим числом мигрантов, переселяющихся с территории эндемичной для него, например, с территории Китая [56].

Повышенный интерес к стремительному распространению в мире этого генотипа связан с тем, что указанный вариант существенно отличается от других его семейств рядом специфических патогенных свойств, что нашло своё выражение в крайне неблагоприятных клинико-эпидемиологических проявлениях заболевания, к которым следует отнести высокий уровень лекарственной устойчивости, диссеминацию и генерализацию туберкулёзного процесса, увеличение регистрации внелёгочных форм заболевания, повышенную способность к репликации в макрофагах человека и многие другие «агрессивные» свойства. Наиболее полно клинико-эпидемиологические проявления генотипа «Пекин» в отечественной литературе изложены в обзорной статье [57].

Особенность штаммов генотипа Beijing в российской популяции характеризуется распространением двух подтипов: MIT16 и MIT17 [58, 59]. Эти подтипы являются основными в Азиатской и Европейской частях страны [53, 59]. В некоторых регионах России также широко распространены кластеры B0 и A0 [60, 61], определённые по протоколу IS6110 RFLP. Значительная доля B0 (или W148 [8]) и A0 была ассоциирована с МЛУ-ТБ, и около половины из

них были выделены от пациентов с впервые выявленным туберкулёзом. Эти данные, а также другие исследования, подтверждающие ассоциированность штаммов B0 и A0 с нозокомиальными вспышками [62] и туберкулёзом, зарегистрированным в пенитенциарной системе [53], свидетельствуют об их высокой трансмиссивности. Эта особенность генотипа «Пекин» требует сравнительных сопоставлений его эпидемиологических проявлений по различным регионам мира. И здесь следует отметить, что при сравнении штаммов генотипа Beijing из российской и бразильской популяции был обнаружен ряд особенностей: способность размножаться и выживать внутри макрофага у штаммов российской популяции была значительно выше, чем у выделенных в Бразилии. Бактериальные хромосомные мутации, ответственные за лекарственную устойчивость к антибиотикам, часто оказывают неблагоприятное влияние на выживаемость микобактерий [63], что было продемонстрировано на бразильских штаммах. Некоторые мутации, ответственные за устойчивость к рифампицину и изониазиду, такие как замена TCG-TTG в гене *rpoB531* и AGC-ACC в гене *katG315*, не оказывали влияния на выживаемость микобактерий и не оказывали эффекта ослабления на бактериальную трансмиссивность в человеческой популяции [64, 65]. Данные мутации были обнаружены в большинстве штаммов B0 и A0. Накопление специфической комбинации мутаций с низкими затратами на выживаемость и/или приобретение компенсаторных мутаций восстанавливает или даже улучшает базовую выживаемость высоко вирулентных бактерий с течением времени, что может приводить к формированию конкурентоспособных клонов *M. tuberculosis* с МЛУ [66]. Штаммы из российской популяции более цитотоксичны и вызывают экспрессию цитокинов в инфицированных макрофагах, что способствует иммуносупрессии: снижению выработки TNF- α и высокому уровню секреции IL-10. Повышенная выработка IL-10 наблюдалась исключительно среди штаммов генотипа Beijing, полученных из российской популяции [66]. Полученные данные позволяют выдвинуть предположение, что возникновение МЛУ-ТБ в некоторых географических регионах мира связано со штаммами, способными накапливать определённые паттерны мутаций, кодирующие резистентность к основным противотуберкулёзным препаратам, что снижает затраты на выживаемость бактерий. Кроме того, сочетание с другими факторами вирулентности, делает эти штаммы более конкурентоспособными [63].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Своевременная и точная идентификация возбудителя туберкулёза, как и определение профиля чувствительности инфекционного агента к противотуберкулёзным препаратам имеют решающее значение для надлежащей терапии. Появление штаммов *M. tuberculosis* с множественной и широкой лекарственной устойчивостью (МЛУ и ШЛУ) обуславливает потребность в быстрой диагностике инфекции с разумным использованием антибиотиков. При традиционном подходе для идентификации и тестирования чувствительности *M. tuberculosis* требуется несколько недель, в то время как молекулярные методы сокращают «диагностическое окно», делая доступной и эффективной антимикробную терапию на значительно более ранних этапах.

Теоретически развитие инфекционного заболевания, вызванного штаммом *M. tuberculosis*, можно представить, как противостояние отдельно взятого клона вирулентной микобактерии, несущей в своём геноме уникальные мутации, обеспечивающие выживание микроорганизма, и генома человека, с его специфическими аллельными вариантами генов иммунной системы. Таким образом, определение принадлежности микобактерии к определённому генетическому семейству, например, к генотипу Beijing, в сочетании с наличием ключевых мутаций в генах антибиотикорезистентности может играть важную роль в оценке эффективности лечения и прогнозе течения болезни. Однако без информации о полиморфных локусах генов иммунной системы человека, принимающих непосредственное участие в патогенезе заболевания, данная информация будет неполной и только комплексное изучение индивидуальных особенностей микроба и человека позволят обрисовать объективную картину развития болезни.

Основываясь на вышесказанном, можно высказать предположение, что будущее эффективной диагностики и лечения туберкулёзной инфекции находится в области персонализированной диагностики, где объекты исследования представлены не в виде абстрактного микроорганизма и абстрактного человека, а в виде профилей мутаций генома конкретного возбудителя с профилем мутаций генома инфицированного человека.

Поскольку одним из наиболее успешных семейств МТВС, с эпидемиологической точки зрения, является генотип Beijing, следует уделить особое внимание особенностям строения его генома для выявления прогностически значимых мутаций с определением их мишеней в геноме человека. Следует также отметить, что эволюционная «эффективность» патогенного генотипа основана на большом разнообразии мутаций, активно способствующих как выживанию в организме хозяина и преодолению защитных механизмов его иммунной системы, так и формированию новых «стратегий выживания», основанных на агрессивном течении болезни, высокой вирулентности и низкой эффективности применения специфических противотуберкулёзных препаратов. Основываясь на эпидемическом распространении генотипа Beijing в мире и росте числа новых случаев в ранее благополучных по туберкулёзной инфекции странах, следует обратить самое пристальное внимание на особенности протекания болезни, связанные с указанным генотипом, изучать строение генов потенциальных мишеней иммунной системы у жителей регионов с наиболее высокой инфицированностью данным генетическим семейством.

В настоящее время активно расширяется спектр изучения возбудителя туберкулёза. Одной из основных задач при разработке экспресс-тестов и систем детекции является обнаружение мутаций, ассоциированных с антибиотикорезистентностью у патогена. Первым среди таких тестов был INNO-LiPA Rif TB (LiPA), который обнаруживает резистентность к рифампицину. Дальнейшие разработки были направлены на определение устойчивости к большому числу противотуберкулёзных препаратов (ПТП): MTBDR, MTBDRplus VER 1.0 и 2.0 нацелены на определение ПТП первой и второй линии, AID TB Resistance – на обнаружение ДНК *M. tuberculosis* и мутаций, связанных с резистентностью к изониазиду и рифампицину [67], Nipro NTM+MDRTB Detection kit II способен определять

МЛУ штаммы комплекса *M. tuberculosis* [68]. Широкое распространение по всему миру на сегодняшний день имеет система Xpert MTB/RIF, главной задачей, которой является выявление туберкулёза и лекарственной устойчивости в материале от больных и/или с подозрением на туберкулёзную инфекцию [69]. В настоящее время разрабатываются новые, более современные системы детекции: GeneXpert Omni и Xpert XDR. Следует отметить, что Xpert XDR предназначен для определения устойчивости к изониазиду, фторхинолонам и аминогликозидам [70].

Отдельно следует рассмотреть информацию о наборе реактивов для обнаружения *M. tuberculosis* – Loopamp MTBC detection kit (TB-LAMP) [71], который можно применять без использования амплификатора и специальных приборов. Помимо этого, на рынке существует большое количество автоматических и полуавтоматических систем детекции мутаций антибиотикорезистентности: Abbott RealTime MTB RIF/INH Resistance [72, 73], FluoroType MTBDR, BD MAX Multi Drug Resistant Tuberculosis, COBAS TaqMan MTB и MTB-RIF/INH [74], значительно расширяющих возможности лабораторной службы.

В последние годы в качестве выявления *M. tuberculosis* и его молекулярных детерминант резистентности были предложены методы полногеномного секвенирования (WGS) [75–79] с использованием автоматизированных платформ [80–82], которые способны быстро определять резистентность к противотуберкулёзным препаратам.

Как видно из представленных данных, в мире существует огромное число инструментов детекции микобактериальной ДНК и устойчивости микобактерий практически ко всем ПТП. Вместе с тем вплоть до настоящего времени очень мало внимания уделяется изучению структуры генов иммунной системы человека, которые играют ключевую роль в патогенезе туберкулёзной инфекции и развития заболевания, что без сомнения является задачей завтрашнего дня.

ЛИТЕРАТУРА

1. Houben RMGJ, Dodd PJ. The global burden of latent tuberculosis infection: A re-estimation using mathematical modelling. *PLoS Med.* 2016; 13(10): e1002152. doi: 10.1371/journal.pmed.1002152
2. Васильева И.А., Белиловский Е.М., Борисов С.Е., Стерликов С.А. Заболеваемость, смертность и распространённость как показатели бремени туберкулёза в регионах ВОЗ, странах мира и в Российской Федерации. Часть 1. Заболеваемость и распространённость туберкулёза. *Туберкулёз и болезни лёгких.* 2017; 95(6): 9–21. doi: 10.21292/2075-1230-2017-95-6-9-21
3. Хромова П.А., Огарков О.Б., Жданова С.Н., Синьков В.В., Моисеева Е.Я., Цыренова Т.А., и др. Выявление высокотрансмиссивных генотипов возбудителя в клиническом материале для прогноза неблагоприятного течения туберкулёза. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2017; 10(62): 622–627. doi: 10.18821/0869-2084-2017-62-10-622-627
4. Жданова С.Н., Огарков О.Б., Винокурова М.К., Алексеева Г.И., Кравченко А.Ф., Савилов Е.Д. Моделирование эпидемического распространения генотипа Beijing *Mycobacterium tuberculosis* в Республике Саха (Якутия). *Туберкулёз и болезни лёгких.* 2017; 7(95): 40–47. doi: 10.21292/2075-1230-2017-95-7-40-47

5. Савилов Е.Д., Синьков В.В., Огарков О.Б. *Эпидемиология туберкулёза на Евро-Азиатском континенте: оценка глобального движения штаммов генотипа «Пекин»*. Иркутск: РИО ГБОУ ДПО ИГМАПО; 2013.
6. Schulte PA, Perera FP. *Molecular Epidemiology: Principles and Practices*. Orlando, FL: Academic Press; 1993.
7. van Soolingen D, Qian L, de Haas PE, Douglas JT, Traore H, Portaels F, et al. Predominance of a single genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in countries of East Asia. *J Clin Microbiol.* 1995; 33(12): 3234–3238.
8. Bifani PJ, Mathema B, Kurepina NE, Kreiswirth BN. Global dissemination of the *Mycobacterium tuberculosis* W-Beijing family strains. *Trends Microbiol* 2002; 10(1): 45–52.
9. Sinkov VV, Savilov ED, Ogarkov OB. Reconstruction of the epidemic history of the Beijing genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in Russia and former Soviet countries using spoligotyping. *Mol Genet Microbiol Virol.* 2011; 26(3): 120–125. doi: 10.3103/S0891416811030050
10. Огарков О.Б., Савилов Е.Д., Синьков В.В. К истории заноса и распространения «Пекинского» генотипа *Mycobacterium tuberculosis* на территории России и постсоветском пространстве. *Туберкулёз и болезни лёгких.* 2011; 5(88): 84–85.
11. Fedrizzi T, Meehan CJ, Grottola A, Giacobazzi E, Fregni Serpini G, Tagliazucchi S, et al. Genomic characterization of nontuberculous mycobacteria. *Sci Rep.* 2017; 7: 45258. doi: 10.1038/srep45258
12. Rogall T, Wolters J, Flohr T, Böttger E.C. Towards a phylogeny and definition of species at the molecular level within the genus *Mycobacterium*. *Int J Syst Bacteriol.* 1990; 40(4): 323–330. doi: 10.1099/00207713-40-4-323
13. Brites D, Gagneux S. Old and new selective pressures on *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Genet Evol.* 2012; 12(4): 678–685. doi: 10.1016/j.meegid.2011.08.010
14. Jang J, Becq J, Gicquel B, Deschavanne P, Neyrolles O. Horizontally acquired genomic islands in the tubercle bacilli. *Trends Microbiol.* 2008; 16(7): 303–308. doi: 10.1016/j.tim.2008.04.005
15. VanderVen BC, Huang L, Rohde KH, Russell DG. The minimal unit of infection: *Mycobacterium tuberculosis* in the macrophage. In: Jacobs Jr W, McShane H, Mizrahi V, Orme I (ed.). *Tuberculosis and the Tubercle Bacillus*. Second Edition. ASM Press, Washington, DC; 2017: 635–652. doi: 10.1128/microbiolspec.TB2-0025-2016
16. Dheda K, Barry CE, Maartens G. Tuberculosis. *Lancet (London, England).* 2016; 387(10024): 1211–1226. doi: 10.1016/S0140-6736(15)00151-8
17. Brites D, Gagneux S. Co-evolution of *Mycobacterium tuberculosis* and *Homo sapiens*. *Immunol Rev.* 2015; 264(1): 6–24. doi: 10.1111/imr.12264
18. Comas I, Coscolla M, Luo T, Borrell S, Holt KE, Kato-Maeda M, et al. Out-of-Africa migration and Neolithic coexpansion of *Mycobacterium tuberculosis* with modern humans. *Nat Genet.* 2013; 45(10): 1176–1182. doi: 10.1038/ng.2744
19. Gagneux S. Host-pathogen coevolution in human tuberculosis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2012; 367(1590): 850–859. doi: 10.1098/rstb.2011.0316
20. Reed MB, Pichler VK, McIntosh F, Mattia A, Fallow A, Masala S, et al. Major *Mycobacterium tuberculosis* lineages associate with patient country of origin. *J Clin Microbiol.* 2009; 47(4): 1119–1128. doi: 10.1128/JCM.02142-08
21. Woolhouse MEJ, Webster JP, Domingo E, Charlesworth B, Levin BR. Biological and biomedical impli-

cations of the co-evolution of pathogens and their hosts. *Nat Genet.* 2002; 32(4): 569-577.

22. Meena LS, Rajni. Survival mechanisms of pathogenic *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *FEBS J.* 2010; 277(11): 2416-2427. doi: 10.1111/j.1742-4658.2010.07666.x

23. Stamm CE, Collins AC, Shiloh MU. Sensing of *Mycobacterium tuberculosis* and consequences to both host and bacillus. *Immunol Rev.* 2015; 264(1): 204-219. doi: 10.1111/imr.12263

24. O'Garra A, Redford PS, McNab FW, Bloom CI, Wilkinson RJ, Berry MPR. The immune response in tuberculosis. *Annu Rev Immunol.* 2013; 31: 475-527. doi: 10.1146/annurev-immunol-032712-095939

25. Azad AK, Sadee W, Schlesinger LS. Innate immune gene polymorphisms in tuberculosis. *Infect Immun.* 2012; 80(10): 3343-3359. doi: 10.1128/IAI.00443-12

26. Kleinnijenhuis J, Oosting M, Joosten LA, Netea MG, Van Crevel R. Innate immune recognition of *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Dev Immunol.* 2011; 2011: 405310. doi: 10.1155/2011/405310

27. Tailleux L, Schwartz O, Herrmann JL, Pivert E, Jackson M, Amara A, et al. DC-SIGN is the major *Mycobacterium tuberculosis* receptor on human dendritic cells. *J Exp Med.* 2003; 197(1): 121-127.

28. Yi L, Zhang K, Mo Y, Zhen G, Zhao J. The association between CD209 gene polymorphisms and pulmonary tuberculosis susceptibility: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015; 8(10): 12437-12445.

29. Chang K, Deng S, Lu W, Wang F, Jia S, Li F, et al. Association between CD209-336A/G and -871A/G polymorphisms and susceptibility of tuberculosis: a meta-analysis. *PLoS One.* 2012; 7(7): e41519. doi: 10.1371/journal.pone.0041519

30. Ogarkov O, Mokrousov I, Sinkov V, Zhdanova S, Antipina S, Savilov E. 'Lethal' combination of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype and human CD209 -336G allele in Russian male population. *Infect Genet Evol.* 2012; 12(4): 732-736. doi: 10.1016/j.meegid.2011.10.005

31. Ghiran I, Barbashov SF, Klickstein LB, Tas SW, Jensenius JC, Nicholson-Weller A. Complement receptor 1/CD35 is a receptor for mannan-binding lectin. *J Exp Med.* 2000; 192(12): 1797-808.

32. Bonar A, Chmiela M, Rudnicka W, Rózsalska B. Mannose-binding lectin enhances the attachment and phagocytosis of mycobacteria in vitro. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2005; 53(5): 437-441.

33. Ahmadi F, Ghadiri A, Nashibi R, Roozbeh F, Alizadeh-Navaei R. Serum mannan-binding lectin in patients with pulmonary tuberculosis: Its lack of a relationship to the disease and response to treatment. *Med J Islam Repub Iran.* 2017; 31: 66. doi: 10.14196/mjiri.31.66

34. Liu C, He T, Rong Y, Du F, Ma D, Wei Y, et al. Association of mannose-binding lectin polymorphisms with tuberculosis susceptibility among Chinese. *Sci Rep.* 2016; 6: 36488. doi: 10.1038/srep36488

35. Chen M, Liang Y, Li W, Wang M, Hu L, Abuaku B.K, et al. Impact of MBL and MASP-2 gene polymorphism and its interaction on susceptibility to tuberculosis. *BMC Infect Dis.* 2015; 15: 151. doi: 10.1186/s12879-015-0879-y

36. Amiri A, Sabooteh T, Shahsavari F, Anbari K, Pourmadi F. Mannose-binding Lectin gene polymorphisms in susceptibility to pulmonary tuberculosis among the Lur population of Lorestan Province of Iran. *Genom Data.* 2017; 12: 146-150. doi: 10.1016/j.gdata.2017.05.005

37. Guo YL, Liu Y, Ban WJ, Sun Q, Shi GL. Association of mannose-binding lectin gene polymorphisms with the development of pulmonary tuberculosis in China. *BMC Infect Dis.* 2017; 17(1): 210. doi: 10.1186/s12879-017-2310-3

38. Chalmers JD, Matsushita M, Kilpatrick DC, Hill AT. No strong relationship between components of the lectin pathway of complement and susceptibility to pulmonary tuberculosis. *Inflammation.* 2015; 38(4): 1731-1737. doi: 10.1007/s10753-015-0150-0

39. Thye T, Niemann S, Walter K, Homolka S, Intemann CD, Chinbuah MA, et al. Variant G57E of mannose binding lectin associated with protection against tuberculosis caused by *Mycobacterium africanum* but not by *M. tuberculosis*. *PLoS One.* 2011; 6(6): e20908. doi: 10.1371/journal.pone.0020908

40. Caws M, Thwaites G, Dunstan S, Hawn TR, Lan NT, Thuong NT, et al. The influence of host and bacterial genotype on the development of disseminated disease with *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathog.* 2008; 4(3): e1000034. doi: 10.1371/journal.ppat.1000034

41. van Crevel R, Parwati I, Sahiratmadja E, Marzuki S, Ottenhoff TH, Netea MG, et al. Infection with *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype strains is associated with polymorphisms in SLC11A1/NRAMP1 in Indonesian patients with tuberculosis. *J Infect Dis.* 2009; 200(11): 1671-1674. doi: 10.1086/648477

42. Takahashi K, Hasegawa Y, Abe T, Yamamoto T, Nakashima K, Imaizumi K, et al. SLC11A1 (formerly NRAMP1) polymorphisms associated with multidrug-resistant tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb).* 2008; 88(1): 52-57. doi: 10.1016/j.tube.2007.08.008

43. Dunlap MD, Howard N, Das S, Scott N, Ahmed M, Prince O, et al. A novel role for C-C motif chemokine receptor 2 during infection with hypervirulent *Mycobacterium tuberculosis*. *Mucosal Immunol.* 2018; 11(6): 1727-1742. doi: 10.1038/s41385-018-0071-y

44. Treerat P, Prince O, Cruz-Lagunas A, Muñoz-Torrico M, Salazar-Lezama MA, Selman M, et al. Novel role for IL-22 in protection during chronic *Mycobacterium tuberculosis* HN878 infection. *Mucosal Immunol.* 2017; 10(4): 1069-1081. doi: 10.1038/mi.2017.15

45. Behrends J, Renaud JC, Ehlers S, Hölscher C. IL-22 is mainly produced by IFN γ -secreting cells but is dispensable for host protection against *Mycobacterium tuberculosis* infection. *PLoS One.* 2013; 8(2): e57379. doi: 10.1371/journal.pone.0057379

46. Thuong NT, Tram TT, Dinh TD, Thai PV, Heemskerk D, Bang ND, et al. MARCO variants are associated with phagocytosis, pulmonary tuberculosis susceptibility and Beijing lineage. *Genes Immun.* 2016; 17(7): 419-425. doi: 10.1038/gene.2016.43

47. Gröschel MI, Sayes F, Simeone R, Majlessi L, Brosch R. ESX secretion systems: mycobacterial evolution to counter host immunity. *Nat Rev Microbiol.* 2016; 14(11): 677-691. doi: 10.1038/nrmicro.2016.131

48. Ates LS, van der Woude AD, Bestebroer J, van Stempvoort G, Musters RJ, Garcia-Vallejo JJ, et al. The ESX-5 system of pathogenic mycobacteria is involved in capsule integrity and virulence through its substrate PPE10. *PLoS Pathog.* 2016; 12(6): e1005696. doi: 10.1371/journal.ppat.1005696

49. Forrellad MA, Klepp LI, Gioffré A, Sabio García J, Morbidoni HR, de la Paz Santangelo M, et al. Virulence factors

of the Mycobacterium tuberculosis complex. *Virulence*. 2013; 4(1): 3-66. doi: 10.4161/viru.22329

50. Choi SY, Kwon KW, Kim H, Choi HH, Shin SJ. Vaccine potential of ESAT-6 protein fused with consensus CD4⁺ T-cell epitopes of PE/PPE proteins against highly pathogenic Mycobacterium tuberculosis strain HN878. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018; 503(4): 2195-2201. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.06.017

51. Ates LS, Dippenaar A, Ummels R, Piersma SR, van der Woude AD, van der Kuij K, et al. Mutations in ppe38 block PE_PGRS secretion and increase virulence of Mycobacterium tuberculosis. *Nat Microbiol*. 2018; 3(2): 181-188. doi: 10.1038/s41564-017-0090-6

52. Mokrousov I, Narvskaya O, Vyazovaya A, Millet J, Otten T, Vishnevsky B, et al. Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype in Russia: in search of informative variable-number tandem-repeat loci. *J Clin Microbiol*. 2008; 46(11): 3576-3584. doi: 10.1128/JCM.00414-08

53. Drobniowski F, Balabanova Y, Nikolayevsky V, Rudy M, Kuznetsov S, Zakharova S, et al. Drug-resistant tuberculosis, clinical virulence, and the dominance of the Beijing strain family in Russia. *JAMA*. 2005; 293(22): 2726-2731. doi: 10.1001/jama.293.22.2726

54. Merker M, Blin C, Mona S, Duforet-Frebourg N, Lecher S, Willery E, et al. Evolutionary history and global spread of the Mycobacterium tuberculosis Beijing lineage. *Nat Genet*. 2015; 47(3): 242-249. doi: 10.1038/ng.3195

55. Mokrousov I, Ly HM, Otten T, Lan NN, Vyshnevskiy B, Hoffner S, et al. Origin and primary dispersal of the Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype: clues from human phylogeography. *Genome Res*. 2005; 15(10): 1357-1364. doi: 10.1101/gr.384060

56. Синьков В.В., Савилов Е.Д., Огарков О.Б. Эпидемиология туберкулёза в России: эпидемиологические и исторические доказательства в пользу сценария распространения «Пекинского» генотипа M. tuberculosis в XX веке. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2010; 6(55): 23-28.

57. Савилов Е.Д., Синьков В.В., Огарков О.Б. Пекинский генотип M. Tuberculosis. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2010; 4: 50-53.

58. Mokrousov I. Genetic geography of Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype: a multifacet mirror of human history? *Infect Genet Evol*. 2008; 8(6): 777-785. doi: 10.1016/j.meegid.2008.07.003

59. Mokrousov I, Narvskaya O, Limeschenko E, Vyazovaya A, Otten T, Vyshnevskiy B. Analysis of the allelic diversity of the mycobacterial interspersed repetitive units in Mycobacterium tuberculosis strains of the Beijing family: practical implications and evolutionary considerations. *J Clin Microbiol*. 2004; 42(6): 2438-2444. doi: 10.1128/JCM.42.6.2438-2444.2004

60. Mokrousov I, Narvskaya O, Vyazovaya A, Otten T, Jiao WW, Gomes LL, et al. Russian "successful" clone B0/W148 of Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype: a multiplex PCR assay for rapid detection and global screening. *J Clin Microbiol*. 2012; 50(11): 3757-3759. doi: 10.1128/JCM.02001-12

61. Bespyatykh J, Smolyakov A, Guliaev A, Shitikov E, Arapidi G, Butenko I, et al. Proteogenomic analysis of Mycobacterium tuberculosis Beijing B0/W148 cluster strains. *J Proteomics*. 2019; 192: 18-26. doi: 10.1016/j.jprot.2018.07.002

62. Narvskaya O, Otten T, Limeschenko E, Sapozhnikova N, Graschenkova O, Steklova L, et al. Nosocomial outbreak

of multidrug-resistant tuberculosis caused by a strain of Mycobacterium tuberculosis W-Beijing family in St. Petersburg, Russia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2002; 21(8): 596-602. doi: 10.1007/s10096-002-0775-4

63. Borrell S, Gagneux S. Infectiousness, reproductive fitness and evolution of drug-resistant Mycobacterium tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2009; 13(12): 1456-1466.

64. Billington OJ, McHugh TD, Gillespie SH. Physiological cost of rifampin resistance induced in vitro in Mycobacterium tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999; 43(8): 1866-1869.

65. Pym AS, Saint-Joanis B, Cole ST. Effect of katG mutations on the virulence of Mycobacterium tuberculosis and the implication for transmission in humans. *Infect Immun*. 2002; 70(9): 4955-4960.

66. Lasunskaja E, Ribeiro SC, Manicheva O, Gomes LL, Suffys PN, Mokrousov I, et al. Emerging multidrug resistant Mycobacterium tuberculosis strains of the Beijing genotype circulating in Russia express a pattern of biological properties associated with enhanced virulence. *Microbes Infect*. 2010; 12(6): 467-475. doi: 10.1016/j.micinf.2010.02.008

67. Ritter C, Lucke K, Sirgel FA, Warren RW, van Helden PD, Böttger EC, et al. Evaluation of the AID TB resistance line probe assay for rapid detection of genetic alterations associated with drug resistance in Mycobacterium tuberculosis strains. *J Clin Microbiol*. 2014; 52(3): 940-946. doi: 10.1128/JCM.02597-13

68. Nathavitharana RR, Hillemann D, Schumacher SG, Schlueter B, Ismail N, Omar SV, et al. Multicenter noninferiority evaluation of hain genotype MTBDRplus version 2 and Nipro NTM+MDRTB line probe assays for detection of rifampin and isoniazid resistance. *J Clin Microbiol*. 2016; 54(6): 1624-1630. doi: 10.1128/JCM.00251-16

69. Helb D, Jones M, Story E, Boehme C, Wallace E, Ho K, et al. Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis and rifampin resistance by use of on-demand, near-patient technology. *J Clin Microbiol*. 2010; 48(1): 229-237. doi: 10.1128/JCM.01463-09

70. García-Basteiro A.L, DiNardo A, Saavedra B, Silva D.R, Palmero D, Gegia M, et al. Point of care diagnostics for tuberculosis. *Pulmonology*. 2018; 24(2): 73-85. doi: 10.1016/j.rppnen.2017.12.002

71. Notomi T, Mori Y, Tomita N, Kanda H. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): principle, features, and future prospects. *J Microbiol*. 2015; 53(1): 1-5. doi: 10.1007/s12275-015-4656-9

72. Kostera J, Leckie G, Tang N, Lampinen J, Szostak M, Abravaya K, et al. Analytical and clinical performance characteristics of the Abbott RealTime MTB RIF/INH Resistance, an assay for the detection of rifampicin and isoniazid resistant Mycobacterium tuberculosis in pulmonary specimens. *Tuberculosis (Edinb)*. 2016; 101: 137-143. doi: 10.1016/j.tube.2016.09.006

73. Scott L, David A, Noble L, Nduna M, Silva PD, Black A, et al. Performance of the Abbott Real Time MTB and MTB RIF/INH Assays in a Setting of High Tuberculosis and HIV co-infection in South Africa. *J Clin Microbiol*. 2017; 55(8): 2491-2501. doi: 10.1128/JCM.00289-17

74. Horita N, Yamamoto M, Sato T, Tsukahara T, Nakamura H, Tashiro K, et al. Sensitivity and specificity of Cobas TaqMan MTB real-time polymerase chain reaction for culture-proven Mycobacterium tuberculosis: meta-analysis of 26999 specimens from 17 Studies. *Sci Rep*. 2015; 5: 18113. doi: 10.1038/srep18113

75. Coll F, McNerney R, Preston MD, Guerra-Assunção JA, Warry A, Hill-Cawthorne G, et al. Rapid determination of anti-tuberculosis drug resistance from whole-genome sequences. *Genome Med.* 2015; 7(1): 51. doi: 10.1186/s13073-015-0164-0
76. Miotto P, Tessema B, Tagliani E, Chindelevitch L, Starks A.M, Emerson C, et al. A standardised method for interpreting the association between mutations and phenotypic drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Eur Respir J.* 2017; 50(6): 1701354. doi: 10.1183/13993003.01354-2017
77. McNerney R, Zignol M, Clark TG. Use of whole genome sequencing in surveillance of drug resistant tuberculosis. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2018; 16(5): 433-442. doi: 10.1080/14787210.2018.1472577
78. Satta G, Atzeni A, McHugh TD. *Mycobacterium tuberculosis* and whole genome sequencing: a practical guide and online tools available for the clinical microbiologist. *Clin Microbiol Infect.* 2017; 23(2): 69-72. doi: 10.1016/j.cmi.2016.09.005
79. Walker TM, Merker M, Kohl TA, Crook DW, Niemann S, Peto TE. Whole genome sequencing for M/XDR tuberculosis surveillance and for resistance testing. *Clin Microbiol Infect.* 2017; 23(3): 161-166. doi: 10.1016/j.cmi.2016.10.014
80. Pankhurst LJ, Del Ojo Elias C, Votintseva AA, Walker TM, Cole K, Davies J, et al. Rapid, comprehensive, and affordable mycobacterial diagnosis with whole-genome sequencing: a prospective study. *Lancet Respir Med.* 2016; (1): 49-58. doi: 10.1016/S2213-2600(15)00466-X
81. Phelan J, O'Sullivan DM, Machado D, Ramos J, Whale AS, O'Grady J, et al. The variability and reproducibility of whole genome sequencing technology for detecting resistance to anti-tuberculous drugs. *Genome Med.* 2016; 8(1): 132. doi: 10.1186/s13073-016-0385-x
82. Papaventsis D, Casali N, Kontsevaya I, Drobniowski F, Cirillo D.M, Nikolayevskiy V. Whole genome sequencing of *Mycobacterium tuberculosis* for detection of drug resistance: a systematic review. *Clin Microbiol Infect.* 2017; 23(2): 61-68. doi: 10.1016/j.cmi.2016.09.008

REFERENCES

1. Houben RMGJ, Dodd PJ. The global burden of latent tuberculosis infection: A re-estimation using mathematical modelling. *PLoS Med.* 2016; 13(10): e1002152. doi: 10.1371/journal.pmed.1002152
2. Vasilyeva IA, Belilovsky EM, Borisov SE, Sterlikov SA. Incidence, mortality and prevalence as indicators of tuberculosis burden in WHO regions, countries of the world and the Russian Federation. Part 1. Tuberculosis incidence and prevalence. *Tuberkulez i bolezni legkikh.* 2017; 95(6): 9-21. doi: 10.21292/2075-1230-2017-95-6-9-21
3. Khromova PA, Ogarkov OB, Zhdanova SN, Sinkov VV, Moiseeva EYa, Tzyrenova TA, et al. The detection of highly-transmissible genotypes of agent in clinical samples for prognosis of unfavorable course of tuberculosis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2017; 10(62): 622-627. doi: 10.18821/0869-2084-2017-62-10-622-627
4. Zhdanova SN, Ogarkov OB, Vinokurova MK, Alekseeva GI, Kravchenko AF, Savilov ED. Simulation of epidemic transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in the Sakha Republic (Yukutia). *Tuberkulez i bolezni legkikh.* 2017; 7(95): 40-47. doi: 10.21292/2075-1230-2017-95-7-40-47
5. Savilov ED, Sinkov VV, Ogarkov OB. *Epidemiology of tuberculosis in the Euro-Asian continent: an assessment of the*

- global movement of the Beijing genotype strains.* Irkutsk: RIO GBOU DPO IGMAPO; 2013. (In Russ.)
6. Schulte PA, Perera FP. *Molecular Epidemiology: Principles and Practices.* Orlando, FL: Academic Press; 1993.
7. van Soolingen D, Qian L, de Haas PE, Douglas JT, Traore H, Portaels F, et al. Predominance of a single genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in countries of East Asia. *J Clin Microbiol.* 1995; 33(12): 3234-3238.
8. Bifani PJ, Mathema B, Kurepina NE, Kreiswirth BN. Global dissemination of the *Mycobacterium tuberculosis* W-Beijing family strains. *Trends Microbiol.* 2002; 10(1): 45-52.
9. Sinkov VV, Savilov ED, Ogarkov OB. Reconstruction of the epidemic history of the Beijing genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in Russia and former Soviet countries using spoligotyping. *Mol Genet Microbiol Virol.* 2011; 26(3): 120-125. doi: 10.3103/S0891416811030050
10. Ogarkov OB, Savilov ED, Sinkov VV. On the history of the introduction and spread of the "Beijing" genotype of *Mycobacterium tuberculosis* in Russia and the post-Soviet space. *Tuberkulez i bolezni legkikh.* 2011; 5(88):84-85. (In Russ.)
11. Fedrizzi T, Meehan CJ, Grottole A, Giacobazzi E, Fregni Serpini G, Tagliazucchi S, et al. Genomic characterization of nontuberculous mycobacteria. *Sci Rep.* 2017; 7:45258. doi: 10.1038/srep45258
12. Rogall T, Wolters J, Flohr T, Böttger E.C. Towards a phylogeny and definition of species at the molecular level within the genus *Mycobacterium.* *Int J Syst Bacteriol.* 1990; 40(4): 323-330. doi: 10.1099/00207713-40-4-323
13. Brites D, Gagneux S. Old and new selective pressures on *Mycobacterium tuberculosis.* *Infect Genet Evol.* 2012; 12(4): 678-685. doi: 10.1016/j.meegid.2011.08.010
14. Jang J, Becq J, Gicquel B, Deschavanne P, Neyrolles O. Horizontally acquired genomic islands in the tubercle bacilli. *Trends Microbiol.* 2008; 16(7): 303-308. doi: 10.1016/j.tim.2008.04.005
15. VanderVen BC, Huang L, Rohde KH, Russell DG. The minimal unit of infection: *Mycobacterium tuberculosis* in the macrophage. In: Jacobs Jr W, McShane H, Mizrahi V, Orme I (ed.). *Tuberculosis and the Tubercle Bacillus.* Second Edition. ASM Press, Washington, DC; 2017: 635-652. doi: 10.1128/microbiolspec.TBTB2-0025-2016
16. Dheda K, Barry CE, Maartens G. Tuberculosis. *Lancet (London, England).* 2016; 387(10024): 1211-1226. doi: 10.1016/S0140-6736(15)00151-8
17. Brites D, Gagneux S. Co-evolution of *Mycobacterium tuberculosis* and *Homo sapiens.* *Immunol Rev.* 2015; 264(1): 6-24. doi: 10.1111/imr.12264
18. Comas I, Coscolla M, Luo T, Borrell S, Holt KE, Kato-Maeda M, et al. Out-of-Africa migration and Neolithic coexpansion of *Mycobacterium tuberculosis* with modern humans. *Nat Genet.* 2013; 45(10): 1176-1182. doi: 10.1038/ng.2744
19. Gagneux S. Host-pathogen coevolution in human tuberculosis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2012; 367(1590): 850-859. doi: 10.1098/rstb.2011.0316
20. Reed MB, Pichler VK, McIntosh F, Mattia A, Fallow A, Masala S, et al. Major *Mycobacterium tuberculosis* lineages associate with patient country of origin. *J Clin Microbiol.* 2009; 47(4): 1119-1128. doi: 10.1128/JCM.02142-08
21. Woolhouse MEJ, Webster JP, Domingo E, Charlesworth B, Levin BR. Biological and biomedical implications of the co-evolution of pathogens and their hosts. *Nat Genet.* 2002; 32(4): 569-577.

22. Meena LS, Rajni. Survival mechanisms of pathogenic *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *FEBS J.* 2010; 277(11): 2416-2427. doi: 10.1111/j.1742-4658.2010.07666.x
23. Stamm CE, Collins AC, Shiloh MU. Sensing of *Mycobacterium tuberculosis* and consequences to both host and bacillus. *Immunol Rev.* 2015; 264(1): 204-219. doi: 10.1111/imr.12263
24. O'Garra A, Redford PS, McNab FW, Bloom CI, Wilkinson RJ, Berry MPR. The immune response in tuberculosis. *Annu Rev Immunol.* 2013; 31: 475-527. doi: 10.1146/annurev-immunol-032712-095939
25. Azad AK, Sadee W, Schlesinger LS. Innate immune gene polymorphisms in tuberculosis. *Infect Immun.* 2012; 80(10): 3343-3359. doi: 10.1128/IAI.00443-12
26. Kleinnijenhuis J, Oosting M, Joosten LA, Netea MG, Van Crevel R. Innate immune recognition of *Mycobacterium tuberculosis*. *Clin Dev Immunol.* 2011; 2011: 405310. doi: 10.1155/2011/405310
27. Tailleux L, Schwartz O, Herrmann JL, Pivert E, Jackson M, Amara A, et al. DC-SIGN is the major *Mycobacterium tuberculosis* receptor on human dendritic cells. *J Exp Med.* 2003; 197(1): 121-127.
28. Yi L, Zhang K, Mo Y, Zhen G, Zhao J. The association between CD209 gene polymorphisms and pulmonary tuberculosis susceptibility: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015; 8(10): 12437-12445.
29. Chang K, Deng S, Lu W, Wang F, Jia S, Li F, et al. Association between CD209 -336A/G and -871A/G polymorphisms and susceptibility of tuberculosis: a meta-analysis. *PLoS One.* 2012; 7(7): e41519. doi: 10.1371/journal.pone.0041519
30. Ogarkov O, Mokrousov I, Sinkov V, Zhdanova S, Antipina S, Savilov E. 'Lethal' combination of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype and human CD209 -336G allele in Russian male population. *Infect Genet Evol.* 2012; 12(4): 732-736. doi: 10.1016/j.meegid.2011.10.005
31. Ghiran I, Barbashov SF, Klickstein LB, Tas SW, Jensenius JC, Nicholson-Weller A. Complement receptor 1/CD35 is a receptor for mannan-binding lectin. *J Exp Med.* 2000; 192(12): 1797-808.
32. Bonar A, Chmiela M, Rudnicka W, Rózska B. Mannose-binding lectin enhances the attachment and phagocytosis of mycobacteria in vitro. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2005; 53(5): 437-441.
33. Ahmadi F, Ghadiri A, Nashibi R, Roozbeh F, Alizadeh-Navaei R. Serum mannan-binding lectin in patients with pulmonary tuberculosis: Its lack of a relationship to the disease and response to treatment. *Med J Islam Repub Iran.* 2017; 31: 66. doi: 10.14196/mjiri.31.66
34. Liu C, He T, Rong Y, Du F, Ma D, Wei Y, et al. Association of mannose-binding lectin polymorphisms with tuberculosis susceptibility among Chinese. *Sci Rep.* 2016; 6: 36488. doi: 10.1038/srep36488
35. Chen M, Liang Y, Li W, Wang M, Hu L, Abuaku B.K, et al. Impact of MBL and MASP-2 gene polymorphism and its interaction on susceptibility to tuberculosis. *BMC Infect Dis.* 2015; 15: 151. doi: 10.1186/s12879-015-0879-y
36. Amiri A, Sabooteh T, Shahsavari F, Anbari K, Pourmadi F. Mannose-binding Lectin gene polymorphisms in susceptibility to pulmonary tuberculosis among the Lur population of Lorestan Province of Iran. *Genom Data.* 2017; 12: 146-150. doi: 10.1016/j.gdata.2017.05.005
37. Guo YL, Liu Y, Ban WJ, Sun Q, Shi GL. Association of mannose-binding lectin gene polymorphisms with the development of pulmonary tuberculosis in China. *BMC Infect Dis.* 2017; 17(1): 210. doi: 10.1186/s12879-017-2310-3
38. Chalmers JD, Matsushita M, Kilpatrick DC, Hill AT. No strong relationship between components of the lectin pathway of complement and susceptibility to pulmonary tuberculosis. *Inflammation.* 2015; 38(4): 1731-1737. doi: 10.1007/s10753-015-0150-0
39. Thye T, Niemann S, Walter K, Homolka S, In-temann CD, Chinbuah MA, et al. Variant G57E of mannose binding lectin associated with protection against tuberculosis caused by *Mycobacterium africanum* but not by *M. tuberculosis*. *PLoS One.* 2011; 6(6): e20908. doi: 10.1371/journal.pone.0020908
40. Caws M, Thwaites G, Dunstan S, Hawn TR, Lan NT, Thuong NT, et al. The influence of host and bacterial genotype on the development of disseminated disease with *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathog.* 2008; 4(3): e1000034. doi: 10.1371/journal.ppat.1000034
41. van Crevel R, Parwati I, Sahiratmadja E, Marzuki S, Ottenhoff TH, Netea MG, et al. Infection with *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype strains is associated with polymorphisms in SLC11A1/NRAMP1 in Indonesian patients with tuberculosis. *J Infect Dis.* 2009; 200(11): 1671-1674. doi: 10.1086/648477
42. Takahashi K, Hasegawa Y, Abe T, Yamamoto T, Nakashima K, Imaizumi K, et al. SLC11A1 (formerly NRAMP1) polymorphisms associated with multidrug-resistant tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb).* 2008; 88(1): 52-57. doi: 10.1016/j.tube.2007.08.008
43. Dunlap MD, Howard N, Das S, Scott N, Ahmed M, Prince O, et al. A novel role for C-C motif chemokine receptor 2 during infection with hypervirulent *Mycobacterium tuberculosis*. *Mucosal Immunol.* 2018; 11(6): 1727-1742. doi: 10.1038/s41385-018-0071-y
44. Treerat P, Prince O, Cruz-Lagunas A, Muñoz-Torrico M, Salazar-Lezama MA, Selman M, et al. Novel role for IL-22 in protection during chronic *Mycobacterium tuberculosis* HN878 infection. *Mucosal Immunol.* 2017; 10(4): 1069-1081. doi: 10.1038/mi.2017.15
45. Behrends J, Renauld JC, Ehlers S, Hölscher C. IL-22 is mainly produced by IFN γ -secreting cells but is dispensable for host protection against *Mycobacterium tuberculosis* infection. *PLoS One.* 2013; 8(2): e57379. doi: 10.1371/journal.pone.0057379
46. Thuong NT, Tram TT, Dinh TD, Thai PV, Heemskerk D, Bang ND, et al. MARCO variants are associated with phagocytosis, pulmonary tuberculosis susceptibility and Beijing lineage. *Genes Immun.* 2016; 17(7): 419-425. doi: 10.1038/gene.2016.43
47. Gröschel MI, Sayes F, Simeone R, Majlessi L, Brosch R. ESX secretion systems: mycobacterial evolution to counter host immunity. *Nat Rev Microbiol.* 2016; 14(11): 677-691. doi: 10.1038/nrmicro.2016.131
48. Ates LS, van der Woude AD, Bestebroer J, van Stempvoort G, Musters RJ, Garcia-Vallejo JJ, et al. The ESX-5 system of pathogenic mycobacteria is involved in capsule integrity and virulence through its substrate PPE10. *PLoS Pathog.* 2016; 12(6): e1005696. doi: 10.1371/journal.ppat.1005696
49. Forrellad MA, Klepp LI, Gioffré A, Sabio García J, Morbidoni HR, de la Paz Santangelo M, et al. Virulence factors of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Virulence.* 2013; 4(1): 3-66. doi: 10.4161/viru.22329

50. Choi SY, Kwon KW, Kim H, Choi HH, Shin SJ. Vaccine potential of ESAT-6 protein fused with consensus CD4⁺T-cell epitopes of PE/PPE proteins against highly pathogenic *Mycobacterium tuberculosis* strain HN878. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018; 503(4): 2195-2201. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.06.017
51. Ates LS, Dippenaar A, Ummels R, Piersma SR, van der Woude AD, van der Kuyk K, et al. Mutations in ppe38 block PE₃GRS secretion and increase virulence of *Mycobacterium tuberculosis*. *Nat Microbiol.* 2018; 3(2): 181-188. doi: 10.1038/s41564-017-0090-6
52. Mokrousov I, Narvskaya O, Vyazovaya A, Millet J, Otten T, Vishnevsky B, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype in Russia: in search of informative variable-number tandem-repeat loci. *J Clin Microbiol.* 2008; 46(11): 3576-3584. doi: 10.1128/JCM.00414-08
53. Drobniowski F, Balabanova Y, Nikolayevsky V, Rudy M, Kuznetsov S, Zakharova S, et al. Drug-resistant tuberculosis, clinical virulence, and the dominance of the Beijing strain family in Russia. *JAMA.* 2005; 293(22): 2726-2731. doi: 10.1001/jama.293.22.2726
54. Merker M, Blin C, Mona S, Duforet-Frebourg N, Lecher S, Willery E, et al. Evolutionary history and global spread of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing lineage. *Nat Genet.* 2015; 47(3): 242-249. doi: 10.1038/ng.3195
55. Mokrousov I, Ly HM, Otten T, Lan NN, Vyshnevskiy B, Hoffner S, et al. Origin and primary dispersal of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype: clues from human phylogeography. *Genome Res.* 2005; 15(10): 1357-1364. doi: 10.1101/gr.384060
56. Sinkov VV, Savilov ED, Ogarkov OB. Epidemiology of tuberculosis in Russia: Epidemiological and historical evidences in favor of the scenario distribution of Beijing genotype *M. tuberculosis* in the XX Century. *Epidemiologia i vakcinoprofilaktika.* 2010; 6(55): 23-28. (In Russ.)
57. Savilov ED, Sinkov VV, Ogarkov OB. The Beijing genotype of *M. tuberculosis*. *Epidemiologia i infektsionnye bolezni.* 2010; 4: 50-53. (In Russ.)
58. Mokrousov I. Genetic geography of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype: a multifacet mirror of human history? *Infect Genet Evol.* 2008; 8(6): 777-785. doi: 10.1016/j.meegid.2008.07.003
59. Mokrousov I, Narvskaya O, Limeschenko E, Vyazovaya A, Otten T, Vyshnevskiy B. Analysis of the allelic diversity of the mycobacterial interspersed repetitive units in *Mycobacterium tuberculosis* strains of the Beijing family: practical implications and evolutionary considerations. *J Clin Microbiol.* 2004; 42(6): 2438-2444. doi: 10.1128/JCM.42.6.2438-2444.2004
60. Mokrousov I, Narvskaya O, Vyazovaya A, Otten T, Jiao WW, Gomes LL, et al. Russian "successful" clone B0/W148 of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype: a multiplex PCR assay for rapid detection and global screening. *J Clin Microbiol.* 2012; 50(11): 3757-3759. doi: 10.1128/JCM.02001-12
61. Bespyatykh J, Smolyakov A, Guliaev A, Shitikov E, Arapidi G, Butenko I, et al. Proteogenomic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing B0/W148 cluster strains. *J Proteomics.* 2019; 192: 18-26. doi: 10.1016/j.jprot.2018.07.002
62. Narvskaya O, Otten T, Limeschenko E, Sapozhnikova N, Graschenkova O, Steklova L, et al. Nosocomial outbreak of multidrug-resistant tuberculosis caused by a strain of *Mycobacterium tuberculosis* W-Beijing family in St. Petersburg, Russia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2002; 21(8): 596-602. doi: 10.1007/s10096-002-0775-4
63. Borrell S, Gagneux S. Infectiousness, reproductive fitness and evolution of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2009; 13(12): 1456-1466.
64. Billington OJ, McHugh TD, Gillespie SH. Physiological cost of rifampin resistance induced in vitro in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999; 43(8): 1866-1869.
65. Pym AS, Saint-Joanis B, Cole ST. Effect of katG mutations on the virulence of *Mycobacterium tuberculosis* and the implication for transmission in humans. *Infect Immun.* 2002; 70(9): 4955-4960.
66. Lasunskaja E, Ribeiro SC, Manicheva O, Gomes LL, Suffys PN, Mokrousov I, et al. Emerging multidrug resistant *Mycobacterium tuberculosis* strains of the Beijing genotype circulating in Russia express a pattern of biological properties associated with enhanced virulence. *Microbes Infect.* 2010; 12(6): 467-475. doi: 10.1016/j.micinf.2010.02.008
67. Ritter C, Lucke K, Sirgel FA, Warren RW, van Helden PD, Böttger EC, et al. Evaluation of the AID TB resistance line probe assay for rapid detection of genetic alterations associated with drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* strains. *J Clin Microbiol.* 2014; 52(3): 940-946. doi: 10.1128/JCM.02597-13
68. Nathavitharana RR, Hillemann D, Schumacher SG, Schlueter B, Ismail N, Omar SV, et al. Multicenter noninferiority evaluation of hain genotype MTBDRplus version 2 and Nipro NTM+MDR TB line probe assays for detection of rifampin and isoniazid resistance. *J Clin Microbiol.* 2016; 54(6): 1624-1630. doi: 10.1128/JCM.00251-16
69. Helb D, Jones M, Story E, Boehme C, Wallace E, Ho K, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampin resistance by use of on-demand, near-patient technology. *J Clin Microbiol.* 2010; 48(1): 229-237. doi: 10.1128/JCM.01463-09
70. García-Basteiro A.L, DiNardo A, Saavedra B, Silva D.R, Palmero D, Gegia M, et al. Point of care diagnostics for tuberculosis. *Pulmonology.* 2018; 24(2): 73-85. doi: 10.1016/j.rppnen.2017.12.002
71. Notomi T, Mori Y, Tomita N, Kanda H. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): principle, features, and future prospects. *J Microbiol.* 2015; 53(1): 1-5. doi: 10.1007/s12275-015-4656-9
72. Kostera J, Leckie G, Tang N, Lampinen J, Szostak M, Abravaya K, et al. Analytical and clinical performance characteristics of the Abbott RealTime MTB RIF/INH Resistance, an assay for the detection of rifampicin and isoniazid resistant *Mycobacterium tuberculosis* in pulmonary specimens. *Tuberculosis (Edinb).* 2016; 101: 137-143. doi: 10.1016/j.tube.2016.09.006
73. Scott L, David A, Noble L, Nduna M, Silva PD, Black A, et al. Performance of the Abbott RealTime MTB and MTB RIF/INH Assays in a Setting of High Tuberculosis and HIV co-infection in South Africa. *J Clin Microbiol.* 2017; 55(8): 2491-2501. doi: 10.1128/JCM.00289-17
74. Horita N, Yamamoto M, Sato T, Tsukahara T, Nakamura H, Tashiro K, et al. Sensitivity and specificity of Cobas TaqMan MTB real-time polymerase chain reaction for culture-proven *Mycobacterium tuberculosis*: meta-analysis of 26999 specimens from 17 Studies. *Sci Rep.* 2015; 5: 18113. doi: 10.1038/srep18113
75. Coll F, McNerney R, Preston MD, Guerra-Assunção JA, Warry A, Hill-Cawthorne G, et al. Rapid determination of an-

- ti-tuberculosis drug resistance from whole-genome sequences. *Genome Med.* 2015; 7(1): 51. doi: 10.1186/s13073-015-0164-0
76. Miotto P, Tessema B, Tagliani E, Chindelevitch L, Starks A.M, Emerson C, et al. A standardised method for interpreting the association between mutations and phenotypic drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Eur Respir J.* 2017; 50(6): 1701354. doi: 10.1183/13993003.01354-2017
77. McNerney R, Zignol M, Clark TG. Use of whole genome sequencing in surveillance of drug resistant tuberculosis. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2018; 16(5): 433-442. doi: 10.1080/14787210.2018.1472577
78. Satta G, Atzeni A, McHugh TD. *Mycobacterium tuberculosis* and whole genome sequencing: a practical guide and online tools available for the clinical microbiologist. *Clin Microbiol Infect.* 2017; 23(2): 69-72. doi: 10.1016/j.cmi.2016.09.005
79. Walker TM, Merker M, Kohl TA, Crook DW, Niemann S, Peto TE. Whole genome sequencing for M/XDR tuberculosis surveillance and for resistance testing. *Clin Microbiol Infect.* 2017; 23(3): 161-166. doi: 10.1016/j.cmi.2016.10.014
80. Pankhurst LJ, Del Ojo Elias C, Votintseva AA, Walker TM, Cole K, Davies J, et al. Rapid, comprehensive, and affordable mycobacterial diagnosis with whole-genome sequencing: a prospective study. *Lancet Respir Med.* 2016; (1): 49-58. doi: 10.1016/S2213-2600(15)00466-X
81. Phelan J, O'Sullivan DM, Machado D, Ramos J, Whale AS, O'Grady J, et al. The variability and reproducibility of whole genome sequencing technology for detecting resistance to anti-tuberculous drugs. *Genome Med.* 2016; 8(1): 132. doi: 10.1186/s13073-016-0385-x
82. Papaventsis D, Casali N, Kontsevaya I, Drobniewski F, Cirillo D.M, Nikolayevskyy V. Whole genome sequencing of *Mycobacterium tuberculosis* for detection of drug resistance: a systematic review. *Clin Microbiol Infect.* 2017; 23(2): 61-68. doi: 10.1016/j.cmi.2016.09.008

Сведения об авторах

Хромова Полина Андреевна – младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: polina.and38@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6449-5060>

Синьков Вячеслав Владимирович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», <https://orcid.org/0000-0003-3396-9590>

Савилов Евгений Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эпидемиологии и микробиологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования» Минздрава России, главный научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», <http://orcid.org/0000-0002-9217-6876>

Information about authors

Polina A. Khromova – Junior Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Important Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: polina.and38@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6449-5060>

Vyacheslav V. Sinkov – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Important Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, <https://orcid.org/0000-0003-3396-9590>

Evgeniy D. Savilov – Doc. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Epidemiology and Microbiology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Chief Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Important Infections, Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems, <http://orcid.org/0000-0002-9217-6876>

Статья получена: 18.02.2019. Статья принята: 18.04.2019. Статья опубликована: 26.06.2019.
Received: 18.02.2019. Accepted: 18.04.2019. Published: 26.06.2019.

ЛЕКЦИИ LECTURES

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.3.18

Параметрические особенности регионарного мозгового кровотока при венозном ишемическом инсульте (лекция)

Семенов С.Е.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний»
(650002, г. Кемерово, Сосновый б-р, 6, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Семенов Станислав Евгеньевич, e-mail: dr_semenov_s@mail.ru

Резюме

Лекция посвящена особенностям изменений тканевой и клеточной перфузии мозга при редкой патологии – венозном ишемическом инсульте. Венозный инсульт, являясь «относительно неизвестным цереброваскулярным заболеванием», встречается до 5 % от всех случаев инсульта. Термины «венозная ишемия» и «венозный инсульт» довольно давно используются в литературе и определение венозного характера инсульта должно вести к изменению лечебной тактики. Нейровизуализация должна обеспечить верификацию инсульта и тромбоза дуральных венозных синусов и вен мозга, являющихся основной причиной такого инсульта. Определённая «настороженность» в отношении венозного характера инсульта с расширением объёма лучевых методов исследования и выполнением помимо диффузионной магнитно-резонансной томографии (МРТ) также ангиографических и перфузионных компьютерно-томографических (КТ) и магнитно-резонансных (МР) методик, позволили поднять количество диагностированного и верифицированного венозного инсульта с 0,4 % от общего количества пролеченных с инсультом пациентов до 2,4 %. Отличительной особенностью венозного ишемического инсульта от артериального является умеренная гиперемия в центральной части в случаях, когда некроз не развивается, и перифокальная гиперперфузия при развитии некроза. Умеренное полнокровие, определяемое по данным перфузионных параметров (увеличение до 30 % церебрального кровотока (CBF), церебрального объёма крови (CBV), среднего времени транзита контраста (MTT), методик КТ, МРТ и однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ), а не олигемия является первичным повреждающим фактором патогенеза венозного инсульта в отличие от артериального, и паттерны гиперемии должны быть опорными пунктами в неотложной диагностике венозного инсульта наряду с томоангиографическими симптомами церебрального венозного синустромбоза.

Ключевые слова: венозный инсульт, венозная ишемия, перфузия, компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, однофотонная эмиссионная компьютерная томография, церебральный кровоток, церебральный объём крови, время прохождения контраста

Для цитирования: Семенов С.Е. Параметрические особенности регионарного мозгового кровотока при венозном ишемическом инсульте (лекция). *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 138-147. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.18

Parametric Features of Regional Cerebral Blood Flow in Venous Ischemic Stroke

Semenov S.E.

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (Sosnovy blvd, 6, Kemerovo 6650002, Russian Federation)

Corresponding author: Stanislav E. Semenov, e-mail: dr_semenov_s@mail.ru

Abstract

The lecture is devoted to the peculiarities of changes in tissue and cell perfusion of the brain with a rare pathology – venous ischemic stroke. Venous stroke, being a “relatively unknown cerebrovascular disease”, occurs up to 5 % of all cases of stroke. The terms “venous ischemia” and “venous stroke” have long been used in the literature and the definition of the venous nature of stroke should lead to a change in therapeutic tactics. Neuroimaging should ensure the verification of stroke and cerebral venous sinus thrombosis, which are the main cause of such a stroke. A certain “alertness” to the venous nature of the stroke with the expansion of the volume of radiologic methods of investigation and the performance of angiographic and perfusion CT and MR techniques, diffusion MRI allowed to increase the number of diagnosed and verified venous strokes from 0.4 % of the total number of stroke patients to 2.4 %. A distinctive feature of venous ischemic stroke from the arterial is moderate hyperemia in the central part in cases where necrosis does not develop and perifocal hyperperfusion in the development of necrosis. Moderate plethora, defined by perfusion parameters (up to 30 % CBF, CBV, MTT) of CT, MRI and SPECT techniques, and not oligemia is the primary damaging factor of the pathogenesis of venous stroke in contrast to the arterial and hyperemia patterns should be the reference points in emergency diagnosis venous stroke along with tomoangiographic symptoms of cerebral venous sinustrombosis.

Key words: *venous stroke, venous ischemia, perfusion, CT, MRI, SPECT, CBF, CBV, MTT*

For citation: Semenov S.E. Parametric features of regional cerebral blood flow in venous ischemic stroke. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 138-147. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.18

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АИ, ИИ – артериальный ишемический инсульт
 ВИ – венозный инсульт
 ГПС – гиперперфузионный синдром
 ГТ – геморрагическая трансформация
 ДВИ (DWI) – diffusion-weighted imaging (диффузионно-взвешенное изображение)
 КГ – контрольная группа
 КТ (СТ) – компьютерная томография (Computed Tomography)
 КЭИ – кардиоэмболический инсульт
 МР – магнитно-резонансная
 МРТ (MRI) – магнитно-резонансная томография (Magnetic resonance imaging)
 ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения
 ОФЭКТ (SPECT) – однофотонная эмиссионная компьютерная томография (Single-photon emission computed tomography)
 ПКТ – перфузионная КТ
 пМРТ, ПМРТ – перфузионная МРТ
 РСЦ – региональный сосудистый центр
 ТЛТ – тромболитическая терапия
 ХИГМ – хроническая ишемия головного мозга
 ЦВСТ – церебральный венозный синустромбоз
 ЦВТ – церебральный венозный тромбоз
 ЦПД – центральное перфузионное давление
 ADC – Apparent diffusion coefficient (истинный коэффициент диффузии)
 АНА/ASA – American Heart Association/American Stroke Association
 ASL – Arterial spin labeling (артериальное спиновое мечение)
 АТА – arterial transit artifact (артефакт региональной гиперперфузии)
 АТТ – arterial transit time (время прохождения артериальной крови)
 CBF – cerebral blood flow (скорость церебрального кровотока)
 CBV – cerebral blood volume (объем церебрального кровотока)
 DSC – Dynamic susceptibility contrast (динамическая МР-перфузия на основе последовательности T2*)
 FLAIR – Fluid-Attenuated Inversion Recovery (последовательность инверсии-восстановления с длинным T1)
 МТТ – mean transit time (время прохождения контраста)
 ROI – Region of Interest (зона интереса)
 SNR – signal noise ratio (соотношение сигнал/шум)
 WI – weighted imaging (взвешенное изображение)

ТЕРМИНОЛОГИЯ «ВЕНОЗНОЙ ИШЕМИИ»

Термины «венозная ишемия» [1] и «венозный инсульт» [2] нередко используются в литературе, но не имеют места в МКБ-10. Обычно термин венозный инфаркт употребляется при инсульте вследствие церебрального венозного тромбоза при окклюзии магистральных вен головы (ЦВТ) или церебрального венозного синустромбоза (ЦВСТ), сопровождающемся венозным кровотоком. В цели и задачи данной лекции входит представление практикующему врачу и исследователю количественных

и относительных перфузионных параметров ишемического (негеморрагического) инсульта, развившегося в результате тромбоза брахиоцефальных вен, интракраниальных вен или дуральных синусов, как с развитием инфаркта (некроза), так и без развития инфаркта, и главное – без признаков артериального поражения и неинфекционной этиологии.

ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВЕНОЗНОГО ИНСУЛЬТА

В наших исследованиях отличительной особенностью венозного инсульта (ВИ) от артериального ишемического инсульта (АИ, ИИ) явилось наличие признаков фокального полнокровия в случаях, когда некроз не развивался и перифокальной гиперемии при развитии некроза. Суждение о факте развития некроза (инфаркта) выносилось по изменению параметров перфузионной компьютерной томографии (ПКТ) или перфузионно-диффузионной (ПМРТ/ДВИ) МРТ. Так, небольшое снижение центрального перфузионного давления (ЦПД) приводит к компенсаторному расширению церебральных артериол и снижению сосудистого сопротивления, которое происходит в рамках процесса ауторегуляции мозгового кровотока. Соответственно, измеренное при помощи ПКТ или ПМРТ значение скорости кровотока (CBF) в этой ситуации будет оставаться нормальным, а время транзита контраста (МТТ) и объема кровотока (CBV) повысится. В случаях умеренного снижения ЦПД вазодилатация обеспечивает поддержание кровотока в границах компенсаторных возможностей, что проявляется большим удлинением МТТ и увеличением CBV. Если ЦПД и дальше снижается, ауторегуляция перестаёт быть состоятельной, расширение церебральных сосудов уже не в состоянии обеспечить достаточную перфузию, и это приводит к снижению CBF и CBV. По нашим данным, при венозном инсульте инфаркт развивается реже (в 55 % случаев), чем при артериальном ишемическом инсульте (в 79 %) и носит вторичный характер. Вторичная геморрагическая трансформация (ГТ) выявлена в наших исследованиях в 27 % при ВИ и в 9 % при АИ при контрольной КТ на 5–7-е сутки. При КЭИ ГТ имела большую частоту – 60 %. Отличительной особенностью вторичной геморрагии при ВИ является связь с затруднением оттока в микроциркуляторном русле при вазогенном отеке [3]. Вероятно, застойная венозная гиперемия является в большей степени предрасполагающим к вторичной геморрагии фактором, чем некроз. ГТ при АИ развивается в зоне некроза и цитотоксического отека и происходит это не так часто. При КЭИ сочетание некроза и цитотоксического отека в фокусе инсульта с гиперемией и рано развивающимся вазогенным отеком приводит к вторичному кровоизлиянию (обычно в перифокальной очагу зоне) чаще, чем в случаях ВИ и АИ. Во всех трёх случаях аутопсии после ВИ наблюдалось выраженное венозное полнокровие, выраженный периваскулярный и перицеллюлярный отёк ткани мозга, а также множественные микро- и макрогеморрагии.

Морфология венозного инфаркта в отличие от артериального характеризуется полнокровием, стазом, диа-

педезными кровоизлияниями, мелкими очагами некроза, но всё это без патологических изменений артерий. Значит венозный инсульт не является ишемическим первично. Ишемия носит, вероятно, вторичный характер, развиваясь уже в результате вазогенного отёка и механической констрикции питающих артериол.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЕНОЗНОГО ИНСУЛЬТА В СВЯЗИ С РАЗЛИЧНЫМИ УРОВНЯМ И ЦЕЛЕВОЙ «НАСТОРОЖЕННОСТИ» И ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ

Венозный инсульт, согласно рекомендаций American Heart Association/American Stroke Association (AHA/ASA) [4] встречается в 0,5–1 % от всех инсультов.

Наши исследования не были рандомизированными. Выборки пациентов с ВИ, установленным клинически и подтверждённым морфологически методами нейровизуализации и по данным аутопсии в части случаев мы произвели за три периода: с 2007 по 2009 гг., с 2011 по 2012 гг. и с 2014 по 2017 гг.

В период 2007–2009 гг. применялся повсеместно используемый подход в нейровизуализации, который включал диагностику инсульта на основании данных конвенциональных КТ или МРТ, выполненных в небольшой части случаев КТ- или МР-ангиографических и перфузионных методик. В течение этого периода общее количество пациентов с инсультом составило 2348, из них с венозным инсультом – 11 (0,4 %). Крайне редкое использование ангиографических методик КТ и МРТ было обусловлено недостаточностью для радиологов и неврологов визуализации фокуса пониженной плотности при КТ или очага с повышенным на T2WI-, FLAIR-, DWI-изображениях при МРТ.

Во втором проспективном исследовании, выполненном в течение 2011–2012 гг. протокол радиологических методов обследования был значительно шире. За 2 года с диагнозом «инсульт» через РСЦ прошло 1409 пациентов (из них 85 % – с ишемическим инсультом, ИИ). Во второй части в исследование было включено 35 пациентов с верифицированным диагнозом исходно негеморрагического венозного инсульта (ВИ) при церебральном венозном тромбозе (ЦВТ) или церебральном венозном синустромбозе (ЦВСТ), что составило уже 2,4 % от общего количества пациентов с инсультом. Этот период неотложной диагностики инсульта (2011–2012 гг.) характеризовался активным применением КТ-, МР-ангиографии, КТ- и МР-перфузии, исследования выполнялись только на 64-срезовых компьютерных томографах и МР-томографе напряжённостью поля 1,5 Тл. Определённая «настороженность» в отношении интересующей нас патологии (венозного инсульта), а также расширение объёма лучевых методов исследования с выполнением перфузионных КТ- и МР-методик, диффузионной МРТ, составляющих основу для формирования заключения о наличии перфузионно-диффузионного несоответствия (perfusion-diffusion mismatch) позволили поднять количество диагностированного венозного инсульта с 0,4 % от общего количества пролеченных с инсультом пациентов до 2,4 %, то есть в 6 раз за 5 лет целенаправленного изучения этой патологии [5]. Необходимо отметить, что в последующие за проведением исследования 4 года (третий период) выявляемость венозного инсульта вновь снизилась до 1 % от общего количества случаев ишемического инсульта, что связано с уменьшением частоты

выполнения ангиографических и перфузионных методик КТ и МРТ в этот период.

Сравнение результатов исследований пациентов ВИ производили с группами из 35 пациентов с артериальным (ишемическим) атеротромботическим инсультом (АИ), а также 46 пациентов с кардиоэмболическим инсультом (КЭИ), зарегистрированных для включения в общероссийский регистр инсульта от РСЦ в течение 2011 г., размеры очагов инсульта у которых были сходны с размерами очагов ВИ.

Критериями исключения были: онкологическая патология, первичное мозговое кровоизлияние, инсульт в анамнезе, патология мозжечка при МРТ, диагностика артериальных аневризм или других сосудистых мальформаций головного мозга, гемодинамически значимые стенозы брахиоцефальных артерий, инфекционный процесс в придаточных пазухах носа, планирование тромболитической терапии.

ПЕРФУЗИОННЫЕ КТ- И МР-МЕТОДИКИ В ДИАГНОСТИКЕ ИНСУЛЬТА

На современном этапе развития клинической и диагностической медицины лечение инсульта напрямую зависит от раннего и точного определения патологических изменений, произошедших в мозговой ткани в результате ишемии, возможности предотвратить критическое снижение церебральной перфузии и каскада развивающихся из-за этого патологических реакций. Основной целью широкого использования нейровизуализации с применением перфузионных протоколов КТ и диффузионных/перфузионных последовательностей МРТ является достоверная диагностика очагов инсульта и инфаркта мозга. Наиболее активно в диагностике острого инсульта ПКТ применяется благодаря тому, что пороговые значения «каскада» патологических реакций и количественные отношения тканевой перфузии мозга изучены при использовании этой методики достаточно хорошо на сегодняшний день. Было доказано, что точность выявления очага ишемического поражения при ПКТ в острейшем периоде значимо выше, чем при стандартной КТ [6]. При применении ПКТ в первые часы после начала инсульта чувствительность составляет 96 %, а специфичность 98 % [7]. Оценив количественно и качественно выраженность дефицита кровотока, можно определить размер очага некроза и окружающей его зоны ишемизированной, но ещё жизнеспособной ткани – ишемической полутени (пенумбры). Тканевая классификация (инфаркт/пенумбра) возможная на большинстве томографов в полуавтоматическом режиме при сравнении карт МТТ и CBF.

Пороговым значением, характеризующим повреждение при перфузионном, также, как и диффузионном исследовании мозга, обычно принимается коэффициент 0,7 или 1,3, т.е. 30%-ное отклонение в меньшую или большую сторону от показателя условно «здоровой» ткани, характеризующим инфаркт – 0,5 или 50%-ное уменьшение от нормального показателя. Шагом паттерна (+) считается $r = 1,3$ (умеренная гиперемия); $(-) - r = 0,7$ (олигемия); $(++) - r \geq 1,5$ (патологическая гиперперфузия [6]); $(--) - r \leq 0,5$ (гипоперфузия и аперфузия). При $0,7 < r < 1,3$ паттерн оценивается как (\pm) [7]. Зоны инфаркта и повреждения (например, пенумбры) отличаются по следующим перфузионным паттернам: в зоне инфаркта – выраженное снижение CBF и снижение CBV с нормальным или слегка

увеличенным МТТ, в области пенумбры – выраженное уменьшение CBF, нормальное или повышенное CBV, значительно увеличенное МТТ [6, 8].

Перфузионная КТ была выполнена нами на томографах Light Speed TM VCT 64 General Electric и Somatom Sensation 64 Siemens со следующими параметрами сканирования: kV = 80, mAS = 200, толщина среза – 5 мм, время оборота трубки 1 с, захват – 4 см, время сканирования – 70 с, наклон гентри – 11°, объём используемого контрастного средства – 40 мл (с концентрацией йода 350–370 мг/мл), скорость введения контрастного средства – 4,5 мл/с (GE) или 8 мл/с (Siemens). Карты перфузии для количественного анализа строились на рабочих станциях Leonardo (Siemens) и Workstation Volume Share 4 (GE).

Если нормальный объём мозгового кровотока в большинстве исследований оценивается в 55–80 мл/100 г/мин, то области мозга с большей энергетической потребностью, такие как серое вещество, имеют значения CBF в 2 раза большие, чем белое вещество. Рядом исследователей были предложены различные пороговые значения, которые позволяют дифференцировать «пенумбру» и «ядро» инфаркта в острейшем периоде заболевания [6, 7] (2008). Было показано, что относительный CBF (rCBF) работает значительно лучше (специфичность 72–88 %), чем абсолютный CBF (специфичность 66 %) с определённым порогом повреждения среднего CBF в 31 % в отношении контралатерального полушария [9]. Для острого инсульта предложены следующие пороговые значения параметров перфузии: CBV (инфаркт $< 2 \text{ mL} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ < пенумбра) для определения ядра инфаркта и ишемической полутени мозга, CBF $< 25 \text{ mL} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, а относительное увеличение МТТ $> 145 \%$ для определения ишемической полутени [6]. Показатели ΔMTT и ΔTPP свидетельствуют о наличии гипоперфузии, исход которой определяется степенью задержки контрастного вещества. $\Delta\text{MTT} < 2$ с свидетельствует об отсутствии гипоперфузии, ΔMTT от 2 до 6 с соответствует «обратимой» гипоперфузии, $\Delta\text{MTT} > 6$ с – «необратимой» гипоперфузии. Наиболее чувствительным к изменению кровотока параметром перфузии является МТТ. Однако увеличение МТТ может не отражать перфузионного дефицита, а быть изменённым при развитых коллатералах.

Выявление отклонений от нормы перфузионных параметров традиционно основывается на сравнении значений в ROI поражённых участков мозга и симметричных (зеркальных) участках неповреждённого полушария. Средние величины (со стандартным отклонением) для CBF (мл/мин/100 г) и CBV (в скобках, в %) определены в различных участках мозга следующим образом: для таламуса – $69,8 \pm 22,2$ ($9,0 \pm 3,0$), белого вещества – $28,1 \pm 6,9$ ($3,9 \pm 1,2$), ядра инфаркта – $34,4 \pm 22,4$ ($7,1 \pm 2,7$), в ROI зеркальном инфаркту – $60,3 \pm 20,7$ ($8,2 \pm 2,3$), ишемической полутени – $50,2 \pm 17,5$ ($10,4 \pm 2,4$) и в зеркальном относительно пенумбры ROI – $64,2 \pm 17,0$ ($9,5 \pm 2,3$). Временные характеристики МТТ для тех же зон определены как: $8,0 \pm 2,1$; $8,6 \pm 3,0$; $16,1 \pm 8,9$; $8,6 \pm 2,9$; $13,3 \pm 3,5$ и $9,4 \pm 3,2$ соответственно. Значения CBV ядра инфаркта и ишемической полутени в исследовании достоверно не отличались от соответствующих значений в зеркальных ROI, тогда как различия значений CBF и МТТ в повреждённых и симметричных зонах имели достоверные отличия ($p < 0,01$).

На основании сравнения результатов исследований ПЭТ и ПКТ значения CBF для нормального белого вещества и нормального серого вещества составляют приблизительно 25 и 50 мл/мин/100 г, CBV – 2 и 4 мл/100 г соответственно. Исходя из предположения, что нормальная паренхима мозга состоит на 60 % из серого вещества и на 40 % из белого вещества, среднее значение rCBV и rCBF в нормальной паренхиме головного мозга линейно коррелирует с абсолютными значениями CBV и CBF. Данное предположение было подтверждено использованием коэффициентов масштабирования [10], когда относительный CBV (rCBV) нормального белого вещества сравнивался со стандартными значениями CBV 2,1 мл/100 г и 3,2 мл/100 г, а среднее значение rCBF в сегментированном нормальном мозге со стандартной CBF 40 мл/мин/100 г.

Гемодинамические характеристики в исследуемых нами группах были изучены в шести зонах интереса (Region of Interest, ROI): в области ядра инфаркта или центральной части инсульта, области пенумбры или перифокально и в области неповреждённой ткани того же артериального бассейна поражённого полушария большого мозга или мозжечка, а также в симметричных зонах неповреждённой стороны головного мозга. На основании того, что значения rCBV и rCBF линейно коррелируют с абсолютными величинами CBV и CBF мы оценивали коэффициенты отношения абсолютных показателей перфузии в пределах зон интереса (ROI) к «здоровой» стороне (relative, r). В КГ (ХИГМ) оценивались показатели в зонах интереса, сходных по локализации с очагами ВИ и ИИ, также с подсчётом коэффициента асимметрии.

В отличие от ИИ при ВИ в первые сутки заболевания регистрировались параметры перфузии, соответствующие фокальной ишемии от (с уменьшением rCBF в среднем на 23,5 %, а rCBV на 12 %) и перифокальному полнокровию с отклонением rCBF в сторону увеличения (rCBF в среднем до 28 %, а rCBV до 27 %). Необходимо учитывать, что визуально на картах перфузии небольшие изменения в большинстве случаев не могут быть очевидны и для их выявления требуется аппаратное изучение параметрических значений в выделяемых исследователем (оператором или врачом) ROI.

При КЭИ участки аперфузии со снижением и rCBV и rCBF более, чем на 50 % территориально совпадали в 45 %, что говорит об отсутствии ишемической полутени. Это значит, что в 1/2 случаев инфаркт произошёл на всей территории повреждения. Совпадение территории патологически изменённых CBV и CBF при АИ составили 8 %. Это значит, что чаще всего пенумбра имела место. Особенностью ВИ явилось то, что в 1/2 случаев некроз не формировался и коэффициент асимметрии параметров перфузии имел значения не более 1,5 (50%-ное отклонение) при увеличении всех параметров перфузии в зоне поражения.

Для тканевой классификации изменений паренхимы головного мозга при ишемическом повреждении удобно пользоваться паттерналистской моделью (табл. 1) [7, 8]. Показатель rMTT в центральной части очага ишемического инсульта/инфаркта показал себя высокоинформативным в целом «+++», но одновременно и единственным критерием, по которому нам не удалось получить достоверных отличий ВИ от ИИ. Вероятно, это связано с тем, что при ВИ в половине случаев, а при

ИИ в 2/3 случаев, развившийся некроз с аперфузией (нулевые значения чёрной зоны на карте МТТ) в зоне ядра инфаркта нивелирует более значительное отклонение. По всем другим критериям были получены достоверные отличия. В зоне перифокальной центру его значения при ВИ можно оценить как «±», что достоверно отличает ВИ (см. в выявлении ВИ со значением в центральной зоне «±» и перифокально «+» в отличие от ИИ («-»). Изменения rCBV при ВИ в центральной части очага характеризуются как «±», и в перифокальной – «+» в отличие от ИИ: «-» – в центральной и «±» – в перифокальной. Полнокровие, а не олигемия является, по всей видимости, первичным повреждающим фактором патогенеза венозного инсульта в отличие от артериального, и именно паттерны полнокровия могут быть опорными позициями в неотложной дифференциальной диагностике этих двух заболеваний.

Таблица 1

Паттерны нарушений тканевой перфузии мозга при ишемическом инсульте в остром периоде (при $p < 0,05^$)*

Table 1

Patterns of ischemic tissue perfusion disturbances in acute stroke ($p < 0,05^$)*

Тип тканевого повреждения	rMTT	rCBF	rCBV
Артериальный инфаркт	++	–	–
Пенумбра	++	–	±
Центральная зона венозного инсульта	++	±*	±*
Перифокальная зона венозного инсульта	±*	+	+

При неразвитии инфаркта, например, в результате эффективного системного тромболизиса и реканализации поражённого сосуда, происходит восстановление симметричности картирования с одинаковым (или почти одинаковым) цветовым и цифровым отражением с поражённой и «здоровой» стороны, что свидетельствует о реперфузии. Данное динамическое развитие перфузионных событий соответствует нормоперфузионному варианту.

Помимо нормоперфузионного варианта, выделяется ещё несколько вариантов развития перфузионных событий. При ИИ – это два варианта сомнительной или отрицательной результативности лечебных мероприятий: персистирующая (хроническая) гипоперфузия и феномен невосстановленной перфузии. Как при ИИ, так и при ВИ возможно противоположное развитие динамики нарушений перфузии. Это варианты с повышением кровенаполнения поражённых зон: постишемическая (реактивная) гиперемия, острая патологическая гиперперфузия [11]. То есть, наряду с гипоперфузией, которая чаще встречается при острых нарушениях мозгового кровообращения, можно столкнуться и с гиперперфузией (luxury perfusion, «роскошной» перфузией). Этот симптом описывается наиболее часто как элемент реперфузионного синдрома после ТЛТ или других реваскуляризирующих мероприятий. Повышение всех показателей перфузии до 30 % происходит обычно в зонах, перифокальных ядру инфаркта. Оно является временным эффектом с быстрым восстановлением показателей к норме и является постишемической (реактивной) гиперемией. Наряду с удлинением МТТ может иметь место парадоксальное укорочение времени транзита контраста при остром инсульте, встречающееся

до 58 % случаев [12] и характеризующее скорее высокий коллатеральный кровоток.

Выделяется также острая патологическая гиперперфузия, которая может быстро привести к кровоизлиянию в зоне поражения с большой степенью вероятности. Под термином «гиперперфузионный синдром» (ГПС) предлагается понимать не только увеличение перфузии (на 100 % и более), но и развитие признаков церебрального повреждения, связанного с нарушением сосудистой ауторегуляции [13]. В условиях исходно нарушенной ауторегуляции значительное усиление артериального притока, наступающее на фоне дилатации микрососудистого русла, не сопровождается адекватной реакцией – спазмом артериол, формируется зона гиперемии, являющаяся патологической основой гиперперфузии. О венозном застое свидетельствует удлинение МТТ с одновременным увеличением CBV в противоположность паттернам артериального ишемического инсульта [11, 14].

Инструментальными маркерами ГПС считают увеличение пиковой систолической скорости, конечной диастолической скорости и средней скорости кровотока в СМА более чем на 100 % от исходного по данным ОФЭКТ [13], перфузионных методик КТ [15] и МРТ [13]. В двух случаях прогрессирующего течения венозного инсульта мы наблюдали развитие острой патологической гиперперфузии [11] на фоне первично выявленной умеренной гиперемии, осложнённой паренхиматозно-субарахноидальным кровоизлиянием.

На наш взгляд, геморрагическая трансформация при венозном инсульте связана в большей степени с фокальным и перифокальным полнокровием, а не с некротическим повреждением, как при артериальном ишемическом инсульте. Геморрагическая трансформация при АИ происходила обычно в области ядра инфаркта (некроза), однако в перифокальной ядру зоне регистрировались параметры перфузии, которые соответствовали умеренной гиперемии. Признаки полнокровия в перифокальной инфаркту зоне чаще встречались при венозном инсульте, но также, хотя и значительно реже, были выявлены при первичном артериальном ишемическом инсульте (4 случая при КЭИ) уже в первые сутки. Это может означать, что застойное венозное полнокровие в виде умеренной гиперперфузии не только при венозном инсульте, но также и при кардиоэмболии имеет место, что, вероятно связано с состоянием хронической сердечной недостаточности и играет определённую роль в течении заболевания.

Менее инвазивным, не связанным с введением йода (количество вводимого гадолиниевого контрастного средства меньше в 3–4 раза, чем при ПКТ), а также не связанным с лучевой нагрузкой, является метод МР-перфузии. DSC МР-перфузия, которую мы применяли в нескольких случаях ишемического инсульта, известна как болюс-следящая МРТ или перфузионно-взвешенная визуализация, представляет собой метод, в котором первый проход болюса контрастного вещества на основе гадолиния через ткань головного мозга контролируется серий T2* взвешенных МР-изображений.

Мы использовали DSC динамическую МР-перфузию на основе градиентной T2* с болюсным введением (скорость – 3 мл/с) полумолярного Gd-контраста в количестве 15 мл в оригинальной последовательности Dy Perf (Toshiba, Japan) с параметрами: TR = 2000 мс, Imaging

Flop Angle – 90, матрица – 128*128, толщина среза – 8 мм, количество срезов – 8, число повторений – 30.

Последовательность T2*, на основе которой выполняется МР-перфузия, является также хорошим инструментом обнаружения свежей крови, которая легко обнаруживается на фоне ишемии на «сырых» срезах, ещё не подвергнутых постобработке. Большинство исследователей, использовавших пМРТ, считают её чувствительность в выявлении ишемического повреждения мозга при инсульте такой же, как и ПКТ, на основании совпадений получаемых карт перфузии.

В то же время, у пМРТ есть и недостатки: в отличие от ПКТ при пМРТ скоростные, объёмные показатели являются относительными – полуколичественными [16], процедура пМРТ более длительна в целом при предварительном выполнении DWI и FLAIR для обнаружения очагов, что немаловажно для пациентов в тяжёлом состоянии, особенно при психомоторном возбуждении, являющемся частым симптомом инсульта, более шумная процедура пМРТ вызывает дополнительное возбуждение пациентов и как следствие – появление на диагностических изображениях артефактов движения, что затрудняет их интерпретацию. Однако немногочисленность отрицательных черт T2*МР-перфузии делают её пригодной в качестве методики выбора при нарушениях тканевой церебральной циркуляции в отсутствии КТ в неотложной диагностике инсульта.

Всё чаще выполняются исследования по изучению возможностей МР-методики бесконтрастной артериальной спин-меченой МР-перфузии (arterial spin labeling, ASL). ASL – перфузионный метод, который использует магнитно-маркированную кровь в качестве эндогенного трассера для определения значений CBF. Существует два основных типа техники ASL: непрерывный (continuing – CASL, pseudocontinuing – PCASL) и импульсный (pulse – PASL). В непрерывном ASL подаётся длительный радиочастотный импульс, который непрерывно маркирует воду артериальной крови ниже отображающего среза до достижения устойчивого намагничивания ткани. В импульсном ASL короткий радиочастотный импульс используется для маркировки толстой пластины артериальной крови в один момент времени, и визуализация проводится через определённый промежуток времени, чтобы обеспечить распределение в ткани, представляющей интерес. Хотя непрерывный ASL обеспечивает больший контраст перфузии, импульсный ASL является менее технически сложным.

Процедуры PASL и PCASL выполнены в исследовании для 99 пациентов с ишемическим инсультом в пределах острого периода (33 пациента с верифицированными церебральным венозным тромбозом и венозным инсультом (ВИ), 33 пациента с артериальным ишемическим инсультом (ИИ), 33 пациента с признаками хронической ишемии вещества головного мозга (контрольная группа, КГ).

Во втором периоде нашего исследования применялась импульсная последовательность PASL (pulse arterial spin labeling) – бесконтрастная МР-перфузия в аксиальной плоскости со следующими параметрами: TR – 9,0 мс, TE – 3,6 мс, FA – 20, Imaging Flop Angle – 1800, TagIR – 13, TagIR thickness – 21, инвертирующий импульс (TEC Pulse, TI1) производился на 800 мс, время сбора (TI) – 1200 мс, матрица – 64*64, толщина среза – 15 мм, количество срезов – 1, число повторений – 88. Объём возбуждающего

импульса устанавливался на уровень экстракраниальных артерий, контрольный объём – в средину среза.

В среднем значение истинного CBF для серого вещества принимают 60 мл/100 г/мин, для белого вещества – 39–40 мл/100 г/мин [17]. Расчёт значений CBF в зонах интереса мы производили по формуле Лассена: $CBF = 1,5 \cdot x / (2,5 - x/100) \cdot 55/100$, где «x» это значение МР-сигнала в % по отношению к 55 мл/100 г/мин, общепринято принимаемому за универсальный, усреднённый, «контрольный» показатель перфузии ткани мозга [18]. Использование универсальной формулы, а также значений относительного CBF (rCBF), позволило игнорировать разницу абсолютных значений МР-сигнала от ткани мозга, которая всё же имела место у разных пациентов.

В обнаружении острого ишемического повреждения основную роль играет изменение МР-сигнала, кодированного CBF, а именно его снижение, что означает гипоперфузию зоны интереса. Чем ниже интенсивность сигнала, тем ниже перфузия. В зоне ишемической гипоперфузии значения rCBF регистрировались в пределах от $11,52 \pm 2,14$ мл/100 г/мин до $40,28 \pm 3,88$ мл/100 г/мин (в среднем $20,91 \pm 3,39$ мл/100 г/мин). Второй тип изменения МР-сигнала при ASL – повышение rCBF (от $59,94 \pm 2,08$ мл/100 г/мин до $83,72 \pm 4,54$ мл/100 г/мин, в среднем – $76,32 \pm 4,45$ мл/100 г/мин) регистрируется в 69 % ВИ в зонах перифокальных области гипоперфузии и означает гиперемию. При АИ гиперперфузия при ASL обнаруживается в единичных случаях.

С целью исключения ошибок из-за параметрических отклонений абсолютных значений ASL оценивались относительные значения коэффициента асимметрии (rCBF) в пределах одинаковых ROI в сравнении с результатами ПКТ, как референсного метода (табл. 2).

Таблица 2
Показатели относительных значений регионального мозгового кровотока (по данным ПКТ и бесконтрастной МР ASL-перфузии) в фокусе инсульта и перифокальных зонах при венозном ишемическом и артериальном инсультах в острый период (# – достоверное отличие от ИИ, * – достоверное отличие от ХИГМ (КГ) при $p < 0,05$)

Table 2
Parameters of relative CBF in acute ischemic stroke focus and perifocal zone on PCT and ASL MRI (# – significant differences from arterial stroke, * – significant differences from chronic ischemia (control group), $p < 0,05$)

	ВИ	ИИ	ХИГМ (КГ)
rCBF фокуса ПКТ	$0,76 \pm 0,51^{**}$	$0,35 \pm 0,21^*$	$0,97 \pm 0,09$
rCBF перифокально ПКТ	$1,28 \pm 0,25^{**}$	$0,69 \pm 0,27^*$	$0,95 \pm 0,19$
rCBF ASL фокуса	$0,8 \pm 0,2^*$	$0,84 \pm 0,14^*$	$1,06 \pm 0,27$
rCBF ASL перифокально	$1,21 \pm 0,19^*$	$0,93 \pm 0,26^*$	$1,06 \pm 0,27$

Если по результатам ПКТ при ВИ определялась умеренная гипоперфузия, то при ИИ гипоперфузия была выраженная в центральной зоне поражения, а в перифокальной зоне при ВИ отмечалась умеренная гиперперфузия в отличие от незначительной гипоперфузии при ИИ. Значения rASL при ВИ и ИИ между собой достоверно не отличались. Выделить в большинстве случаев ядро и пенумбру при ИИ, центральную и перифокальную зоны при ВИ нам не удавалось, вероятнее не только из-

за низкого соотношения SNR, а и по причине того, что МР-исследование хотя и выполнялось в первые сутки, но вне пределов периода существования ишемической полутени. Однако все значения rASL при МРТ, как в фокусе инсульта, так и перифокально, достоверно отличались от КГ, как и значения rCBF при ПКТ. Перифокальные зоны умеренной гиперемии/гиперперфузии при ВИ гиперинтенсивные на ASL-изображениях в большинстве случаев соответствовали территориально зонам вазогенного отёка, определяемого при диффузионной МРТ (на DWI и картах истинного коэффициента диффузии ADC), а также зонам смешанного сигнала на T2WI в отличие цитотоксического отёка, выражавшегося отчётливым и равномерно высоким сигналом на T2WI, DWI и низким сигналом на картах ADC.

При применении методики PCASL, помимо измерений CBF, имеется возможность оценки времени прохождения артериальной крови (arterial transit time, ATT) на ещё необработанных «сырых» изображениях ASL. Этот параметр является по сути аналогом МТТ и отражает время прохождения меченой крови через изучаемый объем. Его значения в норме в среднем составляют 2000 мс. В зонах ишемии время транзита увеличивается, сигнал повышается. Но можно наблюдать и снижение сигнала, соответствующее укорочению времени транзита меченой крови в результате гиперперфузии. Данный эффект регистрируется в областях, перифокальных зоне ишемии, и, вероятно, отражает реактивную гиперперфузию. Необходимо отличать такой эффект гиперперфузии от артефакта региональной гиперперфузии (arterial transit artifact, ATA) в проекции крупных артериальных сосудов, возникающей из-за высокой скорости кровотока в них. Несмотря на то, что мы не нашли достоверной разницы ATT по группам ВИ и ИИ, тем не менее визуальную разницу между зонами гипоперфузии и гиперперфузии может быть обнаружена, и для диагностики ишемического повреждения этот параметр имеет потенциальную клиническую ценность.

При сравнении результатов бесконтрастной ПМРТ и ПКТ была выявлена достоверно значимая корреляция ($r = 0,53$) rCBF (ПКТ) и rCBF (ASL ПМРТ) для центральной зоны поражения, а также для показателей площади поражения ASL при МРТ и картам CBV при ПКТ ($r = 0,63$), изображениям T2WI ($r = 0,56$), изображениям FLAIR ($r = 0,64$), DWI ($r = 0,64$) и ADC ($r = 0,88$). Достаточно сильная корреляция значений размера очага на изображениях ASL с размерами на широко применяемых последовательностях МРТ и с размерами на картах CBF и CBV при ПКТ, а также совпадение локализации визуализируемого ишемического повреждения во всех случаях позволяют оптимистично относиться к перспективам дальнейшего изучения возможностей этой методики, в том числе для дифференциации артериального и венозного характера ишемии.

Методы, которые используют экзогенные контрастные агенты, как DSC, имеют преимущества перед ASL, так как достигается более высокое соотношение сигнал/шум (signal noise ratio, SNR), что позволяет получать изображения с более высоким временным и пространственным разрешением. Несмотря на то, что ASL может быть улучшено с использованием сканеров с высокой интенсивностью поля, общее SNR, тем не менее, пока остаётся ограниченным [16]. Основные проблемы, веду-

щие к более длительному времени обследования пациентов – это чувствительность к артефактам движения у не всегда адекватных пациентов, что довольно нередко при остром инсульте, а также вероятные ошибки интерпретации изображений из-за возникновения артефактов транзитного кровотока в проекции крупных сосудов. Крайне нечастое использование ASL по сравнению с DSC ПМРТ и тем более с ПКТ могут, отчасти, объяснить также низкое соотношение SNR, нестабильность качества изображения и относительную сложность процедуры.

ОДНОФОТОННАЯ ЭМИССИОННАЯ КОМПЬЮТЕРНАЯ ТОМОГРАФИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ВЕНОЗНОГО ИНСУЛЬТА

Радионуклидная диагностика обычно не используется при диагностике острого инсульта, но может дать исследователю дополнительную информацию о распространённости и степени ишемии в случаях, когда результаты стандартной визуализации после КТ- и МРТ-сканирования не коррелируют с клинической картиной или между собой. При наличии в медицинском учреждении соответствующего оборудования сцинтиграфия может быть выполнена уже на 2–3-е сутки, то есть в подострый период заболевания. Измеряется перфузия головного мозга в миллилитрах в минуту на 100 г (rCBF). Изображения SPECT могут быть объединены с МРТ или КТ для анатомической и функциональной корреляции, что облегчает локализацию и определение размеров повреждений.

Нами однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ, SPECT), совмещённая с КТ, выполнялась на аппарате GE Discovery NM/CT 670 с использованием радиофармпрепарата Церетек, меченого изотопом ^{99m}Tc . Использовались коллиматор LEHR (low energy high resolution), матрица 128×128 . Время экспозиции на одну проекцию составляло 30 секунд. Оценка кровотока осуществлялась по перфузионным картам, построенным на рабочей станции Xeleris 3 в программе Brain SPECT. Расчёт регионального мозгового кровотока также производился с использованием формулы Лассена: $\text{CBF} = 1,5 \cdot x / (2,5 - x) \cdot 55 / 100$, где «x» это число на карте перфузии в % [18]. Анализ клеточной перфузии является полуколичественным, референсные значения радиоактивности принимались на уровне полушарий мозжечка. Поэтому критерием исключения из исследования была патология мозжечка в случае её выявления при МРТ.

ОФЭКТ в острый период инсульта (в течение первых 3–4 суток заболевания) была выполнена нами у трёх пациентов с артериальным ишемическим инсультом в бассейне СМА и у трёх пациентов с венозным инсультом (у двух при тромботической окклюзии верхнего сагиттального синуса и локализации очагов поражения ткани мозга в лобных долях, а также у одного пациента с тромбозом нижнего сагиттального синуса с очаговым односторонним поражением хвостатого ядра и зрительного бугра). Морфологически при остром ишемическом инсульте выделяется «центральная» зона, где кровоток снижен в первую неделю инсульта, а затем увеличивается или даже нормализуется (к концу 2–3-й недели), и «периферическая» зона, где кровоток низкий, но увеличивается в ответ на введение вазодилаторов в отсроченный период исследования, что соответствует понятию «ишемической полутени» [19].

Считается, что допустимая асимметрия перфузии между большими полушариями здорового человека может достигать 12 %. Критерием же гипоперфузии при ОНМК считается локальное снижение поглощения индикатора на 15 % и более [19]. Разница значений rCBF между поражёнными и непоражёнными сегментами мозга (в близких по кровоснабжению и дренированию сосудистых бассейнах) у наших пациентов при артериальном инсульте и в одном случае венозного инсульта составила от 10 % до 17 % (при rCBF непоражённых сегментов 41–42 мл/мин на 100 г, rCBF поражённых сегментов 30–34 мл/мин на 100 г).

Так, в случае венозного инсульта в правой лобной доле при тромбозе верхнего сагиттального синуса были получены карты, отражающие снижение регионарного мозгового кровотока в очаге до 17 % по отношению к противоположному полушарию. Таким образом, ишемический характер повреждения при венозном инсульте без геморрагической составляющей нашёл подтверждение с использованием наиболее точной на сегодняшний день перфузионной методики ОФЭКТ. Однако в одном случае артериального инсульта и в двух случаях венозного инсульта зарегистрирована «избыточная» перфузия.

Разница значений rCBF между поражёнными и непоражёнными сегментами мозга противоположных полушарий в случае венозного инсульта в правой лобной доле была меньше пороговых значений повреждения – от 4 % до 12 % при rCBF непоражённых сегментов 39–40 мл/мин на 100 г и rCBF поражённых сегментов 31–36 мл/мин на 100 г. По всей видимости, эффект «избыточной» перфузии, имевший место при венозном инсульте, привёл к нивелированию разницы регионарного мозгового кровотока между поражённым и непоражёнными сегментами, что при отсутствии данных других диагностических методов может привести исследователя к ошибочному заключению о допустимом в норме отклонении.

Также нами на основании анализа выполненных предварительно других методов обследования было отмечено территориальное совпадение очага «избыточной» перфузии при ОФЭКТ с участком гиперперфузии при ПКТ и участком вазогенного отёка по данным DWI при МРТ, что позволило судить именно об «избыточной» перфузии на фоне более обширной территории гипоперфузии ишемизированного мозга.

ОГРАНИЧЕНИЯ В ИСПОЛЬЗОВАНИИ ПЕРФУЗИОННЫХ МЕТОДИК ДИАГНОСТИКИ НАРУШЕНИЙ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ В ШИРОКОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

С какими же проблемами сталкиваются клиницисты, решившие, что применение перфузионных методик полезно для диагностики нарушений мозгового кровообращения на практике?

Основным ограничением для широкого клинического использования этих методик остаётся недостаточная оснащённость соответствующей аппаратурой учреждений здравоохранения. Но нередко в арсенале даже имеющегося КТ- или МР-томографа отсутствует соответствующее программное обеспечение для реконструктивной постобработки изображений с целью получения карт перфузии. Отсутствие отдельной рабочей станции врача также негативно сказывается на вероятности выполнения таких достаточно сложных для по-

стобработки методик, как ПКТ и ПМРТ. Не столько сама процедура, сколько интерпретация полученных данных довольно продолжительна, и использование для этого операторской консоли, в программном обеспечении которой часто установлена усечённая версия приложения, связана с временной остановкой работы оператора и текущего приёма пациентов. Даже при условии хорошей технической оснащённости диагностических служб радиологи сталкиваются с несоответствием количественных показателей карт перфузии, полученных с использованием оборудования разных производителей, что связано с различными алгоритмами постобработки, а также довольно большим разбросом абсолютных значений (включая нормальные показатели) при выполнении МР-контрастной и МР-бесконтрастной перфузии, КТ-перфузии, ОФЭКТ. Отсутствие стандартизированного подхода в определении перфузионных параметров, возможность получения в некоторых случаях только полуколичественных карт затрудняют внедрение в широкую клиническую практику методик перфузии. В этой связи нам кажется оптимальным игнорирование абсолютных параметров и сравнительная оценка разности (в %) показателей перфузии с поражённой стороны и контралатерального полушария.

Кроме того, на сегодняшний день серьёзным ограничительным моментом остаётся финансовая составляющая, связанная с высокой стоимостью контраста и расходного материала для осуществления его болюсного внутривенного введения. Известно, что экономия расходного материала путём увеличения кратности использования увеличивает риск микробной контаминации.

Нельзя не учитывать также ограничения в использовании гадолиниевого контраста при МР- или йодистого контраста при КТ-перфузии, которое таит в себе риск побочных реакций и осложнений. Применение гадолиния при МРТ связано с меньшим риском побочных реакций, а методика ASL при ПМРТ вообще не сопряжена с лучевой нагрузкой и введением контрастных препаратов.

Отсутствие чётко определённого в рекомендациях для учреждений здравоохранения алгоритма оценки порога изменений перфузионных показателей для ядра инфаркта и ишемической полутени оставляет вопрос о критическом объёме перфузионно/диффузионного несоответствия открытым. Хотя значение этого несоответствия в 20 % было реализовано в нескольких исследованиях, но это лишь мнение экспертов [3]. При венозном инсульте также имеет место перфузионно-диффузионное несоответствие. Но характер этого несоответствия иной, чем при артериальном инсульте. В ситуации, когда некроз формируется в центральной зоне поражения, изменения перфузии и диффузии при артериальном и венозном инсульте не отличаются. Если же повреждение в центральной и периферической зонах обратимые, то при венозном инсульте наблюдается умеренная гиперемия/гиперперфузия, тогда как артериальная пенумбра характеризуется как олигемия/гипоперфузия. А диффузионные последовательности МРТ помогают обнаружить на фоне цитотоксического отёка, имеющего одинаковые черты как при артериальном, так и при венозном инсульте, ранние (в 1-е сутки) признаки вазогенного отёка, отражающегося изоинтенсивным или гипоинтенсивным сигналом на DWI и гиперинтенсивным сигналом на картах ADC, что связано с анизотропическим (параллельно

трактам) движением воды при вазогенном отёке. Для артериального инсульта развитие вазогенного отёка принято ожидать обычно только к 5–7-м суткам, но не в момент неотложной диагностики [20] и далеко не всегда.

Всё это может приводить к отсутствию у врачей-практиков системы здравоохранения не только собственного опыта, но и нацеленности на его приобретение, несогласованности в работе клиницистов и врачей-исследователей. Вследствие чего, даже при условии выполнения перфузионных методик, заключения по их результатам носят нередко лишь приблизительный характер, не содержат точных данных о цифровых параметрах скоростных и временных характеристик, процентном отношении зон ишемии и ишемической полутени или гиперперфузии, что, в целом, создаёт у клиницистов впечатление о нецелесообразности применения этих методик.

Выражение признательности

Этот материал не был бы получен без единомышленников, являющихся талантливыми врачами и учёными, по большей части соавторами в научных публикациях и просто замечательными людьми. Автор благодарен за проявленный интерес, помощь или участие в выполненных исследованиях профессору, академику РАН Л.С. Барбарашу (Кемерово), проф. РАН, д.м.н. А.А. Тулупову (Новосибирск), Е.А. Юркевич, Ю.М. Портнову, к.м.н. А.Н. Кокову, к.м.н. М.Г. Шатохиной (Кемерово), А.С. Семенову (Saarlouis, Germany), а также всем тем, кто на разных этапах исследовательского процесса внёс свой вклад в набор материала, использованного для этой лекции.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Не имеет спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alvis-Miranda HR, Milena Castellar-Leones S, Alcala-Cerra G, Rafael Moscote-Salazar L. Cerebral sinus venous thrombosis. *J Neurosci Rural Pract.* 2013; 4(4): 427-438. doi: 10.4103/0976-3147.120236
2. Tarulli A. *Neurology. A Clinician's Approach.* Cambridge University Press; 2010.
3. Makkat S, Stadnik T, Peeters E, Osteaux M. Pathogenesis of venous stroke: evaluation with diffusion- and perfusion-weighted MRI. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2003; 12(3): 132-136. doi: 10.1016/S1052-3057(03)00039-9
4. Saposnik G, Barinagarrementeria F, Brown RD Jr, Bushnell CD, Cucchiara B, Cushman M, et al. Diagnosis and management of cerebral venous thrombosis: A statement for healthcare professionals from the American heart association/american stroke association. *Stroke.* 2011; 42: 1158-1192. doi: 10.1161/STR.0b013e31820a8364
5. Semenov S, Moldavskaya I, Shatokhina M, Semenov A, Barbarash L. How to distinguish between venous and arterial strokes and why? *Neuroradiol J.* 2011; 24(2): 289-299. doi: 10.1177/197140091102400219
6. Wintermark M, Albers GW, Alexandrov AV, Alger JR, Bammer R, Baron JC, et al. Acute stroke imaging research roadmap. *Am J Neuroradiol.* 2008 29(5): 23-30. doi: 10.1161/STROKEAHA.107.512319
7. Koenig M, Kraus M, Theek C, Klotz E, Gehlen W, Heuser L. Quantitative assessment of the ischemic brain by means of perfusion-related parameters derived from perfusion CT. *Stroke.* 2001; 32(2): 431-437. doi.org/10.1161/01.STR.32.2.431

8. Hossmann KA. Viability thresholds and the penumbra of focal ischemia. *Ann. Neurol.* 1994; 36(4): 557-565. doi.org/10.1002/ana.410360404

9. Campbell BC, Christensen S, Levi CR, Desmond PM, Donnan GA, Davis SM, et al. Cerebral blood flow is the optimal CT perfusion parameter for assessing infarct core. *Stroke.* 2011; 42(12): 3435-3440. doi: 10.1161/STROKEAHA.111.618355

10. Sorensen AG, Copen WA, Ostergaard L, Buonanno FS, Gonzalez RG, Rordorf G, et al. Hyperacute stroke: simultaneous measurement of relative cerebral blood volume, relative cerebral blood flow, and mean tissue transit time. *Radiology.* 1999; 210(2): 519-527. doi: 10.1148/radiology.210.2.r99fe06519

11. Semenov S, Portnov Yu, Semenov A, Korotkevich A, Kokov A. Neuroimaging patterns of cerebral hyperperfusion. *Journal of Physics: IOP Conf. Series.* 2017; 886: 012014. doi:10.1088/1742-6596/886/1/012014

12. Doucet C, Roncarolo F, Tampieri D, Del Pilar Cortes M. Paradoxically decreased mean transit time in patients presenting with acute stroke. *J Comput Assist Tomogr.* 2016; 40(3): 409-412. doi: 10.1097/RCT.0000000000000366

13. Fukuda T, Ogasawara K, Kobayashi M, Komoribayashi N, Endo H, Inoue T, et al. Prediction of cerebral hyperperfusion after carotid endarterectomy using cerebral blood volume measured by perfusion-weighted MR imaging compared with single-photon emission CT. *Am J Neuroradiol.* 2007; 28(4): 737-742.

14. Семенов С.Е., Коваленко А.В., Хромов А.А., Молдавская И.В., Хромова А.Н., Жучкова Е.А., и др. Критерии диагностики негеморрагического венозного инсульта методами рентгеновской мультиспиральной компьютерной (МСКТ) и магнитно-резонансной томографии (МРТ). Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2012; (1): 43-53. doi.org/10.17802/2306-1278-2012-1-43-53

15. Chang CH, Chang TY, Chang YJ, Huang KL, Chin SC, Ryu SJ, et al. The role of perfusion computed tomography in the prediction of cerebral hyperperfusion syndrome. *PLoS ONE.* 2011; 6(5): 19886. doi:10.1371/journal.pone.0019886

16. Essig M, Shiroishi MS, Nguyen TB, Saake M, Provenzale JM, Enterline D, et al. Perfusion MRI: the five most frequently asked technical questions. *AJR Am J Roentgenol.* 2013; 200(1), 24-34. doi: 10.2214/AJR.12.9543

17. St Lawrence KS, Wang J. Effects of the apparent transverse relaxation time on cerebral blood flow measurements obtained by arterial spin labeling. *Magn Reson Med.* 2005; 53(2), 425-433. doi: 10.1002/mrm.20364

18. Sperling B, Lassen NA. Cerebral blood flow by SPECT in ischemic stroke. In: De Deyn PP, Dierckx RA, Alavi A, Pickut BA (eds.). *SPECT in neurology and psychiatry.* London: John Libbey; 1997; 299-305.

19. Лишманов Ю.Б., Чернов В.И. (ред.) Национальное руководство по радионуклидной диагностике. Т. 1. Томск: STT; 2010.

20. Трофимова Т.Н., Терновой С.К. (ред.). Лучевая диагностика и терапия заболеваний головы и шеи: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013.

REFERENCES

1. Alvis-Miranda HR, Milena Castellar-Leones S, Alcala-Cerra G, Rafael Moscote-Salazar L. Cerebral sinus venous thrombosis. *J Neurosci Rural Pract.* 2013; 4(4): 427-438. doi: 10.4103/0976-3147.120236

2. Tarulli A. *Neurology. A Clinician's Approach*. Cambridge University Press; 2010.
3. Makkat S, Stadnik T, Peeters E, Osteaux M. Pathogenesis of venous stroke: evaluation with diffusion- and perfusion-weighted MRI. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2003; 12(3): 132-136. doi: 10.1016/S1052-3057(03)00039-9
4. Saposnik G, Barinagarrementeria F, Brown RD Jr, Bushnell CD, Cucchiara B, Cushman M, et al. Diagnosis and management of cerebral venous thrombosis: A statement for healthcare professionals from the American heart association/american stroke association. *Stroke*. 2011; 42: 1158-1192. doi: 10.1161/STR.0b013e31820a8364
5. Semenov S, Moldavskaya I, Shatokhina M, Semenov A, Barbarash L. How to distinguish between venous and arterial strokes and why? *Neuroradiol J*. 2011; 24(2): 289-299. doi: 10.1177/197140091102400219
6. Wintermark M, Albers GW, Alexandrov AV, Alger JR, Bammer R, Baron JC, et al. Acute stroke imaging research roadmap. *Am J Neuroradiol*. 2008 29(5): 23-30. doi: 10.1161/STROKEAHA.107.512319
7. Koenig M, Kraus M, Theek C, Klotz E, Gehlen W, Heuser L. Quantitative assessment of the ischemic brain by means of perfusion-related parameters derived from perfusion CT. *Stroke*. 2001; 32(2): 431-437. doi.org/10.1161/01.STR.32.2.43
8. Hossmann KA. Viability thresholds and the penumbra of focal ischemia. *Ann. Neurol*. 1994; 36(4): 557-565. doi.org/10.1002/ana.410360404
9. Campbell BC, Christensen S, Levi CR, Desmond PM, Donnan GA, Davis SM, et al. Cerebral blood flow is the optimal CT perfusion parameter for assessing infarct core. *Stroke*. 2011; 42(12): 3435-3440. doi: 10.1161/STROKEA-HA.111.618355
10. Sorensen AG, Copen WA, Ostergaard L, Buonanno FS, Gonzalez RG, Rordorf G, et al. Hyperacute stroke: simultaneous measurement of relative cerebral blood volume, relative cerebral blood flow, and mean tissue transit time. *Radiology*. 1999; 210(2): 519-527. doi: 10.1148/radiology.210.2.r99fe06519
11. Semenov S, Portnov Yu, Semenov A, Korotkevich A, Kokov A. Neuroimaging patterns of cerebral hyperperfusion. *Journal of Physics: IOP Conf. Series*. 2017; 886: 012014. doi:10.1088/1742-6596/886/1/012014
12. Doucet C, Roncarolo F, Tampieri D, Del Pilar Cortes M. Paradoxically decreased mean transit time in patients presenting with acute stroke. *J Comput Assist Tomogr*. 2016; 40(3): 409-412. doi: 10.1097/RCT.0000000000000366
13. Fukuda T, Ogasawara K, Kobayashi M, Komoribayashi N, Endo H, Inoue T, et al. Prediction of cerebral hyperperfusion after carotid endarterectomy using cerebral blood volume measured by perfusion-weighted MR imaging compared with single-photon emission CT. *Am J Neuroradiol*. 2007; 28(4): 737-742.
14. Semenov SE, Kovalenko AV, Khromov AA, Moldavskaya IV, Khromova AN, Zhuchkova EA, et al. Non-haemorrhagic venous stroke diagnosis criteria by multislice computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI). *Kompleksnye problemy serdechno-sosudistyykh zabolevaniy*. 2012; (1): 43-53. (In Russ.) doi: 10.17802/2306-1278-2012-1-43-53
15. Chang CH, Chang TY, Chang YJ, Huang KL, Chin SC, Ryu SJ, et al. The role of perfusion computed tomography in the prediction of cerebral hyperperfusion syndrome. *PLoS ONE*. 2011; 6(5): 19886. doi:10.1371/journal.pone.0019886
16. Essig M, Shiroishi MS, Nguyen TB, Saake M, Provenzale JM, Enterline D, et al. Perfusion MRI: the five most frequently asked technical questions. *AJR Am J Roentgenol*. 2013; 200(1), 24-34. doi: 10.2214/AJR.12.9543
17. St Lawrence KS, Wang J. Effects of the apparent transverse relaxation time on cerebral blood flow measurements obtained by arterial spin labeling. *Magn Reson Med*. 2005; 53(2), 425-433. doi: 10.1002/mrm.20364
18. Sperling B, Lassen NA. Cerebral blood flow by SPECT in ischemic stroke. In: De Deyn PP, Dierckx RA, Alavi A, Pickut BA (eds.). *SPECT in neurology and psychiatry*. London: John Libbey; 1997; 299-305.
19. Lishmanov YuB, Chernov VI. (eds.) *National guidelines on radionuclide diagnostics*. Vol. 1. Tomsk: STT; 2010. (In Russ.)
20. Trofimova TN, Ternovoy TN (eds.) *Radiation diagnostics and therapy of head and neck diseases: the national guidelines*. M.: GEOTAR; 2013. (In Russ.)

Сведения об авторе

Семенов Станислав Евгеньевич – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории рентгеновской и томографической диагностики, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», e-mail: dr_semenov_s@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1827-606X>

Information about the author

Stanislav E. Semenov – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer of Roentgen and Tomographic Laboratory, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, e-mail: dr_semenov_s@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1827-606X>

Статья получена: 14.05.2018. Статья принята: 12.04.2019. Статья опубликована: 26.06.2019.
Received: 14.05.2018. Accepted: 12.04.2019. Published: 26.06.2019.

ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ И ЮБИЛЕИ HISTORY OF MEDICINE AND ANNIVERSARIES



К юбилею ВАГРАМА ВАГАНОВИЧА АГАДЖАНЯНА

Заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук, профессор, академик РАЕН,
главный врач ГАУЗ КО «Областной клинический центр охраны здоровья шахтёров»
(ГАУЗ КО ОКЦОЗШ),
г. Ленинск-Кузнецкий, Россия

Ваграм Ваганович Агаджанян родился 8 августа 1949 г. в городе Ереване в семье врачей. В 1972 г. окончил Кемеровский государственный медицинский институт МЗ СССР по специальности «Лечебное дело». Общий стаж работы – 55 лет, врачебный стаж – 47 лет.

До 1989 г. – врач травматолог-ортопед Областной травматологической больницы г. Прокопьевска. Ваграм Ваганович принимал активное участие в оказании срочной медицинской помощи пострадавшим во время землетрясения в Спитаке и во всех массовых авариях на шахтах.

В 1989 г. избран на должность заместителя директора по научной работе Кузбасского НИИ травматологии и реабилитации г. Прокопьевска.

В 1979 г. защитил кандидатскую диссертацию, в 1988 г. – докторскую диссертацию. В 1999 г. присвоено учёное звание профессора по специальности «Травматология и ортопедия».

В августе 1993 г. был назначен на должность директора больничного комплекса, в 1994 г. переименованного в Государственный научно-клинический центр охраны здоровья шахтёров (ГНКЦОЗШ) и преобразованного в 2015 г. в ГАУЗ КО ОКЦОЗШ.

С 2015 г. – главный врач ГАУЗ КО «Областной клинический центр охраны здоровья шахтёров».

Двадцать пять лет Заслуженный врач РФ, доктор медицинских наук, профессор, академик РАЕН Ваграм Ваганович Агаджанян возглавляет центр. Под его руководством происходило становление и развитие этого крупнейшего многопрофильного учреждения Кузбасса.

В 1990-е годы в условиях экономической нестабильности, информационной и координационной разобщённости, благодаря редкому потенциалу энергии и профессионализму потомственного врача, администратора-стратега, тактика и практика одновременно, Ваграму Вагановичу Агаджаняну удалось не только сохранить центр, но и поднять его на ступень выше прошлых достижений. Опыт, приобретённый сотрудниками центра в те трудные годы, способность коллективного творчества и

стремление к совершенствованию во многом определяют и сегодняшние общепризнанные успехи центра.

Сегодня центр охраны здоровья шахтёров является ведущим в России лечебным, научным и учебным медицинским учреждением, где успешно воплощается передовой отечественный и зарубежный опыт работы по снижению заболеваемости среди жителей угледобывающих регионов.

За 25 лет пролечено 400 000 пациентов, выполнено 150 000 операций, в том числе 12 000 операций по высоким технологиям, зарегистрировано более 6 млн посещений в поликлиниках центра, из них свыше 2 млн шахтёров и 1,9 млн детей.

Благодаря социальным программам медицинскую помощь получили свыше 4000 ветеранов и пожилых людей, почти 5000 пенсионеров-шахтёров, 10 000 детей.

С 1993 г. происходило становление и развитие центра под руководством Агаджаняна Ваграма Вагановича. Кузбасс – это промышленный регион, где высока вероятность возникновения техногенных катастроф на угольно-добывающих предприятиях. В связи с этим оказание медицинской помощи пострадавшим с политравмой будет наиболее востребованной. В стратегическом плане развития центра В.В. Агаджаняном было решено, что основным направлением его работы будет интеграция специалистов различных медицинских специальностей. Сегодня травматологи-ортопеды, нейрохирурги, хирурги, реаниматологи и анестезиологи, а также специалисты других основных отделений при сложнейших операциях работают вместе. Под руководством Агаджаняна разработана система оказания специализированной медицинской помощи пострадавшим с политравмой по принципу «клиника – клиника».

На базе центра организованы бригады медицинской эвакуации, которые входят в состав региональной службы «Медицина катастроф». Врачи любого профиля в любое время суток и в любую точку области могут выехать для проведения интенсивной терапии и доставить тяжёлого больного в центр. При непосредственном участии и руководстве В.В. Агаджаняна сотрудники центра неоднократно принимали участие при ликвидации последствий крупных техногенных катастроф на шахтах, спасены тысячи жизней.

Вторым по важности направлением деятельности столь же дальновидно была определена проблема профессиональной патологии: для оказания помощи, в первую очередь, шахтёрам: в 1998 г. здесь создан профпатологический центр, где проводят раннюю диагностику и профилактику профессиональных заболеваний. И, наконец, перед коллективом центра поставлена задача проводить реабилитационные программы, восстанавливая здоровье населения после травм, инсультов, заболеваний опорно-двигательного аппарата и сердечно-сосудистой системы.

В центре используются передовые медицинские технологии, в том числе высокотехнологические по травматологии, ортопедии, нейрохирургии, акушерству-гинекологии. Ежегодно здесь получают медицинскую помощь свыше 20 000 шахтёров и около 9 000 детей, в стационаре лечится более 19 000 пациентов.

Внедрение инновационных технологий – это принцип работы всего коллектива. В.В. Агаджаняном была внедрена программа обеспечения качества медицинской помощи, организован отдел экспертизы качества лечения, разработана и внедрена система персонифицированного обеспечения пациентов лекарственными средствами, внутрибольничная медицинская информационно-аналитическая система, проводятся научные исследования по созданию отечественных биоразлагаемых наноструктурированных полимерных и нанокомпозиционных материалов и изделий для использования в общей и реконструктивно-пластической хирургии, травматологии и ортопедии. Под руководством учёных создано первое в России импортозамещающее производство рентген-контрастных операционных салфеток, разработана и внедрена в практику научно-обоснованная система «Безопасность пациентов» по профилактике внутрибольничных инфекций, а также внутрибольничная система «Госпитальная логистика» – система управления централизованными платформами для доставки питания, медикаментов, дезинфекционных средств, хозяйственных товаров в структурные подразделения клинического центра.

Ваграм Ваганович очень разноплановый человек, способный охватить взглядом, мыслью, проанализировать и проконтролировать всё, что необходимо для учреждения, его коллектива и всех наших пациентов.

В.В. Агаджаняном создана собственная школа сибирских травматологов-ортопедов, под его руководством защищены 9 докторских и 39 кандидатских диссертаций. Ваграм Ваганович является автором более 350 научных работ, в их числе 5 монографий, 2 учебно-методических пособия для преподавателей медицинских вузов. Основных журнальных статей – более 450, из них 100 опубликовано за рубежом.

Имеет свыше 40 авторских свидетельств на изобретения и 28 патентов РФ на изобретения. Автор 8 методических рекомендаций для врачей, утверждённых Минздравом СССР и РФ.

Результаты его работы оказали большое влияние на формирование и развитие научных направлений в Кузбассе.

Ваграм Ваганович Агаджанян – это настоящий бренд, научная школа и эпоха в российском здравоохранении. Благодаря тому, что во главе центра в своё время оказалась личность такого интеллектуального масштаба и такого сильного характера, центр не просто уверенно прошёл самые сложные 1990-е годы, сохранил сегодня лидирующие позиции в научно-практической и лечебной деятельности, но и создал огромный задел, чтобы завтра вести за собой национальные научные школы, укреплять единство науки и практики.

С 1994 г. центр осуществляет научно-исследовательскую программу, направленную на решение актуальных для Сибири медико-биологических проблем. Основными направлениями научных исследований центра являются вопросы организации системы мониторинга здоровья работников угольной промышленности, разработки новых методов диагностики и лечения политравм, заболеваний сердечно-сосудистой и бронхолёгочной систем, профессиональной патологии шахтёров.

Значимыми интеллектуальными доминантами центра являются десятки докторов и кандидатов наук – на базе центра подготовлены и защищены 13 докторских и 81 кандидатская диссертация, опубликовано 7 монографий, свыше 4 500 научных работ, получено 145 патентов РФ, разработаны и внедрены инновационные технологии диагностики и лечения.

В.В. Агаджанян – основатель (2005 г.) и главный редактор научно-практического рецензируемого журнала «Политравма», член диссертационного совета Д 084.43.01. по специальности «Травматология и ортопедия» при ФГБУ «Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» МЗ РФ, редакционных коллегий научно-практических журналов «Травматология и ортопедия России», «Медицинский алфавит», «Медицина в Кузбассе», «Хирургия позвоночника».

В 1998 г. организовал и осуществляет руководство кафедрой последипломного образования «Интегративной травматологии» ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России. С этого же года работает кафедра последипломного образования «Профпатология» ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России.

С 1996 г. по инициативе и под руководством Ваграма Вагановича организованы и проведены 21 Всероссийская научно-практическая конференция с участием иностранных специалистов на базе центра.

Открытие Кузбасского филиала ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Министерства здравоохранения Российской Федерации на базе центра ГАУЗ КО «Областной клинический центр охраны здоровья шахтёров» является новым этапом для реализации научно-исследовательских, профессиональных и образовательных программ для подготовки медицинских кадров.

По инициативе В.В. Агаджаняна создана и постоянно пополняется богатейшая библиотека.

Сочетая административную деятельность, врачебную практику и научную работу Ваграм Ваганович создаёт благоприятные условия для эффективной инновационной среды и профессионального уровня молодых врачей и медицинских работников. За 25 лет работы центра в его стенах сложилось много добрых традиций, в том числе традиция семейственности в общем деле служения медицине, которая передаётся из поколения в поколение. Всего в центре работают представители 26 трудовых династий, 12 из которых медицинские.

Активно занимается общественной деятельностью, пропагандируя достижения современной медицины на научных и общественных форумах, в средствах массовой информации, трудовых коллективах Кузбасса.

За высокие профессиональные достижения Ваграм Ваганович Агаджанян неоднократно был награждён правительственными, ведомственными и региональными наградами. Удостоен почётного звания Заслуженный врач РФ (2000 г.), Лауреат премии Кузбасса (1987 г.), за высокие достижения в научно-исследовательской, изобретательской, практической и организационной деятельности награждён медалью Н.Н. Приорова МЗ РФ (2001 г.), признан «Лучшим руководителем медицинского учреждения» на конкурсе «Лучший врач года–2001», отмечен медалью «За особый вклад в развитие Кузбасса» II, III степеней (2002, 2005 гг.), «Ветеран труда» (2003 г.), знаком «Шахтёрская слава» трёх степеней, знаком «Трудовая слава» III и II степени (2004, 2006 гг.), президиумом РАЕН награждён орденом «За пользу отечеству» им. В.Н. Татищева (2003 г.) и почётным знаком Академии за заслуги в развитии науки и экономики России (2005 г.), медалью «Родина и Братство» (2005 г.), Лауреат Международной

Премии «Профессия и жизнь» (2006 г.) в номинации «За достижения в области клинической медицины», награждён Орденом «За честь, Доблесть, Созидание, Милосердие», орденом «Доблесть Кузбасса». Награждён медалью «За содружество во имя спасения» (2008 г.), Почётный работник топливно-энергетического комплекса, Почётный гражданин Кемеровской области (2009 г.), медалью МЧС России «20 лет МЧС России» (2010 г.), Почётным знаком Совета народных депутатов КО (2014 г.), «Почётный шахтёр» (2015 г.), медалью «75 лет Кемеровской области» (2018 г.), Почётным знаком Федеральной службы по интеллектуальной собственности (РОСПАТЕНТ) (2018 г.).

Формат 60×84/8. Бумага офсетная. Сдано в набор 18.06.2019. Подписано в печать 26.06.2019.
Печ. л. 19. Усл. печ. л. 17,7. Уч. изд. л. 16,3. Зак. 030-19. Тир. 500.

РИО ИНЦХТ
(664003, Иркутск, ул. Борцов Революции, 1. Тел. 29-03-37, 29-03-70. E-mail: arleon58@gmail.com)

