

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

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

2019

Mon 4

Nº 5

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

18+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Том 4

№5

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., профессор (Россия, Иркутск)

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

Редакционный совет

Агаджанян В.В., д.м.н., профессор (Россия, Ленинск-Кузнецкий); 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); Белокриницкая Т.Е., д.м.н., профессор (Россия, Чита), Бохан Н.А., академик РАН (Россия, Томск); Данчинова Г.А., д.б.н. (Россия, Иркутск); Дзятковская Е.Н., д.б.н.. профессор (Россия, Москва); Дубровина В.И., д.б.н. (Россия, Иркутск); Дыгай А.М. академик РАН (Россия, Томск); Колосов В.П., академик РАН (Россия, Благовещенск); Константинов Ю.М., д.б.н., профессор (Россия, Иркутск); Кожевников В.В., д.м.н., профессор (Россия, Улан-Удэ); Мазуцава Т., доктор наук, профессор (Япония, Чиба); Макаров Л.М., д.м.н., профессор (Россия, Москва); Малышев В.В., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск); Манчук В.Т., член-корр. РАН (Россия, Красноярск); Огарков О.Б., д.м.н. (Россия, Иркутск); 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); Прохоренко В.М., д.м.н., профессор (Россия, Новосибирск); Савченков М.Ф., академик РАН (Россия, Иркутск); Салеев Р.К., член-корр. РАН (Россия, Иркутск); Сутуриной 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 издателя и 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.

Соучредители – 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. 59А).

Журнал включен в Реферативный журнал и базу данных ВИНИТИ. 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 результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук».

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

Подписной индекс 24347. Цена издания свободная.

ISSN 2541-9420 (Print)

ISSN 2587-9596 (Online)

Ключевое название: *Acta Biomedica Scientifica*

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

18+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Vol. 4

N5

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)

Iureva T.N., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)

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

Editorial Council

Agadzhanyan V.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Leninsk-Kuznetskiy); 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); Prokhortchenko V.M., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Novosibirsk); Savchenkov M.F., Academician of RAS (Russia, Irkutsk); Salyajev R.K., Corresponding Member of RAS (Russia, Irkutsk); Suturina 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); Epshtain 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 publisher and editorial board: SC FHHRP. 16 Timiryazev str., Irkutsk, Russia, 664003

Tel. (3952) 20-90-48.

<http://actabiomedica.ru> E-mail: journalirk@gmail.com

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

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

Acta Biomedica Scientifica has been founded in 1993.

Co-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. Free price.

ISSN (Print) 2541-9420

ISSN (Online) 2587-9596

Key title: Acta Biomedica Scientifica

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

Вертикальные роды как метод профилактики акушерских и перинатальных осложнений. *Мочалова М.Н., Новокшанова С.В., Мудров В.А.*

Vertical Delivery as a Method of Prevention of Obstetric and Perinatal Complications. *Mochalova M.N., Novokshanova S.V., Mudrov V.A.*

БИОХИМИЯ

Образование индолилуксусной кислоты энтеробактериями, патогенными для человека. *Турская А.Л., Беловежец Л.А., Путилина Т.Е., Быбин В.А., Духанина А.В., Маркова Ю.А.*

Formation of Indoleacetic Acid by Enterbacteria Pathogenic for Human. *Turskaya A.L., Belovezhets L.A., Putilina T.E., Bybin V.A., Dukhanina A.V., Markova Yu.A.*

ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ

Сравнение эндоскопической картины при осложнениях со стороны верхних отделов желудочно-кишечного тракта, вызванных приёмом антитромботических средств и нестероидных противовоспалительных препаратов. *Мороз Е.В., Каратеев А.Е., Крюков Е.В., Соколов А.А., Артемкин Э.Н.*

Comparison of the Endoscopic Picture in Case of Complications of the upper Gastrointestinal Tract Caused by the Use of Antithrombotic Agents and Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Moroz E.V., Karateev A.E., Kryukov E.V., Sokolov A.A., Artemkin E.N.*

Эмпирическая терапия осложнённого пиелонефрита. *Белобородов В.А., Воробьев В.А., Опанасюк П.В.*

Empirical Therapy of Complicated Pyelonephritis. *Beloborodov V.A., Vorobev V.A., Opanasyuk P.V.*

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

Оценка эффективности вакцинации населения против чумы в Тувинском природном очаге. *Корытов К.М., Войткова В.В., Дубровина В.И., Пятидесятникова А.Б., Носков А.К., Глушкин Э.А., Акимова И.С., Ондар Н.В., Салчак Л.К., Монгуш О.С., Дажикай А.Д., Сайды А.А., Ортеней Ю.К., Балахонов С.В.*

Efficiency of Human Plague Vaccination in Tuvian Natural Plague Focus. *Korytov K.M., Voitkova V.V., Dubrovina V.I., Pyatidesyatnikova A.B., Noskov A.K., Glushkov E.A., Akimova I.S., Ondar N.V., Salchak L.K., Mongush O.S., Saydy A.A., Orteney Yu.K., Balakhonov S.V.*

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

Бактериальные биоплёнки при гнойно-септических инфекциях. *Савилов Е.Д., Анганова Е.В., Носкова О.А., Духанина А.В.*

Bacteria Biofilms in Purulent-Septic Infections. *Savilov E.D., Anganova E.V., Noskova O.A., Dukhanina A.V.*

Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Bacillus anthracis*, выделенных во время вспышек сибирской язвы в Казахстане в 2016 г. *Избанова У.А., Лухнова Л.Ю., Мека-Меченко Т.В., Сансызаев Е.Б., Каиржанова А.Д., Шевдюк В.Б., Бегимбаева Э.Ж., Сущих В.Ю., Шевцов А.Б.*

Biological Properties and Molecular Genetic Characteristics of *Bacillus Anthracis* Strains Isolated During Anthrax Outbreaks in Kazakhstan in 2016. *Izbanova U.A., Lukhnova L.Yu., Meka-Mechenko T.V., Sansyzaev E.B., Kairzhanova A.D., Shvedyuk V.B., Begimbayeva E.Zh., Sushchih V.Yu., Shevtsov A.B.*

Modulation of Streptomycin Killing Rate against Mature *Escherichia Coli* Biofilms in the Presence of Medicinal Plant Extracts. *Samoilova Z.Y., Smirnova G.V., Oktyabrsky O.N.*

Изменение скорости бактерицидного эффекта стрептомицина при действии на зрелые биоплёнки *Escherichia coli* в присутствии экстрактов лекарственных растений. *Самойлова З.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н.*

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ

Динамика активности MAP-киназных каскадов в процессе заживления послеоперационной кожно-мышечной раны. *Шурыгина И.А., Уманец В.А., Шурыгин М.Г.*

Dynamics of the Activity of MAP-Kinase Cascades in the Healing Process of Postoperative Musculocutaneous Wounds. *Shurygina I.A., Umanets V.A., Shurygin M.G.*

ПЕДИАТРИЯ

Особенности пищевой гиперчувствительности у детей с расстройством аутистического спектра. *Худякова М.И., Черевко Н.А., Скирневская А.В., Розенштейн М.Ю., Розенштейн А.З., Кондаков С.Э., Березовская К.В.*

Features of Food Hypersensitivity in Children with Autism Spectrum Disorder. *Khudiakova M.I., Cherevko N.A., Skirnevskaia A.V., Khudiakova M.I., Rozenshtein M.Yu., Rozenshtein A.Z., Kondakov S.E., Berezovskaia K.V.*

ПСИХОЛОГИЯ И ПСИХИАТРИЯ

Уровень стрессового напряжения у школьников с нарушением носового дыхания и коморбидными рас-

PSYCHOLOGY AND PSYCHIATRY

Level of Stress in Students with the Disturbance of Nasal Breathing and Comorbid Disorders. *Evert L.S., Ignat-*

стройствами. Эверт Л.С., Игнатова И.А., Зайцева О.И., Шилов С.Н., Лисова Н.А.	68	tova I.A., Zaitseva O.I., Shilov S.N., Lisova N.A.
ФТИЗИАТРИЯ		
Особенности эпидемического процесса туберкулёза на территории с высокой распространённостью ВИЧ-инфекции. Шугаева С.Н., Савилов Е.Д., Кошкина О.Г., Сузdalnitskiy A.E., Чемезова Н.Н.	73	Features of Epidemic Process of Tuberculosis in the Territory with High Prevalence of HIV Infection. Shugaeva S.N., Savilov E.D., Koshkina O.G., Suzdalnitskiy A.E., Chemezova N.N.
ХИРУРГИЯ		
Динамика матриксных металлопротеиназ при местной холодовой травме. Михайличенко М.И., Шаповалов К.Г., Мудров В.А., Груздева О.С.	79	Dynamics of Matrix Metalloproteinases in Local Cold Injury. Mikhailichenko M.I., Shapovalov K.G., Mudrov V.A., Gruzdeva O.S.
Оценка состояния клеточных мембран на фоне длительного применения антицитокиновой терапии у пациентов с язвенным колитом. Чашкова Е.Ю., Коротаева Н.С., Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г., Соболева Э.В.	84	Assessment of the State of Cell Membranes against the Background of Prolonged Use of Anticytokine Therapy in Patients with Ulcerative Colitis. Chashkova E.Yu., Kortayeva N.S., Kuznetsova E.E., Gorokhova V.G., Soboleva E.V.
Послеоперационные кардиальные ишемические осложнения у больных раком лёгкого. Большецорская О.А., Протасов К.В., Батореев Ю.К., Улыбин П.С., Дворниченко В.В.	91	Postoperative Cardiac Ischemic Complications in Lung Cancer Patients. Bolshedvorskaya O.A., Protasov K.V., Batoroyev Yu.K., Ulybin P.S., Dvornichenko V.V.
Роль факторов роста при спаечном процессе в брюшной полости. Дремина Н.Н., Шурыгин М.Г., Чепурных Е.Е., Шурыгина И.А.	98	Role of Growth Factors in the Adhesive Process in the Abdominal Cavity. Dremina N.N., Shurygin M.G., Chepurnikh E.E., Shurygina I.A.
Спорные вопросы этиологии и патогенеза третичного гиперпаратиреоза. Берсенев Г.А., Ильичёва Е.А., Булгатов Д.А.	104	Disputable Issues of Etiology and Pathogenesis of Tertiary Hyperparathyroidism. Bersenev G.A., Ilyicheva E.A., Bulgatov D.A.
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ		
Оптимизация методики количественной ОТ-ПЦР для оценки концентрации геномной +РНК вируса клещевого энцефалита. Ляпунова Н.А., Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А.	116	Optimization of a Quantitative Real-Time RT-PCR Technique for Evaluation of Concentration of Genomic +RNA of Tick-Borne Encephalitis Virus. Liapunova N.A., Khasnatinov M.A., Danchinova G.A.
ЭПИДЕМИОЛОГИЯ		
Микробиологический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за гнойно-септическими инфекциями в детском многопрофильном стационаре. Носкова О.А., Агапова Е.Д., Батурина Е.А., Гвак Г.В.	122	Microbiological Monitoring in the System of Epidemiological Surveillance of Purulent-Septic Infections in a Multidisciplinary Hospital. Noskova O.A., Agapova E.D., Baturina E.A., Gvak G.V.
Сибирская язва в Восточно-Казахстанской области. Лухнова Л.Ю., Ерубаев Т.К., Избанова У.А., Мека-Меченко Т.В., Сансызыбаев Е.Б., Кирьянова Ю.С., Илюбаев Ж.Ж., Суцих В.Ю., Садовская В.П., Шевцов А.Б.	127	Anthrax in the East Kazakhstan Region. Lukhnova L.Yu., Erubaev T.K., Izbanova U.A., Meka-Mechenko T.V., Sansyzbaev E.B., Kiryanova Yu.S., Ilyubaev Kh.Zh., Sushchikh V.Yu., Sadovskaya V.P., Shevtsov A.B.
СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ		
Анализ клинического случая соматоформного болевого расстройства позднего возраста с алгиями челюстно-лицевой области как пример необоснованности стоматологических вмешательств. Шестакова Р.А., Воронина Е.О., Гончарова С.А., Антропова Е.А.	135	Clinical Analysis of Late Age Somatoform Algic Disorder Case Following with Pain in Maxillofacial Area: Example of Dental Treatment Groundlessness. Shestakova R.A., Voronina E.O., Goncharova S.A., Antropova E.A.
КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ		
Морфологические, физиологические и генетические особенности популяций основного носителя чумы <i>Rhombomys opimus</i> Licht., 1823 в Центрально-Азиатском пустынном природном очаге чумы. Нуртазин С.Т., Шевцов А., Лутсай В., Раманкулов Е.М., Саякова З.З., Абдирасилова А.А., Жунусова А.С., Кабышева Н.П., Рысбекова А.К., Садовская В.П., Есжанов А.Б., Утепова И.Б., Бердабеков А.Т., Кулемин М.В., Катуова Ж.У., Атшабар Б.Б.	139	Morphological, Physiological and Genetic Characteristics of Populations of the Main Plague Host <i>Rhombomys opimus</i> Licht., 1823 in the Central Asian Desert Natural Focus of Plague. Nurtazin S.T., Shevtsov A., Lutsay V., Ramankulov E.M., Sayakova Z.Z., Abdirasilova A.A., Zhunussova A.S., Kabysheva N.P., Rysbekova A.K., Sadovskaya V.P., Yeszhanov A.B., Utepova I.B., Berdibekov A.T., Kulemin M.V., Katuova Zh.U., Atshabar B.B.
PHTHISIOLOGY		
SURGERY		
EXPERIMENTAL RESEARCHES		
EPIDEMIOLOGY		
CASE REPORTS		
BRIEF REPORTS		

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.5.1

Вертикальные роды как метод профилактики акушерских и перинатальных осложнений

Мочалова М.Н., Новокшанова С.В., Мудров В.А.

ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (672090, г. Чита, ул. Горького, 39А, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Новокшанова Светлана Витальевна, e-mail: sveta999.13.ru@yandex.ru

Резюме

В настоящее время существует большое количество мнений относительно правильности ведения физиологических родов, в частности это касается положения женщины в интранатальном периоде. Тактика современного акушерства должна обеспечивать безопасность материнства, что в перспективе обеспечивает процветание государства. Одним из альтернативных методов ведения родов является вертикальное положение женщины в интранатальном периоде. Весь спектр возможных положений женщины в интранатальном периоде описать невозможно, однако к распространённым относят положение лёжа (боковое, полулёжа, позиция липотомии, положение Тренделенбурга и т. д.) и вертикальное положение (сидя, с использованием стула для родов, стоя, стоя на корточках, стоя на коленях и т. д.). Мнение о том, как на исход родов влияет вертикальное положение матери в интранатальном периоде, весьма неоднозначно. Имеющиеся выводы авторов в этой области часто противоречат друг другу.

Целью исследования явилось изучение роли вертикальных родов в снижении частоты акушерских и перинатальных осложнений.

Материалы: литературные данные зарубежных и отечественных авторов за период с 1989 по 2017 годы.
Методы: систематический анализ и обобщение литературных данных.

Заключение. Несмотря на значительное количество исследований, определить универсальность вертикального положения в родах не представляется возможным, поэтому к отбору пациенток для ведения вертикальных родов следует подходить обдуманно. При наличии осложнений беременности следует отдать предпочтение классическим вариантам положения в родах. У женщин, имеющих низкий риск перинатальных осложнений, вертикальное положение может стать достойной альтернативой. Для профилактики развития кровотечения в III периоде родов и раннем послеродовом периоде женщине следует принять горизонтальное положение после рождения плода. Данное условие также необходимо соблюдать при осмотре родовых путей. Таким образом, рациональная тактика ведения родов заключается в определении оптимальной комбинации вертикального и горизонтального положений в различные периоды процесса родов с учётом удобства для самой роженицы.

Ключевые слова: роды, положение, травматизм, болевой синдром, осложнение родов, состояние плода

Для цитирования: Мочалова М.Н., Новокшанова С.В., Мудров В.А. Вертикальные роды как метод профилактики акушерских и перинатальных осложнений. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 7–13. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.1

Vertical Delivery as a Method of Prevention of Obstetric and Perinatal Complications

Mochalova M.N., Novokshanova S.V., Mudrov V.A.

Chita State Medical Academy (Gorkogo str. 39A, 672090 Chita, Russian Federation)

Corresponding author: Svetlana V. Novokshanova, e-mail: sveta999.13.ru@yandex.ru

Abstract

Currently, there are many points of view on management of physiological labor, in particular, it concerns the intrapartum position of a woman. Tactics of modern obstetrics should ensure the safety of motherhood, which in future ensures the prosperity of the state. One of the alternative methods of delivery is the vertical position of a woman in the intrapartum period. It is impossible to describe the whole range of possible positions of a woman in the intrapartum period, the common ones being: lying position (lateral, reclining, lithotomy, Trendelenburg's, etc.) or upright position (sitting, using a chair for childbirth, standing, squatting, standing on the knees, etc.). Opinions about how the vertical position of a mother in the intrapartum period affects the outcome of childbirth are quite ambiguous. The conclusions of various authors on that matter often contradict each other.

The aim of the research was to study the role of vertical delivery in reducing the frequency of obstetric and perinatal complications.

Materials: publications of foreign and domestic authors within the period from 1989 to 2017.

Methods: systematic analysis and synthesis of literature data.

Conclusion: Despite a significant number of studies, it is not possible to determine the universality of the vertical position in childbirth, therefore, the selection of patients for the management of vertical childbirth should be approached carefully. In the presence of pregnancy complications, preference should be given to the classic version of the position in childbirth. In women who have a low risk of perinatal complications, an upright position can be a worthy alternative. To prevent the development of bleeding in the III stage of labor and the early postpartum period, a woman should take a horizontal position after the birth of the fetus. This condition must also be observed when examining the birth canal. Thus, the rational tactics of conducting childbirth is to determine the optimal combination of vertical and horizontal positions at different periods of the childbirth process, taking into account the convenience for the woman in labor.

Key words: childbirth, position, injuries, pain syndrome, birth complications, fetal condition

For citation: Mochalova M.N., Novokshanova S.V., Mudrov V.A. Vertical delivery as a method of prevention of obstetric and perinatal complications. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 7–13. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.1

ВВЕДЕНИЕ

Роды являются важным этапом в жизни каждой женщины и её будущего ребёнка. Тактика современного акушерства должна обеспечивать безопасность материнства, что в перспективе гарантирует процветание государства. За последние три столетия классическим положением в родах принято считать горизонтальное, и изменить предпочтение акушеров-гинекологов в рамках выбора положения в интранатальном периоде достаточно проблематично. Альтернативные методы ведения родов воспринимаются медицинской общественностью не всегда позитивно [1].

Согласно федеральному протоколу медицинской помощи, при одноглодных родах в затылочном предлежании (без осложнений) и послеродовом периоде «рождение ребёнка может происходить в любом положении, которое выбрала сама женщина». Между тем, предрассудки врачей ограничивают женщину в праве выбора удобного для неё положения. Таким образом, сложная и противоречивая структура доверительных отношений в системе общественного здравоохранения ставит пациента в крайне уязвимое положение перед врачами, обладающими устоявшимися профессиональными знаниями [2].

В современном обществе имеется острая необходимость повышения уровня осведомлённости женского населения в вопросах, касающихся родовспоможения (информация должна быть предоставлена в понятной форме и раскрыта в полной мере): о методах обезболивания во время родов (положительных и отрицательных последствиях медикаментозного обезболивания), возможных альтернативных немедикаментозных методах самообезболивания в родах; о возможных позициях во время консервативного родоразрешения; о положительных и отрицательных сторонах различных позиций в родах. Подобные беседы должны проводиться квалифицированными специалистами. В современном акушерстве активно позиционируется психопрофилактическая подготовка к родам с помощью курсов «Школа матери», на которых частично раскрываются актуальные вопросы процесса родоразрешения, но, к сожалению, посещение данных курсов не является обязательным. Данные занятия позволяют комплексно воздействовать на нормализацию психоэмоционального состояния во время беременности. На сроках 35–36 недель целесообразно проведение экскурсий по родовспомогательным учреждениям, индивидуальных занятий по методам подготовки к родам. Подобного рода консультации необходимо проводить на всех уровнях наблюдения за беременными: в женских консультациях, отделениях патологии беременности в группах беременных с отягощённым акушерско-гинекологическим анамнезом [3]. Учитывая возможности технического прогресса, информацию следует доносить

с учётом социальных потребностей женщин. Одним из популярных методов предоставления информации могут стать социальные сети, так как информация, доступная на просторах интернета, распространяется более активно, чем информационный поток в специализированных учреждениях и журналах [4, 5].

Общественность должна знать, что для профилактики акушерских и перинатальных осложнений существует альтернативный вариант ведения интранатального периода. При этом врачам не следует забывать о факторах риска, которые необходимо учесть при выборе положения женщины в интранатальном периоде. Поэтому имеется необходимость систематизации и отбора пациенток для родоразрешения в вертикальном положении, что позволит предупредить такие осложнения родов, как дистоция плечиков плода, аномалии родовой деятельности, травматизм матери и плода.

АНАЛИЗ ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ ЗАРУБЕЖНЫХ И ОТЕЧЕСТВЕННЫХ АВТОРОВ

Одним из альтернативных методов ведения родов является вертикальное положение женщины в интранатальном периоде. Весь спектр возможных положений женщины в интранатальном периоде описать невозможно, к распространённым относят: положение лёжа (боковое, полулёжа, литотомии, Тренделенбурга и т. д.) или вертикальное положение (сидя, с использованием стула для родов, стоя, стоя на корточках, стоя на коленях и т. д.) [6]. Мнение о том, как на исход родов влияет вертикальное положение матери в интранатальном периоде, весьма неоднозначно. Имеющиеся выводы авторов в этой области часто противоречат друг другу [1, 5, 7].

В древности полагали, что вертикальное положение облегчает продвижение головки плода по родовому каналу. По мнению T. Joyce et al., данное положение может повысить эффективность потуг и снизить утомляемость матери и плода [7]. Следует отметить, что в национальных традициях некоторых народов, к примеру, Китая, Голландии, Бразилии, Туркмении, вертикальная позиция в родах принята с давних времён и частично существует до настоящего времени [8].

Согласно данным Л.Р. Миникаевой с соавт., вертикальная поза представляет собой наиболее физиологичный вариант течения родов, так как предотвращает аортоковальный синдром, обеспечивает «мягкое» поступательное движение головки по родовому каналу матери, что предотвращает развитие тяжёлых травм родовых путей [9].

Если взять во внимание биомеханизм родов и функциональные особенности мозжечка плода во время родового акта, то можно выяснить, что на продвижение головки плода по родовому каналу влияют такие факто-

ры, как анатомо-статические и анатомо-динамические. К анатомо-статическим факторам относятся: форма и размеры таза; наличие сырovidной смазки; околоплодные воды; форма и величина головки плода. Что касается анатомо-динамических факторов, то к ним можно отнести сократительную активность матки, а также поступательные движения плода [10]. Также к этим факторам можно отнести связочный аппарат матки и мускулатуру малого таза. Соответственно, в горизонтальном положении в родовом акте не могут участвовать некоторые мышцы малого таза, что в свою очередь приводит к недостаточно продуктивной работе женщины во время второго периода родов [11].

Основная цель оказания помощи во время нормальных родов – обеспечение безопасности для женщины и ребёнка при минимальном вмешательстве в физиологический процесс, включая латентную fazу родов. Рекомендации Федерального протокола «Оказание медицинской помощи при однoplодных родах в затылочном предлежании (без осложнений) и в послеродовом периоде» могут соблюдаться и при вертикальных родах.

Междутем к трудностям при вертикальном родоразрешении можно отнести: сложности при осуществлении экстренного внутривенного доступа при возникновении необходимости проведения медикаментозной терапии, а также при выполнении некоторых медицинских операций и манипуляций (амниотомия, эпизиотомия), защиты промежности [5, 12, 13]. Однако из данной ситуации имеется достаточно простой выход: при поступлении роженицы в родовой блок должен быть осуществлён внутривенный доступ с помощью катетера, что облегчит оказание медицинской помощи при возникновении экстренной ситуации. Согласно протоколу ведения физиологических родов, в настоящее время ВОЗ ограничила использование рассечения промежности в родах. Эпизиотомия выполняется при осложнённых вагинальных родах (тазовое предлежание, дистоция плечиков плода, наложение щипцов, вакуум-экстракция плода); рубцовых изменениях гениталий в результате женского обрезания или плохо заживших разрывах третьей и четвертой степени; дистрессе плода. В родах не следует выполнять рутинную эпизио-, перинеотомию. Понятия «угроза разрыва промежности», «высокая промежность» как показания для проведения вмешательства в современном акушерстве отсутствуют. Понятие «риgidная промежность» предполагает препятствие для продвижения (рождения) головки в течение 1 часа и более. Поэтому в данной ситуации вертикальные роды позволят предупредить рутинное использование хирургической защиты промежности. Амниотомию следует выполнять на функциональном акушерском кресле, позволяющем придать полувертикальное положение женщины, что предупредит выпадение мелких частей плода и пуповины при излитии вод за счёт прижатой головки плода.

В первом периоде родов вертикальное положение способствует уменьшению болевого синдрома, при этом снижается продолжительность родов, длительность первого периода сокращается в среднем на 1,5–2 часа. Однако данный факт свидетельствует о том, что головка плода более бережно проходит через все плоскости малого таза, при этом подчиняясь законам физики и стереометрическим ощущениям плода. Согласно исследованию С.Л. Воскресенского, наблюдения за характе-

ром болей у рожениц в I периоде родов показали, что в вертикальной позе при активных движениях роженицы давление плодного пузыря и головки плода на receptorный аппарат нижнего маточного сегмента и шейки матки вызывает эффективное, плавное и быстрое открытие маточного зева [14].

Согласно данным S.L. Roberts и M. Golara, вертикальное положение сопровождается низкой потребностью в анальгезии [15, 16, 17]. С одной стороны, эпидуральная анальгезия считается безопасной и эффективной процедурой, с другой – приводит к снижению двигательной активности матери во время родов, являясь, таким образом, фактором риска формирования разгибательных вставлений головки плода [18, 19]. Медикаментозное обезболивание вертикальных родов может достигаться за счёт применения растворов анестетиков в минимальной концентрации, достаточной для получения анальгетического эффекта (феномен дифференцированного блока).

При гиподинамии женщины в интранатальном периоде увеличивается длительность первого и второго периода родов, повышается потребность в анальгезии, увеличиваются риск послеродового кровотечения, общий объём кровопотери, частота оперативных влагалищных родов и разрывов промежности 3-й и 4-й степени [16, 20]. В вертикальном положении, благодаря отклонению копчика, за счёт давления головки плода, продвигающейся по родовому каналу не только вследствие активной потужной деятельности, но и вследствие силы тяжести увеличивается площадь сечения выхода из малого таза, что предупреждает развитие родового травматизма [1]. Исследования S. Grizzo et al. свидетельствуют о значительном снижении продолжительности как первого, так и второго периода родов при альтернативных положения женщины в родах. Автор также указывает на благоприятное влияние силы тяжести на сократительную деятельность матки, снижение риска травматизации плода и родовых путей матери [1, 14, 17]. Согласно исследованию A. Lawrence, за счёт вертикального положения женщины в интранатальном периоде наблюдается постепенное расширение области вульварного кольца за счёт поступательных движений головки плода, что сопровождается снижением частоты анатомических и функциональных повреждений промежности. Чем же объясняется укорочение интранатального периода? С физиологической точки зрения сила гравитации, действующая на плод в полости матки, предотвращает «возвратное» движение головки плода по родовому каналу после схватки, что зачастую наблюдается при положении роженицы лёжа на спине до момента прорезывания головки. Более устойчивая фиксация нижних конечностей роженицы при вертикальном положении способствует релаксации мышц тазового дна [9, 15]. Во время потуг при вертикальном положении достигается оптимальная координация в работе мышц брюшного пресса, спины и тазового дна. В результате такой физиологической координации сводится к минимуму необходимое для изгнания плода мышечное напряжение, а соответственно, и потребление кислорода [17, 18]. Согласно федеральным клиническим рекомендациям, при ведении физиологических родов нет необходимости в предотвращении разгибания головки плода. Между тем, главной задачей акушерки является защита промежности, так как это напрямую свидетельствует о качестве её работы. При вертикальном положении жен-

щины в период изгнания плода оказать противодействие разгибанию головки не представляется возможным [19].

Другим сложным вопросом является возможность оказания пособий при развитии дистоции плечиков плода. Согласно федеральным клиническим рекомендациям, алгоритм Helper при безэффективности действий врача в положении роженицы лёжа предусматривает перевод женщины в коленно-локтевую позу, при этом за счёт подвижности крестцово-подвздошных суставов увеличивается прямой размер плоскости входа в малый таз на 2 см, что способствует разрешению данного осложнения родов. При вертикальных родах переход женщины в коленно-локтевую позу осуществляется путём простого наклона вперёд и не требует кардинального изменения положения, являющегося также в перспективе фактором риска родовой травмы.

Между тем ряд авторов указывают на отсутствие статистически значимых различий при родоразрешении женщин в горизонтальном и вертикальном положениях (табл. 1) [9].

Согласно данным Н.А. Жаркина, при сравнительной оценке большинства параметров исследуемых групп не наблюдается существенной разницы. Однако отсутствие травм шейки матки и меньшее количество травм родовых путей при вертикальном положении роженицы всё же обращают на себя внимание.

Профессор Л.А. Озолиня, напротив, указывает на наличие статистически значимых различий в структуре осложнений родов (табл. 2) [1].

Не менее актуальной является проблема аорто-кавальнойной компрессии. Синдром аорто-кавальнойной компрессии у женщин во время родов характеризуется развитием гемодинамических сдвигов в маточно-плацентарном кровотоке, что негативно сказывается на гомеостазе плода и всегда регистрируется при проведении кардиотокографии. При вертикальном положении в родах отмечается повышение уровня PaO_2 в 1,3 раза, SO_2 – в 1,2 раза, снижение PaCO_2 в 1,1 раза, лактата – в 1,3 раза, в сравнении с роженицами, которые выбрали горизонтальное положение в родах [21]. При горизонтальном положении также отмечается уменьшение величины венозного возврата крови во время каждой схватки и потуги, а также снижение (на 20–30 %) величины сердечного выброса и, соответственно, адекватного кровоснабжения матки и оксигенации плода. Вертикальная позиция женщины в родах не только уменьшает давление беременной матки на крупные кривеносные сосуды, но и позволяет сохранять естественное движение крови по кровеносным сосудам, предотвращая ишемию, в том числе нижних конечностей [14, 22].

Частота аномалий сократительной деятельности матки также снижена при вертикальном положении женщины в интранатальном периоде (табл. 3) [1].

Сравнительная характеристика осложнений при горизонтальном и вертикальном положениях женщины в родах (согласно Н.А. Жаркину с соавт.) [9]

Comparative characteristics of complications with horizontal and vertical positions of women in childbirth (according to N.A. Zharkin et al.) [9]

Показатели (n = 100)	Горизонтальное положение (%)	Вертикальное положение (%)
Разрыв промежности 1-й степени	10	9
Разрыв промежности 2-й степени	0	0
Разрыв промежности 3-й степени	0	0
Разрыв шейки матки 1-й степени	9	0*
Разрыв шейки матки 2-й степени	1	0
Разрыв шейки матки 3-й степени	0	0
Травмы мягких тканей родовых путей	38	28*
Наличие патологии пуповины	37	31
Травмы плода	1	1
Ручное обследование полости матки	6	8
Асфиксия плода лёгкой степени	1	2
Асфиксия плода средней степени	0	1

Примечание. * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

Сравнительная характеристика осложнений при горизонтальном и вертикальном положениях женщины в родах (согласно Л.А. Озолиня с соавт.) [1]

Comparative characteristics of complications with horizontal and vertical positions of women in childbirth (according to L.A. Ozolinya et al.) [1]

Показатели (n = 300)	Горизонтальное положение (%)	Вертикальное положение (%)
Острый дистресс плода	9,0	1,0*
Кровотечение в послеродовом и раннем послеродовом периодах	15,0	2,3*
Разрыв шейки матки	6,6	0,0*
Разрыв промежности 1–2-й степени	8	4,0*

Примечание. * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

Таблица 3
Сравнительная характеристика осложнений при горизонтальном и вертикальном положениях женщины в родах
(согласно Л.А. Озолиня с соавт.) [1]

Table 3

Comparative characteristics of complications with horizontal and vertical positions of women in childbirth (according to L.A. Ozolinya et al.) [1]

Показатели (n = 300)	Горизонтальное положение (%)	Вертикальное положение (%)
Дородовое излитие околоплодных вод	21,3	6,3*
Аномалии родовой деятельности (всего)	10,0	1,3*
Первичная слабость родовой деятельности	6,0	0,0*
Вторичная слабость родовой деятельности	4,0	1,3*
Стремительные роды	2,3	1,6
Дискоординация родовой деятельности	8,6	0,0*

Примечание. * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

Таблица 4
Сравнительная характеристика осложнений при горизонтальном и вертикальном положениях женщины в родах
(согласно Л.А. Озолиня и соавт.) [1]

Table 4

Comparative characteristics of complications with horizontal and vertical positions of women in childbirth (according to L.A. Ozolinya et al.) [1]

Показатели (n = 300)	Горизонтальное положение (%)	Вертикальное положение (%)
Кесарево сечение	7,7	1,0*
Перинео- и эпизиотомия	29,7	8,3*
Наложение акушерских щипцов	1,3	0,0*
Ручное отделение плаценты и выделение последа	11,3	0,6*
Ручное обследование полости матки	26,6	0,2*

Примечание. * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

За счёт снижения числа интранатальных осложнений закономерно уменьшается количество оперативных пособий при вертикальных родах (табл. 4) [1].

Таким образом, вертикальное положение женщины фактически исключает возможность ятогенного воздействия и акушерской агрессии [23, 24, 25].

Вопрос объёма кровопотери в родах является спорным. По данным Л.А. Озолиня, отмечается снижение кровопотери в последовом и раннем послеродовом периодах за счёт более быстрого отделения плаценты у пациенток в вертикальном положении [1]. По мнению A. De Yonge et al., общая кровопотеря увеличивалась в полусидячих и сидячих положениях в интранатальном периоде. Для оценки объёма кровопотери исследователи использовали гравиметрический метод, что исключает возможность наличия значительных погрешностей. Увеличение кровопотери в вертикальном положении может быть связано с рядом факторов. Использование специального стула для родов может затруднять венозный возврат, что в конечном итоге приводит к увеличению кровопотери при повреждении промежности. С другой стороны, вертикальное положение приводит к повышению гидростатического давления, что может способствовать увеличению скорости кровопотери из области плацентарного ложа. Кроме того, имеется предположение о том, что вертикальная позиция в родах может препятствовать выработке простагландинов, что может приводить к гипотонии матки [25]. Некоторые авторы отмечают увеличение отёка тканей наружных половых органов в сидячих и полусидячих положениях, что в первую очередь связано с затруднённым венозным возвратом. Отёк также может привести к увеличению кровопотери при повреждении промежности [23, 24, 25].

При оценке состояния новорождённых также отмечается положительная динамика при вертикальном положении роженицы в родах (табл. 5) [1].

Таблица 5
Взаимосвязь положения женщины в интранатальном периоде и оценки состояния новорождённого по шкале Апгар
(согласно Л.А. Озолиня с соавт.) [1]

Table 5

The relationship of the position of women in the intrapartum period and the assessment of the condition of the newborn on the Apgar scale (according to L.A. Ozolinya et al.) [1]

Оценка по шкале Апгар (баллы) (n = 300)	Горизонтальное положение (%)		Вертикальное положение (%)	
	1-я мин	5-я мин	1-я мин	5-я мин
4 и менее	3,0	0,6	2,3	0,0
5–7	7,1	1,0	2,6*	0,6
8–10	90,0	98,3	96,5*	99,3

Примечание. * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

Более низкая частота рождения детей в состоянии асфиксии различной степени отмечалась при вертикальных родах.

При наличии ожирения у женщин может часто происходить сбой датчика при проведении кардиотокографии. В подобном случае следует использовать альтернативные методы оценки состояния плода, основанные на регистрации фетального ЭКГ (монитор Monica AN) [26, 27, 28].

Таким образом, большинство авторов считают вертикальное положение в родах весьма оправданным. Примером служит высказывание В.Е. Радзинского: «Разумеется, вертикальные роды – не панацея, и не надо ждать чудес от возврата к естественному родо-

разрешению. Суть вертикальных родов – наиболее эргономичный путь опорожнения плодовместилища, регулируемый и осуществляемый самой женщиной. Не новация, а рационализация родов в новых технологических условиях» [23].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на значительное количество исследований, посвящённых изучению вертикальных родов, определить универсальность вертикального положения в родах не представляется возможным [24, 29], поэтому к отбору пациенток для ведения вертикальных родов следует подходить обдуманно. При наличии осложнений беременности (презклампсия, гестационный сахарный диабет и т. д.) следует отдать предпочтение классическим вариантам положения в родах. У женщин, имеющих низкий риск перинатальных осложнений, вертикальное положение может стать достойной альтернативой. Для профилактики развития кровотечения в III и раннем послеродовом периодах женщине следует принять горизонтальное положение после рождения плода. Данное условие также необходимо соблюдать при осмотре родовых путей. Таким образом, рациональная тактика ведения родов заключается в определении оптимальной комбинации вертикального и горизонтального положений в различные периоды процесса родов с учётом удобства для самой роженицы.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация о финансировании

Источником финансирования являются личные материальные средства авторов.

Информация о вкладе авторов

Мочалова М.Н. – концепция исследования.

Мудров В.А. – дизайн исследования.

Новокшанова С.В. – анализ отечественных и зарубежных литературных источников, написание текста статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Озолиня Л.А., Дажаева З.С., Сластен О.П., Бурденко М.В. Современные технологии родовспоможения. *Акушерство. Патологии беременности и родов*. 2009; (1): 82-86.
2. Изотова А.В. Доверие в системе «Врач-Пациент». Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. 2009; 4(1): 137-143.
3. Саввина Н.В., Новгородова У.Р. Влияние школы позитивного материнства в снижение осложнений беременности и родов. *Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины*. 2015; (1): 26-29.
4. Сидоров А.И., Мухарлямова А.Ю. Социальные сети и их влияние на молодежь. *Современные научно-исследовательские технологии*. 2013; 7(2): 219-219.
5. De Jonge A, Rijnders ME, van Diem MT, Scheepers PL, Lagro-Janssen AL. Are there inequalities in choice of birthing position?: Sociodemographic and labour factors associated with the supine position during the second stage of labour. *Midwifery*. 2009; 25(4): 439-448. doi: 10.1016/j.midw.2007.07.013
6. Gupta JK, Sood A, Hofmeyr GJ, Vogel JP. Position in the second stage of labour for women without epidural anaesthesia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017; (5): CD002006. doi: 10.1002/14651858.CD002006.pub4
7. Lawrence A, Lewis L, Hofmeyr GJ, Dowswell T, Styles C. Maternal positions and mobility during first stage labour. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009; (2): CD003934. doi: 10.1002/14651858.CD003934.pub2
8. DiFranco JT, Curl M. Healthy birth practice #5: avoid giving birth on your back and follow your body's urge to push. *J Perinat Educ*. 2014; 23(4): 207-210. doi: 10.1891/1058-1243.23.4.207
9. Жаркин Н.А., Чернова Т.В., Анчакова О.С. Вертикальные роды: модерн в родовспоможении или забытая мудрость природы? *Волгоградский научно-медицинский журнал*. 2011; (1): 43-45.
10. Миникаева Л.Р. Роды свободного выбора как метод выбора ведения родов. *Вестник Российской государственного медицинского университета*. 2014; (1): 19-20.
11. Айламазян Э.К., Новиков Б.Н., Павлова Л.П., Палинка Г.К., Рябцева И.Т., Тарасова М.А. *Акушерство. Учебник для студентов медицинских вузов*. СПб.: Спецлит; 2003.
12. Kemp E, Kingswood CJ, Kibuka M, Thornton JG. Position in the second stage of labour for women with epidural anaesthesia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013; (1): CD008070. doi: 10.1002/14651858.CD008070.pub2
13. Motamedi M. The effect of the selective maternal position in active stage of labor. *Shahrood University of Medical Sciences and Health Services, Knowledge & Health*. 2009; 4(1): 31-35.
14. Воскресенский С.Л. Особенности маточной гемодинамики при схватках. *Акушерство и гинекология*. 1995; (8): 44-45.
15. Roberts CL, Algert CS, Cameron CA, Torvaldsen S. A meta-analysis of upright positions in the second stage to reduce instrumental deliveries in women with epidural analgesia. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2005; 84(8): 794-798. doi: 10.1111/j.0001-6349.2005.00786.x
16. Golara M, Plaat F, Shennan AH. Upright versus recumbent position in the second stage of labour in women with combined spinal-epidural analgesia. *Int J Obstet Anesth*. 2002; 11(1): 19-22. doi: 10.1054/ijoa.2001.0921
17. Lurie S. Euphemia Maclean, Agnes Sampson and pain relief during labour in 16th century Edinburgh. *Anaesthesia*. 2004; 59(8): 834-835. doi: 10.1111/j.1365-2044.2004.03891.x
18. Gizzo S, Di Gangi S, Saccardi C, Patrelli TS, Paccagnella G, Sansone L, et al. Epidural analgesia during labor: impact on delivery outcome, neonatal well-being, and early breastfeeding. *Breastfeed Med*. 2012; 7(4): 262-268. doi: 10.1089/bfm.2011.0099
19. Simkin P. The fetal occiput posterior position: state of the science and a new perspective. *Birth*. 2010; 37(1): 61-71. doi: 10.1111/j.1523-536X.2009.00380.x
20. Жежа С.В. Состояние плода в родах в зависимости от положения тела роженицы и ее гемодинамике: автореф. дис. канд. мед. наук. Челябинск; 2013.
21. Серов В.Н., Стрижаков А.Н., Маркин С.А. *Практическое акушерство*. М.: Медицина; 1989.
22. Suzuki S. Birthing postures and birth canal lacerations. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2017; 30(10): 1243-1246. doi: 10.1080/14767058.2016.1209654
23. Warmink-Perdijk WDB, Koelewijn JM, de Jonge A, van Diem MT, Lagro-Janssen ALM. Better perineal outcomes in sitting birthing position cannot be explained by changing from upright to supine position for performing an episiotomy. *Midwifery*. 2016; 34: 1-6. doi: 10.1016/j.midw.2016.01.010
24. De Jonge A, van Diem MT, Scheepers PL, van der Palde Bruin KM, Lagro-Janssen AL. Increased blood loss in upright positions in childbirth is due to damage of the perineum. *BJOG*. 2007; 114(3): 349-355. doi: 10.1111/j.1471-0528.2006.01210.x
25. Ушакова Г.А., Петрич Л.Н. Современные подходы к оценке сердечного ритма плода (обзор литературы). *Мать и дитя в Кузбассе*. 2016; (1): 14-20.
26. Кулаков В.И. Возможности антенатальной компьютерной кардиотокографии в оценке состояния плода в III триместре беременности. *Акушерство и гинекология*. 2001; (5): 12-16.
27. Коган И.Ю., Полянин А.А., Павлова Н.Г. Оценка функционального состояния плода при беременности и в родах. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2003; (2): 110-115.
28. Ильинко Л.И., Смирнова Л.М., Гайнова Л.В. Вертикальные роды как альтернативный способ родоразрешения (с позиции акушера и педиатра). *Журнал практического врача акушера-гинеколога*. 2002; (1): 7-18.

29. Власюк В.В. Родовая травма и перинатальные нарушения мозгового кровообращения. СПб.: Нестор-История; 2009.

REFERENCES

1. Ozolinya LA, Dazhaeva ZS, Slasten OP, Burdenko MV. Modern technologies of obstetric aid. *Akusherstvo. Patologii bere-mennosti i rodov.* 2009; (1): 82-86. (In Russ.)
2. Izotova AV. Trust in the Doctor-Patient system. *Zdorov'e – osnova chelovecheskogo potentsiala: problemy i puti ikh resheniya.* 2009; 4 (1): 137-143. (In Russ.)
3. Savvina NV, Novgorodova UR. The influence of the school of positive motherhood in reducing the complications of pregnancy and childbirth. *Problemy sotsial'noy gigieny, zdravookhraneniya i istorii meditsiny.* 2015; (1): 26-29. (In Russ.)
4. Sidorov AI, Mukharlyamova AYu. Social networks and their impact on youth. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii.* 2013; 7(2): 219-219. (In Russ.)
5. De Jonge A, Rijnders ME, van Diem MT, Scheepers PL, Lagro-Janssen AL. Are there inequalities in choice of birthing position?: Sociodemographic and labour factors associated with the supine position during the second stage of labour. *Midwifery.* 2009; 25(4): 439-448. doi: 10.1016/j.midw.2007.07.013
6. Gupta JK, Sood A, Hofmeyr GJ, Vogel JP. Position in the second stage of labour for women without epidural anaesthesia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017; (5): CD002006. doi: 10.1002/14651858.CD002006.pub4
7. Lawrence A, Lewis L, Hofmeyr GJ, Dowswell T, Styles C. Maternal positions and mobility during first stage labour. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009; (2): CD003934. doi: 10.1002/14651858.CD003934.pub2
8. DiFranco JT, Curl M. Healthy birth practice #5: avoid giving birth on your back and follow your body's urge to push. *J Perinat Educ.* 2014; 23(4): 207-210. doi: 10.1891/1058-1243.23.4.207
9. Zharkin NA, Chernova TV, Anchakova OS. Vertical childbirth: modern in obstetrics or forgotten wisdom of nature? *Volgogradskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal.* 2011; (1): 43-45. (In Russ.)
10. Minikaeva LR. Childbirth of free choice as a method of choosing the management of childbirth. *Vestnik Rossiyskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta.* 2014; (1): 19-20. (In Russ.)
11. Aylamazyan EK, Novikov BN, Pavlova LP, Palinka GK, Ryabtseva IT, Tarasova MA. *Obstetrics. Textbook for medical students.* Saint Petersburg: Spetslit; 1997. (In Russ.)
12. Kemp E, Kingswood CJ, Kibuka M, Thornton JG. Position in the second stage of labour for women with epidural anaesthesia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013; (1): CD008070. doi: 10.1002/14651858.CD008070.pub2
13. Motamedi M. The effect of the selective maternal position in active stage of labor. *Shahrood University of Medical Sciences and Health Services, Knowledge & Health.* 2009; 4(1): 31-35.
14. Voskresensky SL. Peculiarities of uterine hemodynamics in contractions. *Akusherstvo i ginekologiya.* 1995; (8): 44-45. (In Russ.)
15. Roberts CL, Algert CS, Cameron CA, Torvaldsen S. A meta-analysis of upright positions in the second stage to reduce instrumental deliveries in women with epidural analgesia. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2005; 84(8): 794-798. doi: 10.1111/j.0001-6349.2005.00786.x
16. Golarai M, Plaat F, Shennan AH. Upright versus recumbent position in the second stage of labour in women with combined spinal-epidural analgesia. *Int J Obstet Anesth.* 2002; 11(1): 19-22. doi: 10.1054/ijoa.2001.0921
17. Lurie S, Euphemia Maclean, Agnes Sampson and pain relief during labour in 16th century Edinburgh. *Anaesthesia.* 2004; 59(8): 834-835. doi: 10.1111/j.1365-2044.2004.03891.x
18. Gizzo S, Di Gangi S, Saccardi C, Patrelli TS, Paccagnella G, Sansone L, et al. Epidural analgesia during labor: impact on delivery outcome, neonatal well-being, and early breastfeeding. *Breastfeed Med.* 2012; 7(4): 262-268. doi: 10.1089/bfm.2011.0099
19. Simkin P. The fetal occiput posterior position: state of the science and a new perspective. *Birth.* 2010; 37(1): 61-71. doi: 10.1111/j.1523-536X.2009.00380.x
20. Zhezha SV. *The state of a fetus in childbirth, depending on the position of the body of a woman and her hemodynamics:* Abstract of the Dissertation of the Candidate of Medical Sciences. Chelyabinsk; 2013. (In Russ.)
21. Serov VN, Strizhakov AN, Markin SA. *Practical obstetrics.* Moscow: Meditsina; 1989. (In Russ.)
22. Suzuki S. Birthing postures and birth canal lacerations. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017; 30(10): 1243-1246. doi: 10.1080/14767058.2016.1209654
23. Warmink-Perdijk WDB, Koelewijn JM, de Jonge A, van Diem MT, Lagro-Janssen ALM. Better perineal outcomes in sitting birthing position cannot be explained by changing from upright to supine position for performing an episiotomy. *Midwifery.* 2016; 34: 1-6. doi: 10.1016/j.midw.2016.01.010
24. De Jonge A, van Diem MT, Scheepers PL, van der Palde Bruin KM, Lagro-Janssen AL. Increased blood loss in upright positions in childbirth is due to damage of the perineum. *BIOG.* 2007; 114(3): 349-355. doi: 10.1111/j.1471-0528.2006.01210.x
25. Ushakova GA, Petrich LN. Modern approaches to the assessment of fetal heart rate (literature review). *Mat i ditya v Kuzbasse.* 2016; (1): 14-20. (In Russ.)
26. Kulakov VI. Possibilities of antenatal computer cardiotocography in assessing the state of the fetus in the third trimester of pregnancy. *Akusherstvo i ginekologiya.* 2001; (5): 12-16. (In Russ.)
27. Kogan IYu, Polyanin AA, Pavlova NG. Evaluation of the functional state of the fetus during pregnancy and childbirth. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney.* 2003; (2): 110-115. (In Russ.)
28. Ilyenko LI, Smirnova LM, Gaynova LV. Vertical delivery as an alternative method of delivery (from the position of an obstetrician and a pediatrician). *Zhurnal prakticheskogo vracha akushera-ginekologa.* 2002; (1): 7-18. (In Russ.)
29. Vlasyuk VV. *Birth injury and perinatal cerebral circulation disorders.* Saint Petersburg: Nestor-Istoriya; 2009. (In Russ.)

Сведения об авторах

Мочалова Марина Николаевна – кандидат медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии лечебного и стоматологического факультетов, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: marina.mochalova@gmail.com

Мудров Виктор Андреевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии лечебного и стоматологического факультетов, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: mudrov_viktor@mail.ru

Новокшанова Светлана Витальевна – ассистент кафедры акушерства и гинекологии лечебного и стоматологического факультетов, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: sveta999.13.ru@yandex.ru

Information about the authors

Marina N. Mochalova – Cand. Sc. (Med.), Docent, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology of the Medical and Dental Faculties, Chita State Medical Academy, e-mail: marina.mochalova@gmail.com

Viktor A. Mudrov – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Obstetrics and Gynecology of the Medical and Dental Faculties, Chita State Medical Academy, e-mail: mudrov_viktor@mail.ru

Svetlana V. Novokshanova – Teaching Assistant at the Department of Obstetrics and Gynecology of the Medical and Dental Faculties, Chita State Medical Academy, e-mail: sveta999.13.ru@yandex.ru

Статья получена: 06.05.2019. Статья принята: 17.07.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 06.05.2019. Accepted: 17.07.2019. Published: 26.10.2019.

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.5.2

Образование индолилуксусной кислоты энтеробактериями, патогенными для человека*

Турская А.Л.¹, Беловежец Л.А.², Путилина Т.Е.¹, Быбин В.А.¹, Духанина А.В.³, Маркова Ю.А.¹

¹ ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132, Россия);

² ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1, Россия); ³ ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Турская Анна Леонидовна, e-mail: turskaya-anna@mail.ru

Резюме

Обоснование. В настоящее время особый интерес приобретает проблема колонизации растений бактериями, патогенными для человека. Среди бактерий, способных к полигостальности, особый интерес представляют виды семейства *Enterobacteriaceae*, которое включает в себя как фитопатогенные, так и патогенные для человека микроорганизмы. Показано, что фрукты и овощи, контаминированные такими патогенами, способны быть причиной кишечных инфекций человека. Являясь одним из путей коммуникации в системе «растение – микроорганизм», возможно, именно синтез индолилуксусной кислоты (ИУК) *Enterobacteriaceae* обуславливает скорость роста бактерий, способствуя более быстрой колонизации растения.

Цель: сравнительное изучение синтеза ИУК разными видами энтеробактерий.

Методы. В изучении использовались 8 видов энтеробактерий, 7 из которых изолированы от больных людей, а также фитопатоген *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum*. Работа выполнялась с применением микробиологических и спектрофотометрических методов исследования.

Результаты. Изучена способность синтеза ИУК условно-патогенными микроорганизмами, относящимися к семейству *Enterobacteriaceae*. Выяснено, что большинство изученных штаммов синтезируют ИУК. Проведены исследования по влиянию на синтез ИУК введения в питательную среду триптофана и обогащения её глюкозой, а также варьирования температурного режима культивирования бактерий.

Ключевые слова: *Enterobacteriaceae*, индолилуксусная кислота, растительно-микробные взаимодействия

Для цитирования: Турская А.Л., Беловежец Л.А., Путилина Т.Е., Быбин В.А., Духанина А.В., Маркова Ю.А. Образование индолилуксусной кислоты энтеробактериями, патогенными для человека. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 14-18. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.2

Formation of Indoleacetic Acid by Enterobacteria Pathogenic for Human*

Turskaya A.L.¹, Belovezhets L.A.², Putilina T.E.¹, Bybin V.A.¹, Dukhanina A.V.³, Markova Yu.A.¹

¹ Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS (Lermontov str. 132, Irkutsk 664033, Russian Federation);

² A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS (Favorsky str. 1, Irkutsk 664033, Russian Federation); ³ Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazev str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Anna L. Turskaya, e-mail: turskaya-anna@mail.ru

Abstract

Background. At present, the problem of plant colonization by bacteria pathogenic for human is of particular interest. Among the bacteria capable of polyhostality, species of the *Enterobacteriaceae* family, which includes both phytopathogenic and human pathogens, are of particular interest. Fruits and vegetables contaminated with such pathogens have been shown to be able to cause human intestinal infections. Being one of the ways of communication in the plant-microorganism system, it is possible that the synthesis of indole acetic acid (IAA) by *Enterobacteriaceae* determines the growth rate of bacteria, contributing to more rapid colonization of the plant.

Aim: comparative study of the synthesis of IAA by different types of enterobacteria.

Methods. Eight types of enterobacteria were used in the study, seven of which were isolated from sick people, as well as the phytopathogen *Pectobacterium carotovorum* spp. *carotovorum*. The work was performed using microbiological and spectrophotometric research methods.

Results. The ability of the synthesis of IAA by opportunistic microorganisms belonging to the *Enterobacteriaceae* family was studied. We found that the majority of the studied strains synthesize IAA. Studies on the effect on the synthesis of

* Статья подготовлена на основании доклада, представленного на Всероссийской научной конференции с международным участием «Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания» (4–7 июня 2019 г., Иркутск).

IAA, the introduction into the nutrient medium of tryptophan and its enrichment with glucose, as well as the variation of the temperature regime of the cultivation of bacteria were carried out.

Key words: Enterobacteriaceae, indoleacetic acid, plant-microbial interactions

For citation: Turskaya A.L., Belovezhets L.A., Putilina T.E., Bybin V.A., Dukhanina A.V., Markova Yu.A. Formation of Indoleacetic Acid by Enterobacteria Pathogenic for Human. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 14-18. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.2

Многочисленными исследованиями показано, что широкий ряд видов прокариот способен колонизировать как растительные, так и животные организмы, что связывают с явлением полигостальности [1, 2, 3, 4]. Колонизируя представителей разных царств живых организмов, бактерии устанавливают с ними ассоциативные либо антагонистические взаимодействия. Для создания таких взаимоотношений микроорганизм должен обладать набором метаболитов, облегчающих размножение и выживание в соответствующих хозяевах.

Одним из метаболитов, способствующих взаимодействию бактерий с растительным организмом, может быть бактериальная индолилуксусная кислота (ИУК). ИУК является одной из главных форм фитогормона ауксина. Её бактериальный синтез изучен достаточно хорошо. Показано, что ИУК синтезируется как фитопатогенными, так и симбиотическими бактериями, так называемыми PGPR-штаммами (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) [5]. В то же время имеются сведения о синтезе этого соединения свободноживущими микроорганизмами [6].

Среди бактерий, способных к колонизации растительных тканей, особый интерес представляют виды семейства Enterobacteriaceae, которое включает в себя как фитопатогенные, так и патогенные для человека микроорганизмы. Фрукты и овощи, контаминированные такими патогенами, часто становятся причиной кишечных инфекций человека [7]. Являясь одним из путей коммуникации в системе «растение – микроорганизм», возможно, именно синтез ИУК энтеробактериями будет способствовать их колонизации в растительных тканях.

Целью представленных исследований было сравнительное изучение синтеза ИУК разными видами энтеробактерий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В настоящих исследованиях использовались следующие виды энтеробактерий – *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella sonnei*, *Shigella flexneri*, *Pectobacterium carotovorum*. Все виды, за исключением последнего, были изолированы от больных людей, находящихся на стационарном лечении в инфекционной больнице г. Иркутска. *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum*, штамм B-1247, был получен из Всероссийской коллекции микроорганизмов г. Пущино.

Бактерии культивировали при температурах 4°, 24° и 37 °C в забуференном физиологическом растворе (ЗФР) с добавлением 200 мг/мл триптофана как предшественника синтеза ИУК [8, 9], а также в ЗФР с триптофаном и разными концентрациями глюкозы (1 и 5 г/л). Через 3 суток культивирования бактериальную суспензию центрифугировали 30 мин при 3000 об/мин. 1 мл супернатанта смешивали с 1 мл реактива Сальковского [10]. Развитие розовой окраски показывает наличие ИУК. Оптическую плотность измеряли при 530 нм с помощью спектрофотометра Specords-S-100 (BioRad, США). Концентрацию ИУК определяли с помощью калибровочной кривой. Стати-

стическую значимость различий между вариантами экспериментов проводили с помощью критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ЗФР при добавлении 200 мг/л триптофана и культивировании при 24 °C наиболее высокие концентрации ИУК (334 ± 19 мкг/мл) продуцировал *E. aerogenes*. Достаточно большое количество ИУК было обнаружено в супернатанте *C. freundii* (141 ± 12 мкг/мл) и *P. mirabilis* (184 ± 13 мкг/мл) (рис. 1).

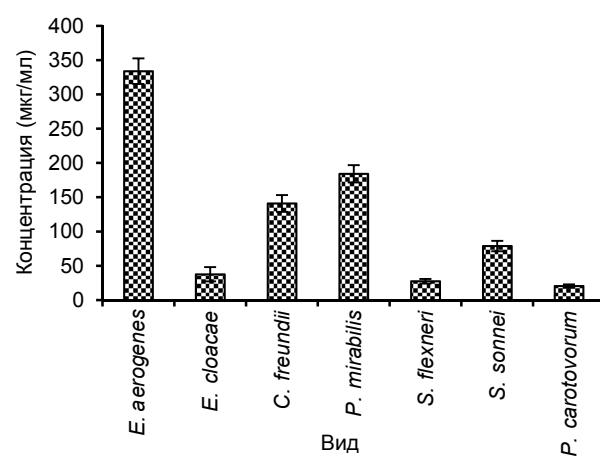


Рис. 1. Количество ИУК (мкг/мл) в супернатанте разных видов энтеробактерий (24 °C).

Fig. 1. The amount of IAA (μg/ml) in the supernatant of different types of enterobacteria (24 °C).

Даже в отсутствие триптофана, который, как известно, является предшественником ИУК, в ЗФР наблюдали высокое содержание ИУК в супернатанте *E. aerogenes* (14 ± 5 мкг/мл) и *P. mirabilis* (139 ± 2 мкг/мл). Внесение триптофана способствовало возрастанию её количества у *E. aerogenes*, *C. freundii*, *P. mirabilis* и *S. sonnei* (табл. 1).

Таблица 1
Сравнительное количество ИУК (мкг/мл) в супернатанте разных видов энтеробактерий в зависимости от добавления триптофана (200 мг/л), 24 °C

Вид	ЗФР	ЗФР с триптофаном
<i>E. aerogenes</i>	148 ± 5	334 ± 19
<i>E. cloacae</i>	42 ± 5	38 ± 10
<i>K. pneumoniae</i>	0	0
<i>C. freundii</i>	69 ± 6	141 ± 12
<i>P. mirabilis</i>	139 ± 2	184 ± 13
<i>S. sonnei</i>	25 ± 6	27 ± 3
<i>S. flexneri</i>	35 ± 6	79 ± 8
<i>P. carotovorum</i>	17 ± 5	20 ± 2

Таким образом, виды энтеробактерий *E. aerogenes*, *C. freundii* и *P. mirabilis* являются активными продуцентами ИУК. Штамм *K. pneumoniae* не образовывал данный метаболит.

Известно, что синтез метаболитов бактериями зависит от условий культивирования – в первую очередь, от температуры и состава среды. Поэтому на следующем этапе исследований было изучено влияние температуры на синтез ИУК в ЗФР с добавлением 200 мг триптофана. Использовали температуры 4, 24 и 37 °C (рис. 2).

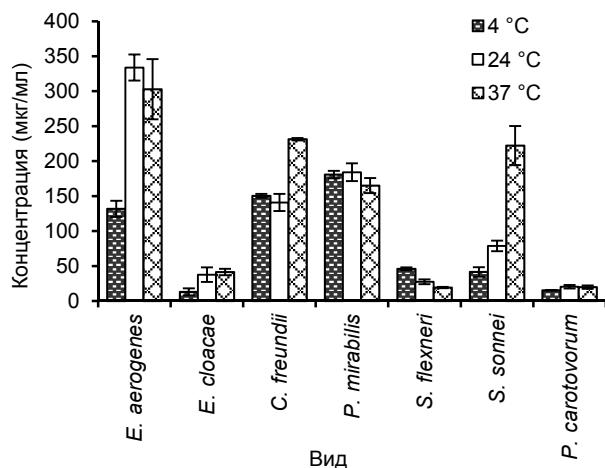


Рис. 2. Количество ИУК (мкг/мл) в супернатанте разных видов энтеробактерий в зависимости от температуры культивирования.

Fig. 2. The amount of IAA (μg/ml) in the supernatant of different types of enterobacteria depending on the cultivation temperature.

В результате попарного сравнения трёх групп были получены следующие результаты. Для видов *E. cloacae*, *P. mirabilis* и *P. carotovorum* не было выявлено значимого влияния температуры на синтез исследуемого метаболита. Остальные виды, за исключением *S. flexneri*, продемонстрировали увеличение синтеза ИУК при возрастании температуры культивирования. Причём для *E. aerogenes* значимый рост количества исследуемого соединения был зафиксирован уже при 24 °C, тогда как для *C. freundii* и *S. sonnei* было показано её увеличение только при 37 °C. *S. flexneri*, напротив, продуцировала большие количества ИУК при 4 °C (рис. 2).

Помимо температурного фактора, немаловажная роль в регуляции биосинтеза ИУК микроорганизмами отводится составу среды [12]. В наших исследованиях мы изучили влияние разных концентраций глюкозы на синтез ИУК, используя ЗФР с 200 мг триптофана, обогащённый глюкозой (1 и 5 г) (рис. 3).

Было показано, что *E. cloacae*, *S. flexneri* и *P. carotovorum* продуцировали ИУК независимо от содержания глюкозы в среде. Для *E. aerogenes*, *C. freundii* и *S. sonnei* было установлено, что добавление в среду культивирования 1 г глюкозы значимо снижало количество синтезируемой ИУК, тогда как при добавлении 5 г количество синтезированного метаболита не отличалось от его содержания в ЗФР без внесения сахара. Количество ИУК, синтезируемого *P. mirabilis* снижалось при внесении сахаров в среду культивирования. Всё изложенное свидетельствует о том, что синтез ИУК не зависит от обогащения голодной среды сахарами.

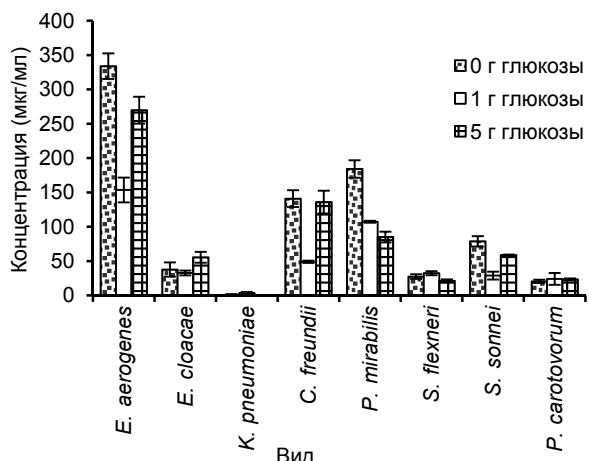


Рис. 3. Количество ИУК (мкг/мл) в супернатанте разных видов энтеробактерий в зависимости от количества глюкозы.

Fig. 3. The amount of IAA (μg/ml) in the supernatant of different types of enterobacteria depending on the amount of glucose.

ОБСУЖДЕНИЕ

Образование растительных гормонов считается одним из главных свойств ризосферных, эпифитных и симбиотических бактерий, стимулирующих и улучшающих рост растений – PGPR-штаммов [5, 13]. При этом увеличивается площадь поверхности корневой системы, что благоприятствует размножению бактерий-колонизаторов [14, 15].

Бактериальный синтез ИУК при отсутствии растения свидетельствует о том, что этот фитогормон может выполнять и иные функции [1, 3]. Известно, например, что ИУК является предшественником синтеза других соединений, например, антракиновой кислоты, которая в свою очередь может быть регулятором экспрессии генов или межклеточным сигналом, аналогичным ацил-гомосеринлактону. Имеются сведения, что образование ИУК можно рассматривать как процесс детоксикации триптофана, который является для прокариот токсическим соединением. Об этом свидетельствует активация синтеза ИУК клетками *A. brasiliense*, *E. cloacae*, *P. putida* в условиях стресса (недостаток кислорода и источников углерода, переход в стационарную фазу роста и пр.) [8]. Исследованиями Bianco с соавт. продемонстрировано, что ИУК способна изменять экспрессию генов *E. coli*. Оказалось, что гены, вовлечённые в центральные метаболические пути, такие как цикл трикарбоновых кислот, глиоксилатный шунт и биосинтез аминокислот (лейцина, изолейцина, валина и пролина), активировались ИУК [6].

В наших исследованиях показано, что виды энтеробактерий, выделенные от больных, способны синтезировать фитогормон ИУК. Это свидетельствует о том, что при проникновении в организм растения они могут оказывать влияние на его жизнедеятельность. Из этих видов наиболее активными продуцентами ИУК были виды *E. aerogenes*, *C. freundii* и *P. mirabilis*, причём эти виды образовывали значимые количества метаболита даже в отсутствие триптофана. *K. pneumoniae* в данных условиях культивирования ИУК не образовывала. Оценка вклада температуры культивирования показала, что она увеличивает количество синтезируемого продукта (*E. aerogenes*, *C. freundii*, *S. sonnei*) или не оказывает

влияния на его содержание в супернатанте (*E. cloacae*, *P. mirabilis*, *P. carotovorum*). Отсутствие увеличения количества ИУК при добавлении в среду культивирования глюкозы свидетельствует о том, что этот метаболит, очевидно, формируется в голодной среде. Это можно объяснить тем, что при недостатке углерода или при стрессовых условиях происходит экспрессия ключевого гена биосинтеза ИУК – *ipdC* [16].

Всё изложенное свидетельствует о том, что патогенные и условно-патогенные для человека энтеробактерии, изолированные от больных людей, синтезируют ИУК, которая выполняет функцию фитогормона ауксина. Следовательно, при попадании в организм растения эти виды (в первую очередь *E. aerogenes*, *C. freundii* и *P. mirabilis*) могут оказывать значимое влияние на рост и развитие растительного организма, сопоставимое с таковыми эндофитных и разосферных бактерий.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках государственного задания № гос. регистрации AAAA-A17-117011810099-8 с использованием коллекций микроорганизмов и оборудования Центров коллективного пользования «Биоресурсный центр» и «Биоаналитика» СИФИБР СО РАН.

ЛИТЕРАТУРА

1. Маркова Ю.А., Алексенко А.Л., Крамарский А.В., Савилов Е.Д. Растения как одно из звеньев цепи циркуляции патогенных для человека бактерий в окружающей среде. *Сибирский медицинский журнал* (Иркутск). 2012; 114(7): 11-14.
2. Маркова Ю.А., Духанина А.В., Анганова Е.В., Беловежец Л.А., Савилов Е.Д. Контаминация продуктов питания растительного происхождения патогенными и условно-патогенными энтеробактериями. *Acta biomedica scientifica*. 2012; (5-1): 268-270.
3. Arthurson V, Sessitsch A, Jäderlund L. Persistence and spread of *Salmonella enterica* serovar Weltevreden in soil and on spinach plants. *FEMS Microbiol. Lett.* 2011; 314(1): 67-74. doi: 10.1111/j.1574-6968.2010.02140.x
4. Kirzinger MW, Nadarasah G, Stavrinides J. Insights into cross-kingdom plant pathogenic bacteria. *Genes (Basel)*. 2011; 2(4): 980-997. doi: 10.3390/genes2040980
5. Цавклелова Е.А., Климова С.Ю., Чердынцева Т.А., Нетров А.И. Микроорганизмы – продуценты стимуляторов роста растений и их практическое применение (обзор). *Прикладная биохимия и микробиология*. 2006; 42(2): 133-143. doi: 10.1134/S0003683806020013
6. Bianco C, Imperlini E, Calogero R, Senatore B, Pucci P, Defez R. Indole-3-acetic acid regulates the central metabolic pathways in *Escherichia coli*. *Microbiology*. 2006; 152(8): 2421-2431. doi: 10.1099/mic.0.28765-0
7. Tyler HL, Triplett EW. Plants as a habitat for beneficial and/or human pathogenic bacteria. *Annu Rev Phytopathol.* 2008; 46: 53-73. doi: 10.1146/annurev.phyto.011708.103102
8. Кацы Е.И. Молекулярная генетика ассоциативного взаимодействия бактерий и растений. *Состояние и перспективы исследований*. М.: Наука; 2007.
9. Кравченко Л.В., Азарова Т.С., Макарова Н.М., Тихонович И.А. Роль триптофана в корневых экзометаболитах для фитостимулирующей активности ризобактерий. *Микробиология*. 2004; 73(2): 195-198.
10. Celloto VR, Oliveira AJ, Gonçalves JE, Watanabe CS, Matioli G, Gonçalves RA. Biosynthesis of indole-3-acetic acid by new *Klebsiella oxytoca* free and immobilized cells on inorganic matrices. *Scientific World J.* 2012; 2012: 495970. doi: 10.1100/2012/495970
11. Гланц С. *Медико-биологическая статистика*; пер. Ю.А. Данилова. М.: Практика; 1998.
12. Duca D, Lorr J, Patten CL, Rose D, Glick BR. Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2014; 106(1): 85-125. doi 10.1007/s10482-013-0095-y
13. Khare E, Arora NK. Effect of indole-3-acetic acid (IAA) produced by *Pseudomonas aeruginosa* in suppression of charcoal rot disease of chickpea. *Curr Microbiol.* 2010; 61(1): 64-68. doi: 10.1007/s00284-009-9577-6
14. Kim YC, Leveau J, McSpadden Gardener BB, Pierson EA, Pierson LS 3rd, Ryu CM. The multifactorial basis for plant health promotion by plant-associated bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 2011; 77(5): 1548-1555. doi: 10.1128/AEM.01867-10
15. Spaepen S, Vanderleyden J, Remans R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol Rev.* 2007; 31(4): 425-448. doi: 10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x
16. Ona O, Van Impe J, Prinsen E, Vanderleyden J. Growth and indole-3-acetic acid biosynthesis of *Azospirillum brasiliense* Sp245 is environmentally controlled. *FEMS Microbiol Lett.* 2005; 246(1): 125-132. doi:10.1016/j.femsle.2005.03.048

REFERENCES

1. Markova YuA, Alekseenko AL, Kramarsky AV, Savilov ED. Plants as one of the links in the circulation chain of bacteria pathogenic for humans in the environment. *Siberian Medical Journal (Irkutsk)*. 2012; 114(7): 11-14. (In Russ.)
2. Markova YuA, Dukhanina AV, Anganova EV, Belovezhets LA, Savilov ED. Contamination of foods of plant origin by pathogenic and opportunistic enterobacteria. *Acta biomedica scientifica*. 2012; (5): 268-270. (In Russ.)
3. Arthurson V, Sessitsch A, Jäderlund L. Persistence and spread of *Salmonella enterica* serovar Weltevreden in soil and on spinach plants. *FEMS Microbiol. Lett.* 2011; 314(1): 67-74. doi: 10.1111/j.1574-6968.2010.02140.x
4. Kirzinger MW, Nadarasah G, Stavrinides J. Insights into cross-kingdom plant pathogenic bacteria. *Genes (Basel)*. 2011; 2(4): 980-997. doi: 10.3390/genes2040980
5. Tsavkelova EA, Klimova SYu, Cherdynseva TA, Netrusov AI. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: A review. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2006; 42(2): 117-126. doi: 10.1134/S0003683806020013
6. Bianco C, Imperlini E, Calogero R, Senatore B, Pucci P, Defez R. Indole-3-acetic acid regulates the central metabolic pathways in *Escherichia coli*. *Microbiology*. 2006; 152(8): 2421-2431. doi: 10.1099/mic.0.28765-0
7. Tyler HL, Triplett EW. Plants as a habitat for beneficial and/or human pathogenic bacteria. *Annu Rev Phytopathol.* 2008; 46: 53-73. doi: 10.1146/annurev.phyto.011708.103102
8. Katsy El. *Molecular genetics of the associative interactions between bacteria and plants. Current status and prospects of the studies*. Moscow: Nauka; 2007. (In Russ.)
9. Kravchenko LV, Azarova TS, Makarova NM, Tikhonovich IA. The role of tryptophan in root exometabolites for phytostimulating activity of rhizobacteria. *Microbiology*. 2004; 73(2): 195-198. (In Russ.)
10. Celloto VR, Oliveira AJ, Gonçalves JE, Watanabe CS, Matioli G, Gonçalves RA. Biosynthesis of indole-3-acetic acid by new *Klebsiella oxytoca* free and immobilized cells on inorganic matrices. *Scientific World J.* 2012; 2012: 495970. doi: 10.1100/2012/495970
11. Glantz S. *Primer of biostatistics*. Trans Danilov YuA. Moscow: Praktika; 1998. (In Russ.)
12. Duca D, Lorr J, Patten CL, Rose D, Glick BR. Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2014; 106 (1): 85-125. doi 10.1007/s10482-013-0095-y
13. Khare E, Arora NK. Effect of indole-3-acetic acid (IAA) produced by *Pseudomonas aeruginosa* in suppression of charcoal rot disease of chickpea. *Curr Microbiol.* 2010; 61(1): 64-68. doi: 10.1007/s00284-009-9577-6
14. Kim YC, Leveau J, McSpadden Gardener BB, Pierson EA, Pierson LS 3rd, Ryu CM. The multifactorial basis for plant health promotion by plant-associated bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 2011; 77(5): 1548-1555. doi: 10.1128/AEM.01867-10
15. Spaepen S, Vanderleyden J, Remans R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol Rev.* 2007; 31(4): 425-448. doi: 10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x

16. Ona O, Van Impe J, Prinsen E, Vanderleyden J. Growth and indole-3-acetic acid biosynthesis of *Azospirillum brasiliense* Sp245 is environmentally controlled. *FEMS Microbiol Lett.* 2005; 246(1): 125-132. doi:10.1016/j.femsle.2005.03.048

Сведения об авторах

Турская Анна Леонидовна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории растительно-микробных взаимодействий, ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, e-mail: turskaya-anna@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5717-6766>

Беловежец Людмила Александровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник группы фармацевтической разработки, ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, e-mail: belovezhets@irioch.irk.ru

Путилина Татьяна Егоровна – ведущий инженер лаборатории физико-химических методов исследования, ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, e-mail: putilina@sifibr.irk.ru

Быбин Виктор Александрович – кандидат биологических наук, ведущий инженер лаборатории растительно-микробных взаимодействий, ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, e-mail: godolin@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3825-9945>

Духанина Алла Владимировна – кандидат биологических наук, инженер лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: duhanina.alla@yandex.ru

Маркова Юлия Александровна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией растительно-микробных взаимодействий, ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, e-mail: juliam06@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7767-4204>

Information about the authors

Anna L. Turskaya – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Plant-Microbial Interactions, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, e-mail: turskaya-anna@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5717-6766>

Lyudmila A. Belovezhets – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Group of Pharmaceutical Development, A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS, e-mail: belovezhets@irioch.irk.ru

Tatiana E. Putilina – Leading Engineer at the Laboratory of Physicochemical Research Methods, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, e-mail: putilina@sifibr.irk.ru

Viktor A. Bybin – Cand. Sc. (Biol.), Leading Engineer at the Laboratory of Plant-Microbial Interactions, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, e-mail: godolin@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3825-9945>

Alla V. Dukhanina – Cand. Sc. (Biol.), Engineer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Significant Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: duhanina.alla@yandex.ru

Julia A. Markova – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Plant-Microbial Interactions, Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, e-mail: juliam06@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7767-4204>

Статья получена: 24.06.2019. Статья принята: 15.07.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 24.06.2019. Accepted: 15.07.2019. Published: 26.10.2019.

ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ

INTERNAL DISEASES

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.5.3

Сравнение эндоскопической картины при осложнениях со стороны верхних отделов желудочно-кишечного тракта, вызванных приёмом антитромботических средств и нестероидных противовоспалительных препаратов

Мороз Е.В.¹, Каратеев А.Е.², Крюков Е.В.¹, Соколов А.А.³, Артемкин Э.Н.¹

¹ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н.Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации (105229, г. Москва, Госпитальная пл., 3, Россия); ²ФГБНУ Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой (115522, г. Москва, Каширское шоссе, 34А, Россия); ³ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России (117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Артемкин Эдуард Николаевич, e-mail: eduarddoctor@mail.ru

Резюме

Цель исследования: сравнение патологических изменений слизистой оболочки (СО) верхнего отдела ЖКТ, возникающих на фоне приёма антитромботических средств (АТС) и нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП).

Материал и методы. Проведено сравнение данных эндоскопических исследований двух групп пациентов, принимавших АТС и НПВП. Первая группа представлена 448 больными, наблюдавшимися в гастроэнтерологическом отделении, с эрозивно-язвенными изменениями слизистой ЖКТ, возникшими на фоне приёма АТС. Вторая группа – 6431 пациент, регулярно принимавший НПВП, с ревматическими заболеваниями.

Результаты. Эрозивно-язвенные изменения СО желудка и/или двенадцатиперстной кишки (ДПК) были выявлены у 168 (37,5 %) больных, получавших АТС, и у 1691 (26,3 %) больного, получавшего НПВП. Структура патологии различалась следующим образом: на фоне приёма АТС и НПВП число язв желудка составило 6,5 % и 15,5 % ($p < 0,001$), язв ДПК – 2,9 % и 4,9 %, сочетанных язв желудка и ДПК – 2,9 % и 2,0 %, множественных эрозий СО – 52,4 % и 15,7 % ($p < 0,001$), единичных эрозий СО – 35,1 % и 61,6 % соответственно. Наличие язвенного анамнеза и возраста ≥ 65 лет значительно увеличивали риск развития эрозивно-язвенных изменений у больных, принимавших АТС и НПВП: ОШ 5,182 (95% ДИ 2,701–9,942) и 3,24 (95% ДИ 2,19–5,34), 4,537 (95% ДИ 2,036–10,11) и 2,016 (95% ДИ 1,230–2,917) соответственно. Приём ИПП существенно снижал риск осложнений как для АТС, так и НПВП: ОШ 0,329 (95% ДИ 0,199–0,546) и 0,317 (95% ДИ 0,210–0,428) соответственно.

Заключение. Структура патологии СО верхних отделов ЖКТ, возникшей на фоне приёма АТС и НПВП, различается. Для первой характерны множественные эрозии СО, для второй – единичные язвы антравального отдела желудка. Язвенный анамнез и пожилой возраст существенно повышают риск осложнений со стороны гастроудоденальной слизистой при использовании АТС и НПВП. Ингибиторы протонной помпы являются эффективным средством профилактики этой патологии.

Ключевые слова: антитромботические средства, низкие дозы аспирина, варфарин, новые оральные антикоагулянты, нестероидные противовоспалительные препараты, желудочно-кишечное кровотечение, эрозии, язвы, ингибитор протонной помпы, факторы риска

Для цитирования: Мороз Е.В., Каратеев А.Е., Крюков Е.В., Соколов А.А., Артемкин Э.Н. Сравнение эндоскопической картины при осложнениях со стороны верхних отделов желудочно-кишечного тракта, вызванных приёмом антитромботических средств и нестероидных противовоспалительных препаратов. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 19-25. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.3

Comparison of the Endoscopic Picture in Case of Complications of the upper Gastrointestinal Tract Caused by the Use of Antithrombotic Agents and Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs

Moroz E.V.¹, Karateev A.E.², Kryukov E.V.¹, Sokolov A.A.³, Artemkin E.N.¹

¹ Burdenko Main Military Clinical Hospital (Gospitalnaya square 3, Moscow 105229, Russian Federation); ² V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology (Kashirskoe highway, Moscow 115522, Russian Federation); ³ Pirogov Russian National Research Medical University (Ostrovityanova str. 1, Moscow 117997, Russian Federation)

Corresponding author: Eduard N. Artemkin, e-mail: eduarddoctor@mail.ru

Abstract

Intaking antithrombotic funds (ATA) and non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) is one of the most frequent causes of pathology in gastrointestinal (GI) tract.

The purpose of the study: comparison of pathological changes of the mucous membrane in the upper GI tract, that occur against the background of ATA and NSAIDs admission.

Material and methods. Endoscopic data of two groups of patients taking ATA and NSAIDS have been compared. The first group of 448 patients from the 10th Gastrointestinal Department in N.N. Burdenko Main Military Clinical Hospital was on record from 2013 to 2017. The patients had erosive ulcerous changes of gastrointestinal mucosa, occurred against the background of the ATA admission. The second group comprised 6431 patients with rheumatic diseases. They were hospitalized in the clinic of V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology in the period from 2007 to 2016 and took NSAIDs regularly.

Results. Duodenal and gastric ulcer changes in gastric mucosa and duodenal ulcers were identified in 168 (37.5 %) patients taking ATA and in 1691 (26.3 %) patient treated with NSAIDS. Structure of pathology varied. So, against the background of ATA and NSAIDS admission, the number of acute gastric ulceration amounted to 6.5 % and 15.5 % ($p < 0.001$); acute ulcers duodenal was 2.9 % and 4.9%; combined ulcerative lesions of gastric and duodenal was 2.9 % and 2.0%; multiple erosions of gastroduodenal mucosa were 52.4 % and 15.7 % ($p < 0.001$); single erosion was 35. 1% and 61.6 %. The factor of ulcer history and age ≥ 65 years old increased significantly the risk of duodenal and gastric ulcer changes in patients taking ATA and NSAIDS: OR 5.182 (95% CI 2.701–9.942) and 3.24 (95% CI 2.19–5.34), 4.537 (95% CI 2.036–10.11) and 2.016 (95% CI 1.230–2.917) respectively. Intaking of proton pump inhibitor (PPI) reduced significantly the risk of complications for both ATA and NSAIDS: OR 0.329 (95% CI 0.199–0.546) and 0.317 (95% CI 0.210–0.428) respectively.

Conclusion. The structure of pathology of mucous in the upper gastrointestinal tract that arose against the backdrop of ATA and NSAIDS admission is different. The first is characterized by a multiple erosion, while the second one has single acute distal gastric ulcers. The ulcerative history and advanced age of patients increase significantly the risk of complications concerning the gastroduodenal mucosa when using ATA and NSAIDS. PPI is the effective means of preventing this pathology.

Key words: anticoagulants; non-steroidal anti-inflammatory drugs, duodenal and gastric ulcer; dabigatran; rivaroxaban; apixaban; adverse events; risk factors; treatment; prevention

For citation: Moroz E.V., Karateev A.E., Kryukov E.V., Sokolov A.A., Artemkin E.N. Comparison of the Endoscopic Picture in Case of Complications of the upper Gastrointestinal Tract Caused by the Use of Antithrombotic Agents and Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 19–25. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.3.

Нежелательные явления, связанные с приёмом различных лекарственных препаратов, – одна из наиболее частых причин развития серьёзной патологии желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Так, большая часть эпизодов желудочно-кишечных кровотечений (ЖКК) в развитых странах мира возникает вследствие негативного действия медикаментозных средств. Основными лекарственными средствами, приводящими к развитию этого опасного осложнения, являются, несомненно, нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) и антитромботические средства (АТС) – низкие дозы аспирина (НДА), варфарин, клопидагрел, новые оральные антикоагулянты (НОАК: дабигатран, ривароксабан, апиксабан) и др. [1, 2, 3].

Число потребителей этих лекарств очень велико и постоянно растёт. По данным Росстата, на 2017 г. в нашей стране было зарегистрировано 19,2 млн больных с болезнями костно-мышечной системы. За 2015 г. 297,5 тыс. жителей России перенесли переломы позвоночника и костей туловища, более 1,5 млн – костей верхних конечностей, более 1 млн – костей нижних конечностей [4]. Несомненно, большинство из этих пациентов получали НПВП (как наиболее популярное анальгетическое средство) и АТС – важнейшее средство для профилактики тромбоэмбологических осложнений после травм и оперативных вмешательств.

По данным многолетней статистики, у больных, регулярно принимающих НПВП и АТС, ЖКК возникают с частотой 0,5–1 случай на 100 пациенто/лет. Вероятность развития этой патологии существенно выше у пожилых больных, при наличии язвенного анамнеза, у лиц, инфицированных *Helicobacter pylori* и в случае комбинированного использования НПВП и АТС [1, 5, 6].

Эффективное лечение и профилактика ЖКК предполагает точное определение его источника. Известно, что подавляющее большинство эпизодов кровотечения из верхних отделов ЖКТ связано с эрозиями слизистой обо-

лочки (СО) и язвами желудка и/или двенадцатиперстной кишки (ДПК). При этом характер патологии – локализация, множественность поражения и связь её появления с различными факторами риска – во многом определяет терапевтический подход [2, 3, 6]. Так, при кровотечении из отдельных язвенных дефектов приоритет нужно отдавать эндоскопическому гемостазу, а при кровотечении из эрозий, особенно при их множественном характере, – консервативной терапии, направленной на коррекцию нарушений свёртывания крови. Разумеется, в обоих случаях лечение будет дополнено применением антисекреторных и гастропротективных средств.

К сожалению, до настоящего времени имеется лишь ограниченное количество работ, в которых изучалась эндоскопическая картина гастродуodenальной слизистой при развитии ЖКК, связанных с приёмом НПВП и АТС.

Целью нашего исследования было сравнение частоты и характера эндоскопических изменений слизистой оболочки верхних отделов желудочно-кишечного тракта, возникающих при использовании нестероидных противовоспалительных препаратов и антитромботических средств.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Нами проведено сравнение данных эзофагогастродуоденоскопии (ЭГДС) двух групп пациентов, принимавших АТС и НПВП. Первая из них была представлена 448 больными, которые наблюдались в 10 гастроэнтерологическом отделении ФГКУ ГВКГ им. Н.Н. Бурденко в период с 2013 по 2017 гг. с различной патологией ЖКТ, возникшей на фоне использования АТС. В эту группу не были включены пациенты, которые вместе с АТС получали НПВП (за исключением низких доз аспирина (НДА)). Вторая группа была представлена 6431 больным ревматическими заболеваниями, находившимися на стационарном лечении в клинике ФГБНУ НИИР им. В.А. Насоновой в период с 2007 по 2016 гг. Всем им была выполнена эзофагогастродуоде-

носкопия (ЭГДС). Все эти пациенты регулярно, не менее 2 недель до момента выполнения эндоскопического исследования, принимали НПВП. Причиной их направления на ЭГДС было появление симптомов, которые могли свидетельствовать о поражении ЖКТ (изжога, признаки гастро-эзофагеального рефлюкса, гастралгии, диспепсия, анемия и др.), наличие ранее диагностированного эрозивно-язвенного поражения слизистой ЖКТ, факторов риска НПВП-гастропатии или длительный приём НПВП.

Характеристика исследуемых групп представлена в таблице 1. Как видно, между ними были существенные различия: больные в первой группе были моложе, среди них преобладали лица мужского пола. С другой стороны, число пациентов, имевших язвенный анамнез и получавших активную гастропротективную терапию с использованием ингибиторов протонной помпы (ИПП), было очень близким.

Мы оценили частоту и локализацию эрозивно-язвенных изменений желудка и ДПК: эрозий (поверхностных повреждений СО), множественных эрозий (≥ 10) и язв (дефекты слизистой оболочки более 5 мм в диаметре, имеющих видимую глубину).

Полученные данные вносились в компьютерные базы (Microsoft Excel 2011). Статистическая обработка результатов проводилась при помощи программы SPSS 17.0. Средние значения количественных значений в настоящей статье представлены в виде $M \pm \delta$. Статистически значимые различия количественных параметров определялась с помощью T-теста Стьюдента, распределения ранговых переменных с использованием точного теста Фишера. Для оценки значения ряда факторов использовалось определение значения отношения шансов (ОШ) с соответствующим 95% доверительным интервалом (ДИ).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Среди 448 больных, получавших АТС, при проведении эндоскопического исследования эрозивно-язвенные изменения были выявлены у 168 (37,5%), причём язвы желудка и/или ДПК диагностированы у 4,7%, а эрозии – у 32,8%.

Суммарное число эрозивно-язвенных изменений СО при использовании различных АТС составило: для НДА –

38,7 %, для варфарина – 40,8 %, для клопидагрела – 32,4 %, для дабигатрана – 35,6 %, для ривароксабана – 34,9 %, для НМГ – 33,3 %, для комбинированного приёма АТС – 34,4 %. Как видно, число эрозий и язв было несколько выше у принимавших варфарин и НДА, по сравнению с больными, получавшими другие АТС (различия статистически незначимы; $p > 0,05$).

Механизм негативного действия НДА на слизистую оболочку ЖКТ отличается от влияния других АТС, поэтому мы сравнили структуру эрозивно-язвенных изменений, выявленных у больных, получавших НДА ($n = 196$), и пациентов, принимавших другие АТС ($n = 252$). Частота язв желудка в этих подгруппах составила 3,1 % и 2,0 %, язв ДПК – 1,5 % и 0,8 %, сочетанных язв желудка и ДПК – 1,5 % и 0,8 %, множественных эрозий – 18,4 % и 20,6 %, единичных эрозий – 14,3 % и 12,3 % соответственно. Хотя общая частота язв желудка и/или ДПК была несколько выше у больных, принимавших НДА (6,1 %), чем у пациентов на АТС (3,6 %), отличие было статистически незначимым ($p = 0,403$).

Среди 6431 больного, принимавшего НПВП, эрозивно-язвенные изменения СО были выявлены у 1691 (26,3 %), в том числе язвы желудка и/или ДПК – у 5,9 %, эрозии – у 20,4 %. Здесь отмечалось существенное отличие по частоте поражения ЖКТ в зависимости от использованных НПВП. Суммарное число диагностированных эрозий и язв было наименьшим на фоне приёма селективных НПВП (с-НПВП) целекоксиба и эторикоксиба – 16,9 % и 19,0 %, максимальным – на фоне приёма неселективных НПВП (н-НПВП): ибупрофена – 39,4 %, индометацина – 31,1 %, кетопрофена – 29,6 %, диклофенака – 27,5 % ($p < 0,05$).

Структура эрозивно-язвенных изменений СО у больных, получавших АТС и НПВП, представлена на рисунке 1. Можно видеть, что типичной патологией верхних отделов ЖКТ, которая определялась при использовании АТС, были множественные эрозии, которые возникали более чем в три раза чаще, чем на фоне НПВП ($p < 0,001$). С другой стороны, приём НПВП гораздо чаще приводил к появлению язв желудка (в 15,5 % случаев), чем использование АТС (в 6,5 % случаев) ($p < 0,001$).

Демографические и клинические параметры больных в исследуемых группах ($n = 672$)

Demographic and clinical parameters of patients in the groups studied ($n = 672$)

Таблица 1

Table 1

Показатели	Группа АТС ($n = 448$)	Группа НПВП ($n = 6431$)
Пол (Ж : М) (%)	11,2 : 88,8	82,9 : 17,1
Средний возраст (лет)	$42,1 \pm 18,3$	$50,8 \pm 15,7$
Лица ≥ 65 лет (%)	6,9	19,5
Основные заболевания, по поводу которых назначалась терапия (%)	Эндопротезирование крупных суставов по поводу остеоартроза (24,7 %), ИБС (32,0 %), нарушения ритма сердца (23,2 %), травмы костного скелета (12,0 %), другие (8,0 %)	Ревматоидный артрит (57,6 %), остеоартроз (15,1 %), спондилоартриты (17,4 %), другие (9,9 %)
Язвенный анамнез (%)	11,2	10,1
Используемая медикаментозная терапия (%)	НДА* (43,7 %), варфарин (7,1 %), клопидагрел (3,9 %), дабигатран (13,7 %), ривароксабан (17,7 %), НМГ* (4,7 %), комбинированная схема лечения* (9,0 %)	Нимесулид (35,9 %), диклофенак (24,0 %), мелоксикам (18,3 %), кетопрофен (4,0 %), индометацин (2,2 %), ацеклофенак (3,4 %), ибупрофен (1,8 %), эторикоксиб (6,3 %), целекоксиб (3,0 %), другие НПВП (1,0 %)
Приём ИПП (%)	25,4	21,7

Примечание. *НДА – низкие дозы аспирина; НМГ – низкомолекулярный гепарин; комбинированная терапия: НДА + клопидагрел, НДА + дабигатран, ривароксабан или НМГ.

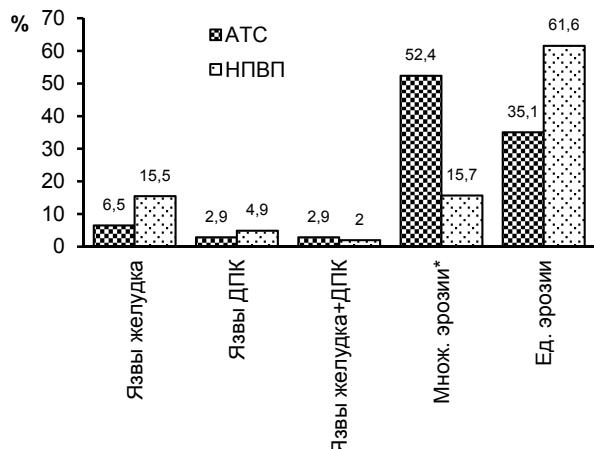


Рис. 1. Сравнение характера эрозивно-язвенных изменений, возникших на фоне приёма АТС ($n = 168$) и НПВП ($n = 1691$): * – множественные эрозии СО (≥ 10).

Fig. 1. Comparison of the nature of the acute gastric and duodenal ulcers with patients receiving ATC ($n = 448$) and NSAIDS ($n = 6431$): * – множественные эрозии СО (≥ 10).

Мы сравнили влияние ряда факторов – язвенного анамнеза, пожилого возраста (≥ 65 лет) и профилактического использования ингибиторов протонной помпы (ИПП) на риск развития эрозивно-язвенных СО изменений у больных, принимавших АТС и НПВП. Согласно приведённым расчётам, ОШ для язвенного анамнеза составило 5,182 (95% ДИ 2,701–9,942) и 3,24 (95% ДИ 2,19–5,34), для возраста ≥ 65 лет 4,537 (95% ДИ 2,036–10,11) и 2,016 (95% ДИ 1,230–2,917), для приёма ИПП – 0,329 (95% ДИ 0,199–0,546) и 0,317 (95% ДИ 0,210–0,428) соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные показывают значительное различие в структуре патологии верхних отделов ЖКТ, возникающих на фоне приёма АТС и НПВП. Если для первой характерно развитие множественных эрозий, то для второй – единичных (редко – множественных) язв антравального отдела желудка. Вероятно, это отличие связано с особенностями патогенеза повреждения СО, вызванного различными лекарственными средствами. Так, АТС снижают процессы тромбообразования, тем самым провоцируя развитие или замедляя заживление имеющихся локальных дефектов СО, появление которых определяется различными экзогенными повреждающими факторами: инфекцией *H. pylori*, компонентами пищи и табачного дыма (у курящих пациентов), другими лекарствами, желчными кислотами и содержимым кишки при дуодено-гастральном рефлюксе и др. Негативное действие АТС, таким образом, носит «диффузный» характер [1, 7, 8].

Как было отмечено выше, механизм негативного действия НДА на слизистую оболочку отличается от влияния других АТС. НДА, помимо снижения свёртываемости крови, подавляют синтез цитопротективных простагландинов СО за счёт ингибиции циклооксигеназы (ЦОГ) 1. Однако не следует рассматривать патогенез поражения ЖКТ, вызванного НДА, полностью идентичным механизму «классической» НПВП-гастропатии, ведь НДА оказывают антитромботическое действие, а традиционные НПВП (неселективные ингибиторы ЦОГ-2) и коксибы, напротив, способны повышать свёртываемость крови. Протромбо-

тический эффект всех НПВП (за исключением напроксена) подтверждён множеством клинических и популяционных исследований, а также соответствующими мета-анализами [5]. При этом значительный вклад антикоагулянтного эффекта НДА в развитие повреждения СО отмечается многими авторами [9, 10].

Мы не наблюдали существенного отличия в структуре эрозивно-язвенных изменений у пациентов, получавших НДА, и больных, принимавших АТС. Хотя частота язв желудка и/или ДПК была несколько выше у принимавших НДА, чем АТС, отличие было статистически незначимым. Возможно, это связано с небольшим числом наблюдений, ведь общее число больных с выявленными язвами желудка и/или ДПК в этих подгруппах составило 12 и 9 соответственно. При этом, в отличие от больных, получавших НПВП, у пациентов на НДС отмечалась гораздо более высокая частота множественных эрозий – так же, как у получавших другие АТС.

Патогенез НПВП-гастропатии, очевидно, имеет иную природу. НПВП блокируют ЦОГ-1 и снижают синтез цитопротективных простагландинов, делая СО менее устойчивой к повреждающему действию кислоты желудочного сока и повышая тем самым возможность развития пептического изъязвления. Кроме этого, подавление активности ЦОГ-2 (основное фармакологическое действие всех НПВП) замедляет течение репаративных процессов в СО, снижая тем самым темпы заживления острых эрозий и язв. По сути этот механизм близок патогенезу «обычной» язвенной болезни, при которой дефект стенки желудка и/или ДПК в большинстве случаев единичен [1, 11].

В целом полученные нами данные вполне соответствуют результатам, описанным зарубежными авторами. Структура патологии ЖКТ при использовании АТС в наибольшей степени изучена для НДА. По данным многолетнего наблюдения, язвы верхних отделов ЖКТ возникают у 5–10 %, а эрозии – у 40–60 %, получающих это лекарственное средство [12, 13]. Недавно N. Uemura et al. [14] представили данные эндоскопического исследования 1454 больных, не менее 1 месяца получавших НДА в дозе 75–325 мг/сутки. Язвы были выявлены у 6,5 %, эрозии – у 29,2 % обследованных лиц. Причём язвы в основном локализовались в желудке (85,1 %), значительно реже – в ДПК (10,6 %), и лишь у единичных пациентов отмечались сочетанные язвы желудка и ДПК (4,3 %). При этом эффективная гастропротективная терапия – назначение ИПП – существенно снижала риск появления эрозивно-язвенных изменений: ОШ для язв составил 0,34 (95% ДИ 0,15–0,68; $p = 0,0050$), для эрозий – 0,32 (95% ДИ 0,22–0,46; $p < 0,0001$).

Существенно меньше работ, где оценивалась характеристика эндоскопической картины у пациентов, получавших другие АТС. Нами проанализированы два крупных исследования, в которых проводился анализ точных источников ЖКК, возникших на фоне приёма варфарина. K. Thomopoulos et al. [15] определили характер патологии, ставшей причиной кровотечения у 111 больных, получавших этот препарат. В 47 % случаев это были язвы желудка/ДПК, в 10,8 % – эрозии, в 29,7 % источник кровотечения выявлен не был. Остальные случаи приходились на онкологические заболевания, синдром Меллори – Вейса и др.

Близкие данные получили T. Rubin et al. [16], проведя ретроспективный анализ 98 случаев ЖКК (7,3 % леталь-

ных исходов), возникших на фоне приёма варфарина. Так, источниками кровотечения из верхних отделов ЖКТ были язвы – 17,0 %, эрозии желудка – 18,2 %, эрозии ДПК – 9,1 %, эзофагит – 11,4 %, ангиодисплазия – 10,2 %, синдром Меллори – Вейса – 9,4 % и варикозно расширенные вены пищевода – 2,3 %. У 21,6 % больных источник не был выявлен.

При поиске в системе PubMed нам не удалось обнаружить исследования, специально посвящённые оценке эндоскопической картины верхних отделов ЖКТ у лиц, получавших НОАК. Тем более интересны наши данные, показывающие достаточно высокую частоту эрозивных изменений СО желудка и ДПК (около 35 %) у больных, получавших дабигатран и ривароксабан.

Эндоскопическая характеристика НПВП-гастропатии хорошо известна по данным многочисленных исследований, в которых изучался профилактический или лечебный эффект гастропротективных препаратов у больных, получавших НПВП, а также сравнительная безопасность различных препаратов этого класса. Согласно этим данным, на фоне приёма н-НПВП при отсутствии эффективной профилактики частота развития язв достигает 10–25 %. При этом соотношение язв желудка и ДПК у больных с НПВП-гастропатией составляет 1,5/2,0:1, а на сочетанные язвы желудка и ДПК приходится около 5 % от общего числа НПВП-индуцированных язв. При этом около 20 % больных имеют язвы ≥ 10 мм в диаметре [17, 18, 19, 20, 21].

Так, оценить частоту развития язв на фоне приёма различных НПВП можно по данным 2 идентичных по дизайну 12-недельных исследований ($n = 742$ и $n = 680$), в которых сравнивалась безопасность с-НПВП эторикоксиба и н-НПВП напроксена и ибупрофена. К моменту завершения наблюдения, на фоне приёма эторикоксиба язвы ≥ 5 мм были выявлены у 6,6 % пациентов в первом и у 6,2 % во втором исследовании, напроксена – у 18,9 %, ибупрофена – у 12,3 %. Эрозии СО выявлялись с частотой 15–20 % [22, 23].

В ранее выполненном российском исследовании, представляющем анализ эндоскопических изменений слизистой верхних отделов ЖКТ у 6103 больных, получавших НПВП, язвы желудка и/или ДПК были определены у 12,3 % обследованных лиц [24].

Важной частью нашего исследования стала оценка факторов риска патологии ЖКТ, возникающей на фоне приёма АТС и НПВП. Оказалось, что наличие язвенного анамнеза и пожилого возраста значительно (в 3–5 раз) повышает вероятность развития эрозивно-язвенных изменений СО – вызванных приёмом как АТС, так и НПВП. При этом использование ИПП статистически значимо (почти в три раза) снижало риск развития эрозивно-язвенных изменений.

Таким образом, полученные нами данные показывают серьёзное различие в характере эндоскопических изменений слизистой верхнего отдела ЖКТ, возникающих на фоне приёма АТС и НПВП. Конечно, на полученный результат могло повлиять различие в демографических показателях исследуемых групп. Так, среди пациентов, получавших АТС, преобладали мужчины, а среди принимавших НПВП – женщины. Однако в группах пациентов с выявленными эрозивно-язвенными поражениями гастродуodenальной слизистой эти показатели не имели столь значимых различий: соотношение мужчин и

женщин в 1-й группе составило 34,6 % : 41,7 %, во 2-й группе – 37,6 % : 32,1 %, а пациенты старше 65 лет в обеих группах встречались одинаково часто – в 24,6 % и 27,1 % соответственно. Кроме этого, на частоту и характер эрозивно-язвенных изменений СО могло повлиять различие в возрасте: больные, получавшие НПВП, были в среднем значительно старше. Эти факторы могут рассматриваться как определённое ограничение значимости настоящего исследования.

Тем не менее, важно отметить, что для АТС типично диффузное поражение СО с развитием множественных эрозий, а для НПВП-гастропатии – в основном единичных язв антравального отдела желудка. Наличие язвенного анамнеза и пожилой возраст пациентов существенно повышают риск развития этой патологии. Применение ИПП следует считать эффективной мерой по профилактике опасных ЖКТ-осложнений, связанных с приёмом АТС и НПВП.

Несомненно, требуются дальнейшие, более крупные проспективные исследования патологии верхних отделов ЖКТ, связанной с приёмом АТС, а также методов их эффективной профилактики.

Информация о вкладе авторов

Мороз Е.В. – сбор и анализ клинических данных пациентов в отделении гастроэнтерологии ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации.

Каратеев А.Е – сбор и анализ клинических данных пациентов в ФГБНУ Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой.

Крюков Е.В. – общее руководство проводимым исследованием, координация действий различных служб и структурных подразделений ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации.

Соколов А.А., Артемкин Э.Н. – выполнение эндоскопических исследований с оценкой и анализом характера изменений слизистой верхнего отдела желудочно-кишечного тракта у больных на фоне приёма АТС и НПВП.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мороз Е.В., Каратеев А.Е., Крюков Е.В., Чернецов В.А. Желудочно-кишечные кровотечения при использовании новых пероральных антикоагулянтов: эпидемиология, факторы риска, лечение и профилактика. *Научно-практическая ревматология*. 2017; 55(6): 675-684. doi: 10.14412/1995-4484-2017-675-684
2. Gralnek IM, Dumonceau JM, Kuipers EJ, Lanas A, Sanders DS, Kurien M, et al. Diagnosis and management of nonvariceal upper gastrointestinal hemorrhage: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline. *Endoscopy*. 2015; 47(10): a1-46. doi: 10.1055/s-0034-1393172.
3. Laursen SB. Treatment and prognosis in peptic ulcer bleeding. *Dan Med J*. 2014; 61(1): B4797.
4. Федеральная служба государственной статистики. *Здравоохранение в России* 2017. М., 2017.
5. Каратеев А.Е., Насонов Е.Л., Ивашкин В.Т., Мартынов А.И., Яхно Н.Н., Арутюнов Г.П., и др. Рациональное использование нестероидных противовоспалительных препаратов. Клинические рекомендации. *Научно-практическая ревматология*. 2018; 56: 1-29. doi: 10.14412/1995-4484-2018-1-29
6. Fashner J, Gitu AC. Diagnosis and treatment of peptic ulcer disease and *H. pylori* infection. *Am Fam Physician*. 2015; 91(4): 236-242.

7. Deutsch D, Boustière C, Ferrari E, Albaladejo P, Morange PE, Benamouzig R. Direct oral anticoagulants and digestive bleeding: therapeutic management and preventive measures. *Therap Adv Gastroenterol.* 2017; 10(6): 495-505. doi: 10.1177/1756283X17702092
8. Cheung KS, Leung WK. Gastrointestinal bleeding in patients on novel oral anticoagulants: Risk, prevention and management. *World J Gastroenterol.* 2017; 23(11): 1954-1963. doi: 10.3748/wjg.v23.i11.1954
9. Lavie CJ, Howden CW, Scheiman J, Tursi J. Upper gastrointestinal toxicity associated with long-term aspirin therapy: consequences and prevention. *Curr Probl Cardiol.* 2017; 42(5): 146-164. doi: 10.1016/j.cpcardiol.2017.01.006
10. Cryer B, Mahaffey KW. Gastrointestinal ulcers, role of aspirin, and clinical outcomes: pathobiology, diagnosis, and treatment. *J Multidiscip Healthc.* 2014; 7: 137-146. doi: 10.2147/JMDH.S54324
11. Lanas A, Chan FKL. Peptic ulcer disease. *Lancet.* 2017; 390(10094): 613-624. doi: 10.1016/S0140-6736(16)32404-7
12. Hsu PI, Tsai TJ. Epidemiology of upper gastrointestinal damage associated with low-dose aspirin. *Curr Pharm Des.* 2015; 21(35): 5049-5055. doi: 10.2174/1381612821666150915104800
13. Sostres C, Gargallo CJ, Lanas A. Interaction between *Helicobacter pylori* infection, nonsteroidal anti-inflammatory drugs and/or low-dose aspirin use: old question new insights. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(28): 9439-9450. doi: 10.3748/wjg.v20.i28.9439
14. Uemura N, Sugano K, Hiraishi H, Shimada K, Goto S, Uchiyama S, et al. Risk factor profiles, drug usage, and prevalence of aspirin-associated gastroduodenal injuries among high-risk cardiovascular Japanese patients: the results from the MAGIC study. *J Gastroenterol.* 2014; 49(5): 814-824. doi: 10.1007/s00535-013-0839-5
15. Thomopoulos KC, Mimidis KP, Theocharis GJ, Gatopoulou AG, Kartalis GN, Nikolopoulou VN. Acute upper gastrointestinal bleeding in patients on long-term oral anticoagulation therapy: endoscopic findings, clinical management and outcome. *World J Gastroenterol.* 2005; 11(9): 1365-1368. doi: 10.3748/wjg.v11.i9.1365
16. Rubin TA, Murdoch M, Nelson DB. Acute GI bleeding in the setting of supratherapeutic international normalized ratio in patients taking warfarin: endoscopic diagnosis, clinical management, and outcomes. *Gastrointest Endosc.* 2003; 58(3): 369-373. doi: 10.1067/S0016-5107(03)00010-5
17. Graham DY, White RH, Moreland LW, Schubert TT, Katz R, Jaszewski R, et al. Duodenal and gastric ulcer prevention with misoprostol in arthritis patients taking NSAIDs. *Ann Intern Med.* 1993; 119(4): 257-262. doi: 10.7326/0003-4819-119-4-199308150-00001
18. Raskin JB, White RH, Jackson JE, Weaver AL, Tindall EA, Lies RB, et al. Misoprostol dosage in the prevention of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastric and duodenal ulcers: a comparison of three regimens. *Ann Intern Med.* 1995; 123(5): 344-350. doi: 10.7326/0003-4819-123-5-199509010-00004
19. Cullen D, Bardhan KD, Eisner M, Kogut DG, Peacock RA, Thomson JM, et al. Primary gastroduodenal prophylaxis with omeprazole for non-steroidal anti-inflammatory drug users. *Aliment Pharmacol Ther.* 1998; 12(2): 135-140. doi: 10.1046/j.1365-2036.1998.00288.x
20. Ekström P, Carling L, Wetterhus S, Wingren PE, Anker-Hansen O, Lundegårdh G, et al. Prevention of peptic ulcer and dyspeptic symptoms with omeprazole in patients receiving continuous non-steroidal anti-inflammatory drug therapy. A Nordic multicentre study. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31(8): 753-758. doi: 10.3109/00365529609010347
21. Graham DY, Agrawal NM, Campbell DR, Haber MM, Collis C, Lukasik NL, et al. Ulcer prevention in long-term users of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Arch Intern Med.* 2002; 162(2): 169-175. doi: 10.1001/archinte.162.2.169
22. Hunt RH, Harper S, Callegari P, Yu C, Quan H, Evans J, et al. Complementary studies of the gastrointestinal safety of the cyclooxygenase-2-selective inhibitor etoricoxib. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003; 17(2): 201-210. doi: 10.1046/j.1365-2036.2003.01407.x
23. Hunt RH, Harper S, Watson DJ, Yu C, Quan H, Lee M, et al. The gastrointestinal safety of the COX-2 selective inhibitor etoricoxib assessed by both endoscopy and analysis of upper gastrointestinal events. *Am J Gastroenterol.* 2003; 98(8): 1725-1733. doi: 10.1111/j.1572-0241.2003.07598.x
24. Карапеев А.Е., Насонова В.А. Развитие и рецидивирование язв желудка и двенадцатиперстной кишки у больных, принимающих нестероидные противовоспалительные препараты. *Терапевтический архив.* 2008; 80(5), 62-66.

REFERENCES

1. Moroz EV, Karateev AE, Kryukov EV, Chernetsov VA. Gastrointestinal bleeding when using the new oral anticoagulants: epidemiology, risk factors, prevention and treatment. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya.* 2017; 55(6): 675-684. doi: 10.14412/1995-4484-2017-675-684. (In Russ.)
2. Gralnek IM, Dumonceau JM, Kuipers EJ, Lanas A, Sanders DS, Kurien M, et al. Diagnosis and management of nonvariceal upper gastrointestinal hemorrhage: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline. *Endoscopy.* 2015; 47(10): a1-46. doi: 10.1055/s-0034-1393172.
3. Laursen SB. Treatment and prognosis in peptic ulcer bleeding. *Dan Med J.* 2014; 61(1): B4797.
4. Federal State Statistics Service. *Healthcare in Russia 2017.* Moscow; 2017. (In Russ.)
5. Karateev AE, Nasonov EL, Ivashkin VT, Martynov AI, Yakhno NN, Arutyunov GP, et al. Rational use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Clinical guidelines. *Rheumatology Science and Practice.* 2018; 56: 1-29. doi: 10.14412/1995-4484-2018-1-29. (In Russ.)
6. Fashner J, Gitu AC. Diagnosis and treatment of peptic ulcer disease and *H. pylori* infection. *Am Fam Physician.* 2015; 91(4): 236-242.
7. Deutsch D, Boustière C, Ferrari E, Albaladejo P, Morange PE, Benamouzig R. Direct oral anticoagulants and digestive bleeding: therapeutic management and preventive measures. *Therap Adv Gastroenterol.* 2017; 10(6): 495-505. doi: 10.1177/1756283X17702092
8. Cheung KS, Leung WK. Gastrointestinal bleeding in patients on novel oral anticoagulants: Risk, prevention and management. *World J Gastroenterol.* 2017; 23(11): 1954-1963. doi: 10.3748/wjg.v23.i11.1954
9. Lavie CJ, Howden CW, Scheiman J, Tursi J. Upper gastrointestinal toxicity associated with long-term aspirin therapy: consequences and prevention. *Curr Probl Cardiol.* 2017; 42(5): 146-164. doi: 10.1016/j.cpcardiol.2017.01.006
10. Cryer B, Mahaffey KW. Gastrointestinal ulcers, role of aspirin, and clinical outcomes: pathobiology, diagnosis, and treatment. *J Multidiscip Healthc.* 2014; 7: 137-146. doi: 10.2147/JMDH.S54324
11. Lanas A, Chan FKL. Peptic ulcer disease. *Lancet.* 2017; 390(10094): 613-624. doi: 10.1016/S0140-6736(16)32404-7
12. Hsu PI, Tsai TJ. Epidemiology of upper gastrointestinal damage associated with low-dose aspirin. *Curr Pharm Des.* 2015; 21(35): 5049-5055. doi: 10.2174/1381612821666150915104800
13. Sostres C, Gargallo CJ, Lanas A. Interaction between *Helicobacter pylori* infection, nonsteroidal anti-inflammatory drugs and/or low-dose aspirin use: old question new insights. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(28): 9439-9450. doi: 10.3748/wjg.v20.i28.9439
14. Uemura N, Sugano K, Hiraishi H, Shimada K, Goto S, Uchiyama S, et al. Risk factor profiles, drug usage, and prevalence of aspirin-associated gastroduodenal injuries among high-risk cardiovascular Japanese patients: the results from the MAGIC study. *J Gastroenterol.* 2014; 49(5): 814-824. doi: 10.1007/s00535-013-0839-5
15. Thomopoulos KC, Mimidis KP, Theocharis GJ, Gatopoulou AG, Kartalis GN, Nikolopoulou VN. Acute upper gastrointestinal bleeding in patients on long-term oral anticoagulation therapy: endoscopic findings, clinical management and outcome. *World J Gastroenterol.* 2005; 11(9): 1365-1368. doi: 10.3748/wjg.v11.i9.1365

16. Rubin TA, Murdoch M, Nelson DB. Acute GI bleeding in the setting of supratherapeutic international normalized ratio in patients taking warfarin: endoscopic diagnosis, clinical management, and outcomes. *Gastrointest Endosc.* 2003; 58(3): 369-373. doi: 10.1067/S0016-5107(03)00010-5
17. Graham DY, White RH, Moreland LW, Schubert TT, Katz R, Jaszewski R, et al. Duodenal and gastric ulcer prevention with misoprostol in arthritis patients taking NSAIDs. *Ann Intern Med.* 1993; 119(4): 257-262. doi: 10.7326/0003-4819-119-4-199308150-00001
18. Raskin JB, White RH, Jackson JE, Weaver AL, Tindall EA, Lies RB, et al. Misoprostol dosage in the prevention of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastric and duodenal ulcers: a comparison of three regimens. *Ann Intern Med.* 1995; 123(5): 344-350. doi: 10.7326/0003-4819-123-5-199509010-00004
19. Cullen D, Bardhan KD, Eisner M, Kogut DG, Peacock RA, Thomson JM, et al. Primary gastroduodenal prophylaxis with omeprazole for non-steroidal anti-inflammatory drug users. *Aliment Pharmacol Ther.* 1998; 12(2): 135-140. doi: 10.1046/j.1365-2036.1998.00288.x
20. Ekström P, Carling L, Wetterhus S, Wingren PE, Anker-Hansen O, Lundegårdh G, et al. Prevention of peptic ulcer and dyspeptic symptoms with omeprazole in patients receiving continuous non-steroidal anti-inflammatory drug therapy. A Nordic multicentre study. *Scand J Gastroenterol.* 1996; 31(8): 753-758. doi: 10.3109/00365529609010347
21. Graham DY, Agrawal NM, Campbell DR, Haber MM, Collis C, Lukasik NL, et al. Ulcer prevention in long-term users of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Arch Intern Med.* 2002; 162(2): 169-175. doi: 10.1001/archinte.162.2.169
22. Hunt RH, Harper S, Callegari P, Yu C, Quan H, Evans J, et al. Complementary studies of the gastrointestinal safety of the cyclooxygenase-2-selective inhibitor etoricoxib. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003; 17(2): 201-210. doi: 10.1046/j.1365-2036.2003.01407.x
23. Hunt RH, Harper S, Watson DJ, Yu C, Quan H, Lee M, et al. The gastrointestinal safety of the COX-2 selective inhibitor etoricoxib assessed by both endoscopy and analysis of upper gastrointestinal events. *Am J Gastroenterol.* 2003; 98(8): 1725-1733. doi: 10.1111/j.1572-0241.2003.07598.x
24. Karateev AE, Nasonov VA. Development and relapse of gastroduodenal ulcer in patients taking nonsteroid anti-inflammatory drugs: effects of standard risk factors. *Terapevticheskiy arkhiv.* 2008; 80(5): 62-66. (In Russ.)

Сведения об авторах

- Мороз Елена Викторовна** – кандидат медицинских наук, заведующая 10 гастроэнтерологическим отделением, ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации, e-mail: avmoroz777@rambler.ru, <http://orcid.org/00030439-6287>
- Каратеев Андрей Евгеньевич** – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией гастроэнтерологических проблем при ревматических заболеваниях, ФГБНУ Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой, e-mail: aekarat@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1391-0711>
- Крюков Евгений Владимирович** – доктор медицинских наук, профессор, начальник, ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации, e-mail: evgenykruskov@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8531-0205>
- Соколов Алексей Анатольевич** – доктор медицинских наук, профессор кафедры общей хирургии и лучевой диагностики, ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, e-mail: sokolov-alx@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4139-9954>
- Артемкин Эдуард Николаевич** – кандидат медицинских наук, заведующий отделением эндоскопии с рентген-операционной и группой анестезиологии-реанимации, ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации, e-mail: eduarddoctor@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4843-2000>

Information about the authors

- Elena V. Moroz** – Cand. Sc. (Med.), Head of the Gastrointestinal Department N 10, Burdenko Main Military Clinical Hospital, e-mail: avmoroz777@rambler.ru, <http://orcid.org/00030439-6287>
- Andrei Y. Karateev** – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratories of Gastroenterological Problems with Rheumatic Diseases, V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, e-mail: aekarat@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-1391-0711>
- Evgeniy V. Kryukov** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head, Burdenko Main Military Clinical Hospital, e-mail: evgenykruskov@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8531-0205>
- Aleksey A. Sokolov** – Dr. Sc. (Med.), Professor of Surgery and Radiology Department, Pirogov Russian National Research Medical University, e-mail: sokolov-alx@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4139-9954>
- Eduard N. Artemkin** – Cand. Sc. (Med.), Head of the Unit of Endoscopy with X-ray Operation Room and Anesthesiology and Intensive Care Group, Burdenko Main Military Clinical Hospital, e-mail: sokolov-alx@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4139-9954>

Статья получена: 20.11.2018. Статья принята: 10.09.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 20.11.2018. Accepted: 10.09.2019. Published: 26.10.2019.

Эмпирическая терапия осложнённого пиелонефрита

Белобородов В.А., Воробьев В.А., Опанасюк П.В.

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

Ответственный за переписку: Воробьев Владимир Анатольевич, e-mail: terdenecer@gmail.com

Резюме

Осложнённая инфекция верхних мочевых путей считается, если у пациента имеются внутренние факторы, затрудняющие излечение, в сравнении с обычными неосложнёнными формами.

Цель исследования: анализ эффективности эмпирической терапии у пациентов с установленной осложнённой инфекцией верхних мочевых путей (осложнёнными пиелонефритами) для построения прогностической модели успешности лечения в зависимости от осложняющего фактора.

Материалы и методы. Ретроспективному исследованию подвергнуты результаты исследования и лечения 51 пациента урологического стационара ОГАУЗ ИГКБ № 1. Средний возраст пациентов составил $55,9 \pm 16,9$ года. Гармоническое среднее продолжительности заболевания составило 3,7, а медиана – 7 (3; 244) дней. Половое распределение было неравномерным – 16 (31 %) мужчин и 35 (69 %) женщин ($p = 0,028$).

Результаты. Успешной эмпирической терапии считалась при отсутствии коррекции схемы лечения и нормализации клинических анализов крови и мочи. Из включённых в исследование пациентов успешной эмпирической терапии оказалась у 24 (47 %) пациентов, а потребовала коррекции у 27 (52,9 %) пациентов. Цефалоспорины в качестве монотерапии оказались неэффективны у 24 (57,1 %) пациентов, карбопенемы – у 1 (25 %), фторхинолоны – у всех (100 %). Наилучший результат показали аминогликозиды в качестве комбинированной терапии с цефалоспоринами – 100 % ($n = 3$) успешности.

На основании многофакторного логистического регрессионного анализа установлено, что выявление микрогематурии и уремии в клинических анализах при поступлении в стационар увеличивает вероятность неэффективности эмпирической монотерапии цефалоспоринами 3-го поколения на 20 % и 27 % соответственно.

Заключение. Целесообразно воздержаться от применения монотерапии фторхинолонами и цефалоспоринами третьего поколения до получения более широкой информации об устойчивости уропатогенов в популяции жителей Иркутского региона. Пациенты с нарушением почечной функции требуют особенно пристального внимания клинициста при выборе схемы эмпирической терапии осложнённых пиелонефритов.

Ключевые слова: пиелонефрит, осложнённый пиелонефрит, хронический пиелонефрит, эмпирическая антибактериальная терапия

Для цитирования: Белобородов В.А., Воробьев В.А., Опанасюк П.В. Эмпирическая терапия осложнённого пиелонефрита. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 26-30. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.4

Empirical Therapy of Complicated Pyelonephritis

Beloborodov V.A., Vorobev V.A., Opanasyuk P.V.

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

Corresponding author: Vladimir A. Vorobev, e-mail: terdenecer@gmail.com

Abstract

The aim of the research was to analyze the effectiveness of empirical therapy in patients with established complicated upper urinary tract infection (complicated pyelonephritis).

Materials and methods. 51 patients who were treated in 2018 in the urological department of the Irkutsk City Clinical Hospital N 1 were subjected to a retrospective study. The average age of patients was 55.9 ± 16.9 years.

Results. Successful empirical therapy was considered in the absence of correction of the treatment regimen and the normalization of clinical blood and urine tests. Of the patients included in the study, successful empirical therapy was found in 24 (47%) patients, and required correction in 27 (52.9 %) patients. Cephalosporins as monotherapy were ineffective in 24 (57.1 %) patients, carbopenems – in one (25 %), fluoroquinolones – in all (100 %). Aminoglycosides showed the best result as a combination therapy with cephalosporins – 100 % ($n = 3$) of success.

Based on multivariate logistic regression analysis, it was established that the detection of microhematuria and uremia in clinical analyzes upon admission to the hospital increases the likelihood of empirical monotherapy with third-generation cephalosporins by 20 % and 27 %, respectively.

Conclusion. It is advisable to refrain from the use of monotherapy with fluoroquinolones and third-generation cephalosporins until more information is available about the resistance of uropathogens in the population of the Irkutsk region. Patients with impaired renal function require particularly close attention of the clinician when choosing a scheme for the empirical treatment of complicated pyelonephritis.

Key words: pyelonephritis, complicated pyelonephritis, chronic pyelonephritis, empirical antibacterial therapy

For citation: Beloborodov V.A., Vorobev V.A., Opanasyuk P.V. Empirical Therapy of Complicated Pyelonephritis. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 26-30. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.4

Пиелонефрит – это неспецифическое инфекционно-воспалительное заболевание почек, при котором в процесс вовлекаются почечная лоханка, чашечки и паренхима почки с поражением в первую очередь единительной ткани [1].

Инфекция верхних мочевых путей встречается реже, чем инфекция мочевого пузыря. При этом она является более сложной проблемой для пациента и врача из-за её изменчивых проявлений и клинического течения, а также трудностей в установлении микробиологического и патологического диагноза. Хотя классические симптомы острого начала, такие как лихорадка, озноб и боли в боку, обычно указывают на почечную инфекцию, у некоторых пациентов с этими симптомами воспаление верхних мочевых путей отсутствует. И наоборот, выраженное воспаление может как проявляться неспецифическими местными или системными симптомами, так и быть совершенно бессимптомным. Поэтому для верного установления диагноза необходима высокая клиническая настороженность и соответствующие рентгенологические и лабораторные исследования.

Осложнённой инфекции верхних мочевых путей считается, если у пациента имеются внутренние факторы, затрудняющие излечение. К данным факторам относятся: обструкция на любом участке мочевыводящих путей; инфекция мочевых путей у мужчин; наличие любого инородного тела в мочевых путях; беременность; хроническая задержка мочи; сахарный диабет; пузирно-мочеточниковый рефлюкс; иммунодепрессия; урологические вмешательства в анамнезе; госпитальная инфекция [2, 3, 4, 5].

Клиническая картина осложнённой инфекции верхних мочевых путей может варьировать от тяжёлого обструктивного острого пиелонефрита с неизбежным уросепсисом до катетер-ассоциированной инфекции, которая может разрешиться самопроизвольно сразу после удаления катетера. Необходимо учитывать, что симптомы, особенно нижних мочевых путей, вызваны не только инфекцией, но и другими урологическими расстройствами (например, доброкачественная гиперплазия предстательной железы и нейрогенные расстройства мочеиспускания у пациентов с поражениями позвоночника). Сопутствующие заболевания, такие как сахарный диабет, иммунодефицит, мочекаменная болезнь и почечная недостаточность, которые могут быть связаны с урологическими нарушениями, также часто относят к осложняющим лечение факторам. Отдельное внимание традиционно уделяется гестационным пиелонефритам, также относимым к изначально осложнённой инфекции мочевых путей.

Основные диагностические приёмы при любой форме инфекции верхних мочевых путей однотипны. Они включают общеклинический анализ крови и мочи, культуральное исследование мочи, ультразвуковое исследование, магнитно-резонансную (МРТ) или рентгенологическую (МСКТ) компьютерную томографию (противопоказана при беременности) мочевых путей [3, 4].

Спектр патогенов при осложнённой инфекции намного больше, чем при её неосложнённых формах, а бактерии с большей вероятностью будут устойчивыми (особенно при госпитальной инфекции). *Escherichia coli*, семейства *Proteus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Serratia* и *Enterococcus* являются наиболее часто выявляемыми па-

тогенами [3, 4]. Преобладают энтеробактерии (60–75 %), а наиболее распространённым патогеном при первичной инфекции является кишечная палочка. Тем не менее, спектр бактерий у конкретного пациента может изменяться с течением времени, в том числе и при смене лечебного учреждения [6].

Основной принцип лечения осложнённых пиелонефритов заключается в устранении осложняющего фактора. Коррекция гликемии, деривация мочи при уретерогидронефрозах, иммунокоррекция, удаление инородных тел и т. п. Оптимальная антимикробная терапия зависит от тяжести заболевания, а также от антибиотикорезистентности в регионе и специфических факторов пациента (например, аллергия). Кроме того, после получения результата культурального исследования мочи следует провести коррекцию лечения.

Пациенты, у которых выявляются симптомы системного заболевания, обычно госпитализируются в стационар, и изначально антибактериальные препараты (аминогликозиды, амоксициллин, или цефалоспорин второго или третьего поколения) им вводят парентерально. Реже применяются карбопенемы, цефалоспорины четвёртого поколения, фторхинолоны или комбинации препаратов разных групп [2]. Режим применения должен быть адаптирован на основе усреднённой резистентности в регионе, а также особенностей параметров пациента (выраженность воспаления, оценка почечной функции и т. п.) [7]. Применение монотерапии фторхинолонами в России у урологических пациентов с осложнённой инфекцией ограничено высоким уровнем резистентности (более 10 %) [8, 9]. Общая продолжительность антимикробной терапии должна быть не менее 7–14 дней [10].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ эффективности эмпирической терапии у пациентов с установленной осложнённой инфекцией верхних мочевых путей (осложнёнными пиелонефритами) для построения прогностической модели успешности лечения в зависимости от осложняющего фактора.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ретроспективное одноцентровое исследование выполнено в условиях урологического отделения Иркутской городской клинической больницы № 1. Среди прошедших лечение с инфекцией верхних мочевых путей в 2018 г. был отобран 51 пациент с установленным диагнозом осложнённого пиелонефрита.

Обязательными методами комплексного обследования для установки верного диагноза считали: общеклинические анализы крови и мочи; культуральное исследование мочи и ультразвуковое исследование мочевыделительной системы. Применили дополнительные методы диагностики: обзорная и экскреторная урография, МСКТ или МРТ (в случае беременности), урография.

В группу отбора вошли пациенты, которые выполнили рекомендованный объём обследования, а диагноз осложнённого пиелонефрита у них не вызывал сомнения.

Критериями исключения были: неполный объём обследования; сомнительные диагностические результаты. Пациентки с гестационным пиелонефритом были исключены из выборки. Эмпирическая терапия считалась

успешной при нормализации контрольных клинических анализов крови и мочи, полном купировании симптомов заболевания.

Средний возраст пациентов составил $55,9 \pm 16,9$ года. Гармоническое среднее продолжительности заболевания составило 3,7, а медиана – 7 (3; 244) дней. Половое распределение было неравномерным: 16 (31 %) мужчин и 35 (69 %) женщин ($p = 0,028$). Первичная инфекция в течение полугода выявлена у 45 (88,2 %), а повторная – у 6 (11,7 %) пациентов ($p < 0,0001$).

По данным результатов исследований определяли степень выраженности и локализацию воспалительного очага, а также осложняющие факторы. Односторонний осложнённый пиелонефрит был установлен у 37 (72,5 %), двухсторонний – у 14 (27,5 %) пациентов ($p = 0,007$). Изменение цвета мочи отмечено у 9 (17,6 %), прозрачности – у 34 (66,6 %) пациентов. Смещение pH мочи в щелочную форму выявлено у 3 (5,8 %) пациентов. Минимальная протеинурия (от 300 мг до 1 г) выявлена у 6 (11,7 %) пациентов. Значимая лейкоцитурия (более 10 лейкоцитов в поле зрения) выявлена у 30 (58,8 %) пациентов.

Культуральное исследование мочи, полученной в первые 24 часа от начала лечения, оказалось положительным у 18 (35,2 %) пациентов.

На основании ультразвукового исследования выявлены следующие осложняющие факторы. Уретеро-

гидронефроз вследствие различных причин выявлен у 19 (37,2 %) пациентов, мочекаменная болезнь – у 16 (31,3 %), врождённые аномалии развития почек – у 5 (9,8 %) пациентов. Всем пациентам с нарушениями уродинамики выполнена деривация мочи одним из методов: катетеризация мочевого пузыря, стентирование или стомиорование почки.

Среднетяжёлая гипергликемия (8,3–11 ммоль/л) выявлена у 6 (11,7 %), а тяжёлая – у 2 (3,9 %) пациентов. Уремия выявлена у 13 (25,4 %), гипербилирубинемия – у 1 (1,9 %), а гипоуринемия – у 15 (29,4 %) пациентов.

Эмпирическую терапию проводили по стандартной схеме. Цефалоспорины 3-го поколения были назначены в качестве монотерапии 42 (82,3 %) пациентам. Монотерапия карбопенемами проводилась у 4 (7,8 %), фторхинолонами – у 2 (3,9 %) пациентов. Комбинация цефалоспоринов 3-го поколения и аминогликозидов в качестве стартовой терапии избрана у 3 (5,8 %) пациентов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Успешной эмпирической терапии считалась при отсутствии коррекции схемы лечения и нормализации клинических анализов крови и мочи. Из включённых в исследование пациентов успешной эмпирической терапии оказалась у 24 (47 %) пациентов, потребовала коррекции – у 27 (52,9 %) пациентов. Цефалоспорины в качестве

Предикторы безуспешности эмпирической терапии

Predictors of empirical therapy failure

Таблица 1

Table 1

Гипотеза	Признак	Однофакторный анализ		Многофакторный анализ	
		χ^2	ОШ (95% ДИ)	p	ОШ (95% ДИ)
Монотерапия цефалоспоринами 3-го поколения безуспешна. Многофакторная логит-регрессия: $\chi^2 = 5,46$	Возраст	0,19	0,007 (-0,02–0,04)	0,664	–
	Мужской пол	0,44	0,444 (-0,87–1,7)	0,510	–
	Давность заболевания	0,33	-0,0003 (-0,001–0,0009)	0,565	–
	Рецидивная инфекция	0,14	-0,336 (-2,068–1,395)	0,703	–
	Двухсторонний процесс	0,27	-0,379 (-1,805–1,046)	0,602	–
	Микрогематурия	3,55	1,203 (-0,077–2,485)	0,066	1,016 (-0,3–2,3)
	Пиурия	1,18	-0,693 (-1,958–0,572)	0,283	–
	Конкременты почек	0,35	-0,405 (-1,752–0,941)	0,555	–
	Уретерогидронефроз	0,03	-0,113 (-1,347–1,120)	0,857	–
	Аномалии развития МВС	0,14	-0,336 (-2,068–1,395)	0,703	–
	Гипергликемия	0,94	0,148 (-0,181–0,477)	0,379	–
	Уремия	3,15	1,272 (-0,208–2,754)	0,092	1,048 (-0,48–2,58)
	Операции по поводу МКБ	1,56	0,916 (-0,537–2,369)	0,217	–
	Дренирование МВС	1,57	0,788 (-0,459–2,036)	0,215	–

Примечание. МВС – мочевыделительная система; МКБ – мочекаменная болезнь.

монотерапии оказались неэффективны у 24 (57,1 %) пациентов, карбопенемы – у 1 (25 %), фторхинолоны – у всех (100 %). Наилучший результат получен при применении аминогликозидов в качестве комбинированной терапии с цефалоспоринами – 100 % ($n = 3$) успешности.

Неудовлетворительные результаты продемонстрировали все случаи применения групп препаратов, кроме комбинации цефалоспоринов третьего поколения с аминогликозидами. Размер выборки и представления в ней монотерапии карбопенемами и фторхинолонами не позволил построить достоверную прогностическую модель, поэтому выполнен анализ безуспешности эмпирической терапии цефалоспоринами 3-го поколения.

Для определения предикторов безуспешности эмпирической терапии цефалоспоринами проведён однофакторный и многофакторный логистический регрессионный анализ. Отбор предикторных переменных осуществляли по исходным параметрам. Сведения о предикторных факторах безуспешности монотерапии карбопенемами (однофакторный и многофакторный логистический регрессионный анализ) представлены в таблице 1.

Учитывая размер выборки и представление факторов, выполнен статистический учет при значимости $p < 0,1$ для однофакторного анализа и $p < 0,2$ – для многофакторного анализа. При проведении простого (однофакторного) логистического регрессионного анализа среди 42 пациентов, получавших монотерапию цефалоспоринами 3-го поколения, некоторые показатели приобрели особую значимость в прогнозе неэффективности эмпирической терапии. Это потребовало выполнения коррекции лечения. Таковыми показателями оказались: микрогематурия (ОШ = 1,203; 95% ДИ –0,077–2,485; $p = 0,066$) и уремия (ОШ = 1,272; 95% ДИ –0,208–2,754; $p = 0,092$).

Полученные результаты были использованы для построения модели прогноза в многофакторном регрессионном анализе (выбор из предикторных факторов с уровнем значимости $p < 0,1$). Значимым предиктором безуспешной эмпирической терапии цефалоспоринами 3-го поколения также стали микрогематурия (ОШ = 1,016; 95% ДИ –0,3–2,3; $p = 0,133$) и уремия (ОШ = 1,048; 95% ДИ –0,48–2,58; $p = 0,181$). Отношение шансов менее единицы указывает на протективный эффект, а более единицы – на провоцирующий эффект выявленных предикторных переменных. На основании данного отношения вычислена степень влияния предиктора. Таким образом, выявление микрогематурии и уремии в клинических анализах в момент госпитализации в стационар увеличивает вероятность неэффективности эмпирической монотерапии цефалоспоринами 3-го поколения на 20 % и 27 % соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные в исследовании результаты позволяют сделать несколько значимых выводов.

Во-первых, ни одна из схем эмпирической монотерапии не соответствует критериям высокой эффективности. Наихудший результат получен при использовании цефалоспоринов третьего поколения. Данное явление, вероятно, обусловлено отличным показателем резистентности микроорганизмов к антимикробным препаратам в Иркутском регионе от известных российских

и мировых показателей. Широкая и лёгкая доступность таблетированных и суспензированных форм цефалоспоринов третьего поколения, их рутинное применение в различных отраслях медицины создали предпосылки к их исключению из стартового набора терапии инфекции мочевых путей в Иркутском регионе. Это диктует необходимость широкой и комплексной оценки этих показателей в различных многопрофильных стационарах конкретного региона с обсуждением итогов среди медицинской общественности для цели разработки локальных клинических рекомендаций.

Во-вторых, множество различных факторов (возраст, пол, антропометрические характеристики, давность заболевания, большой спектр сопутствующих состояний, перенесённые ранее операции и др.) не оказали значимого влияния на негативный прогноз эффективности лечения при назначении монотерапии цефалоспоринами третьего поколения. Единственными достоверными негативными прогностическими факторами стали нарушение почечной функции и микрогематурия, вероятно, вследствие имеющегося хронического поражения почек. Это вполне логично, так как факт наличия почечной недостаточности оказывает существенное влияние на достижение необходимой концентрации антимикробного агента в плазме крови, удлиняя период полувыведения. Следствием этого является также и удлинение периода накопления препарата для достижения киллинговой концентрации в почечной паренхиме и чашечно-лоханочной системе.

В-третьих, наибольшую эффективность продемонстрировало применение комбинированных схем антимикробной терапии. Это требует более детального последующего изучения в связи с малым представлением в статистической выборке.

ВЫВОДЫ

В начале исследования была поставлена цель оценить эффективность эмпирической терапии при осложнённом пиелонефrite. Ни один из стартовых препаратов при монотерапии (цефалоспорины третьего поколения, карбопенемы, фторхинолоны) в группе исследования не показал высокой эффективности. Целесообразно воздержаться от применения монотерапии фторхинолонами и цефалоспоринами третьего поколения до получения более широкой и достоверной информации об устойчивости уропатогенов в популяции жителей Иркутского региона. Пациенты с нарушением почечной функции требуют особенно пристального внимания клинициста при выборе схемы эмпирической терапии осложнённого пиелонефрита.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Прозрачность исследования

Исследование не имело спонсорской поддержки. Исследователи несут полную ответственность за представление окончательной версии рукописи в печать.

Декларация о финансовых и иных взаимодействиях.

Все авторы принимали участие в разработке концепции и дизайна исследования и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получали гонорар за исследование.

ЛИТЕРАТУРА

- Лопаткин Н.А. Урология: национальное руководство. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2011.
- Geerlings SE, van den Broek PJ, van Haarst EP, Vleming LJ, van Haaren KMA, Janknegt R, et al. Optimisation of the antibiotic policy in the Netherlands. X. The SWAB guideline for antimicrobial treatment of complicated urinary tract infections. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 2006; 150(43): 2370-2376.
- Hooton TM, Bradley SF, Cardenas DD, Colgan R, Geerlings SE, Rice JC, et al. Diagnosis, prevention, and treatment of catheter-associated urinary tract infection in adults: 2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2010; 50(5): 625-663. doi: 10.1086/650482
- Peterson J, Kaul S, Khashab M, Fisher A, Kahn JB. Identification and pretherapy susceptibility of pathogens in patients with complicated urinary tract infection or acute pyelonephritis enrolled in a clinical study in the United States from November 2004 through April 2006. *Clin Ther.* 2007; 29(10): 2215-2221. doi: 10.1016/j.clinthera.2007.10.008
- Sahu MK, Siddharth B, Choudhury A, Vishnubhatla S, Singh SP, Menon R, et al. Incidence, microbiological profile of nosocomial infections, and their antibiotic resistance patterns in a high volume Cardiac Surgical Intensive Care Unit. *Ann Card Anaesth.* 2016; 19(2): 281-287. doi: 10.4103/0971-9784.179625
- Bader MS, Hawboldt J, Brooks A. Management of complicated urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance. *Postgrad Med.* 2010; 122(6): 7-15. doi: 10.3810/pgm.2010.11.2217
- Gupta K, Hooton TM, Naber KG, Wullt B, Colgan R, Miller LG, et al. International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women: A 2010 update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. *Clin Infect Dis.* 2011; 52(5): e103-120. doi: 10.1093/cid/ciq257
- Gupta K. Addressing antibiotic resistance. *Am J Med.* 2002; 113(1, Suppl 1): 29-34. doi: 10.1016/s0002-9343(02)01057-4
- Wagenlehner F, Tandogdu Z, Bartoletti R, Cai T, Cek M, Kulchavanya E, et al. The global prevalence of infections in urology study: A long-term, worldwide surveillance study on urological infections. *Pathogens.* 2016; 5(1): 10. doi: 10.3390/pathogens5010010
- Rubin RH, Shapiro ED, Andriole VT, Davis RJ, Stamm WE. Evaluation of new anti-infective drugs for the treatment of urinary tract infection. Infectious Diseases Society of America and the Food and Drug Administration. *Clin Infect Dis.* 1992; 15(Suppl 1): S216-227. doi: 10.1093/clind/15.supplement_1.s216

REFERENCES

- Lopatkin NA. *Urology: national guidelines.* Moscow: GEOTAR-Media; 2011.
- Geerlings SE, van den Broek PJ, van Haarst EP, Vleming LJ, van Haaren KMA, Janknegt R, et al. Optimisation of the antibiotic policy in the Netherlands. X. The SWAB guideline for antimicrobial treatment of complicated urinary tract infections. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 2006; 150(43): 2370-2376.
- Hooton TM, Bradley SF, Cardenas DD, Colgan R, Geerlings SE, Rice JC, et al. Diagnosis, prevention, and treatment of catheter-associated urinary tract infection in adults: 2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2010; 50(5): 625-663. doi: 10.1086/650482
- Peterson J, Kaul S, Khashab M, Fisher A, Kahn JB. Identification and pretherapy susceptibility of pathogens in patients with complicated urinary tract infection or acute pyelonephritis enrolled in a clinical study in the United States from November 2004 through April 2006. *Clin Ther.* 2007; 29(10): 2215-2221. doi: 10.1016/j.clinthera.2007.10.008
- Sahu MK, Siddharth B, Choudhury A, Vishnubhatla S, Singh SP, Menon R, et al. Incidence, microbiological profile of nosocomial infections, and their antibiotic resistance patterns in a high volume Cardiac Surgical Intensive Care Unit. *Ann Card Anaesth.* 2016; 19(2): 281-287. doi: 10.4103/0971-9784.179625
- Bader MS, Hawboldt J, Brooks A. Management of complicated urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance. *Postgrad Med.* 2010; 122(6): 7-15. doi: 10.3810/pgm.2010.11.2217
- Gupta K, Hooton TM, Naber KG, Wullt B, Colgan R, Miller LG, et al. International clinical practice guidelines for the treatment of acute uncomplicated cystitis and pyelonephritis in women: A 2010 update by the Infectious Diseases Society of America and the European Society for Microbiology and Infectious Diseases. *Clin Infect Dis.* 2011; 52(5): e103-120. doi: 10.1093/cid/ciq257
- Gupta K. Addressing antibiotic resistance. *Am J Med.* 2002; 113(1, Suppl 1): 29-34. doi: 10.1016/s0002-9343(02)01057-4
- Wagenlehner F, Tandogdu Z, Bartoletti R, Cai T, Cek M, Kulchavanya E, et al. The global prevalence of infections in urology study: A long-term, worldwide surveillance study on urological infections. *Pathogens.* 2016; 5(1): 10. doi: 10.3390/pathogens5010010
- Rubin RH, Shapiro ED, Andriole VT, Davis RJ, Stamm WE. Evaluation of new anti-infective drugs for the treatment of urinary tract infection. Infectious Diseases Society of America and the Food and Drug Administration. *Clin Infect Dis.* 1992; 15(Suppl 1): S216-227. doi: 10.1093/clind/15.supplement_1.s216

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>
- Воробьев Владимир Анатольевич** – ассистент кафедры общей хирургии и анестезиологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: terdenecer@gmail.com <https://orcid.org/0000-0003-3285-5559>
- Опанасюк Павел Владиславович** – студент третьего курса лечебного факультета, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: PoavelOpanasyick@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1486-717X>

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>
- Vladimir A. Vorobev** – Teaching Assistant at the Department of General Surgery and Anesthesiology, Irkutsk State Medical University, e-mail: terdenecer@gmail.com <https://orcid.org/0000-0003-3285-5559>
- Pavel V. Opanasyuk** – Student, Irkutsk State Medical University, e-mail: PoavelOpanasyick@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1486-717X>

Статья получена: 10.04.2019. Статья принята: 19.08.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 10.04.2019. Accepted: 19.08.2019. Published: 26.10.2019.

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

INFECTIOUS DISEASES

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.5.5

Оценка эффективности вакцинации населения против чумы в Тувинском природном очаге

Корытов К.М.¹, Войткова В.В.¹, Дубровина В.И.¹, Пятидесятникова А.Б.¹, Носков А.К.¹, Глушкин Э.А.², Акимова И.С.², Ондар Н.В.², Салчак Л.К.³, Монгуш О.С.³, Дажикай А.Д.³, Сайды А.А.⁴, Ортеней Ю.К.⁵, Балахонов С.В.¹

¹ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора (664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78, Россия); ²ФКУЗ «Тувинская противочумная станция» Роспотребнадзора (667010, г. Кызыл, ул. Московская, 13, Россия);

³Управление Роспотребнадзора по Республике Тыва, Кызыл, Российской Федерации (667010, г. Кызыл, ул. Калинина, 116, Россия); ⁴Территориальный отдел Управления Роспотребнадзора по Республике Тыва в Овюрском районе (668130, с. Хандагайты, ул. Октябрьская, 20, Россия); ⁵ГБУЗ РТ «Овюрская центральная кожуунная больница» (668130, с. Хандагайты, ул. Октябрьская, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Дубровина Валентина Ивановна, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru

Резюме

Актуальность. Чума – это особо опасное природно-очаговое инфекционное заболевание. На территории Российской Федерации расположены 11 природных очагов чумы. В Республике Тыва к эндемичным по чуме относятся территории Овюрского, Монгун-Тайгинского и Тес-Хемского районов, где периодически выделяются штаммы возбудителя у длиннохвостых сусликов. Согласно нормативным документам, населению, проживающему на территории природных очагов чумы, при осложнении эпизоотологической и эпидемической обстановки проводится специфическая профилактика.

В работе представлены результаты мониторинга показателей иммунного статуса вакцинированных чумной вакциной людей, проживающих на территории Тувинского природного очага.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 76 добровольцев, ранее не вакцинированных и проживающих на энзоотичной территории по чуме, расположенной в непосредственной близости от Боро-Шайского мезоочага Тувинского природного очага чумы. Исследование включало определение продукции IFN-γ, IL-4, TNF-α клетками крови, титров специфических антител к капсульному антигену F1 чумного микробы и концентраций основных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови, а также иммунофенотипирование лимфоцитов крови (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19).

Результаты. В ходе комплексного иммунологического исследования были установлены особенности развития клеточных и гуморальных реакций у вакцинированных в первые месяцы после вакцинации живой чумной вакциной. Изменения динамики концентраций иммуноглобулинов сопровождались повышением уровня специфических IgG к F1 *Yersinia pestis* в течение 6 месяцев после иммунизации. В этот же период об активации клеточного иммунитета свидетельствует существенное повышение продукции IFN-γ, IL-4, TNF-α, а также достоверные изменения показателей субпопуляционного состава крови.

Заключение. Отмечена важность изучения иммунного статуса людей в 1-3-й месяц после вакцинации против чумы, поскольку этот период приходится на потенциально опасный в эпидемиологическом отношении сезон. Немаловажную роль для совершенствования тактики применения мероприятий по специфической профилактике играют данные, полученные после ревакцинации.

Ключевые слова: чума, природный очаг, вакцинация, кровь, иммуноглобулин, цитокин, иммунофенотипирование

Для цитирования: Корытов К.М., Войткова В.В., Дубровина В.И., Пятидесятникова А.Б., Носков А.К., Глушкин Э.А., Акимова И.С., Ондар Н.В., Салчак Л.К., Монгуш О.С., Дажикай А.Д., Сайды А.А., Ортеней Ю.К., Балахонов С.В. Оценка эффективности вакцинации населения против чумы в Тувинском природном очаге. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 31-37. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.5

Efficiency of Human Plague Vaccination in Tuvian Natural Plague Focus

Korytov K.M.¹, Voitkova V.V.¹, Dubrovina V.I.¹, Pyatidesyatnikova A.B.¹, Noskov A.K.¹, Glushkov E.A.², Akimova I.S.², Ondar N.V.², Salchak L.K.³, Mongush O.S.³, Saydy A.A.⁴, Orteney Yu.K.⁵, Balakhonov S.V.¹

¹Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor (Trilisser str. 78, 664047 Irkutsk, Russian Federation); ²Tuvian Antiplague Station of Rospotrebnadzor (Moskovskaya str. 13, 667010 Kyzyl, Russian Federation); ³Regional Office of

Rospotrebnadzor in Republic of Tyva (Kalinin str. 116, 667010 Kyzyl, Russian Federation); ⁴Territorial Office of Rospotrebnadzor in Ovur Region (Oktyabrskaya str. 20, 668130 Khandagayty, Russian Federation); ⁵Ovur Central Kozhuun Hospital (Oktyabrskaya str. 1, 668130 Khandagayty, Russian Federation)

Corresponding author: Valentina I. Dubrovina, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru

Abstract

Background. Plague is an especially dangerous natural focal infectious disease belonging to a group of quarantine infections. There are eleven natural plague foci in Russian Federation. In Republic Tyva plague endemic territories include Ovyur, Mongun-Taigin and Tes-Hem areas where *Y. pestis* strains are intermittently isolated from *Citellus undulatus*. Population living at the territory of the natural foci get immunoprophylaxis against plague at complication of epizootic and epidemic conditions.

This paper presents the results of monitoring indicators of the immune status of people vaccinated with the plague vaccine living in the territory of the Tuva natural focus.

Materials and methods. The study involved 76 volunteers who had not previously been vaccinated. The study included the determination of production IFN- γ , IL-4, TNF- α by blood cells, titers of specific IgG antibodies to the capsule F1 antigen of the *Yersinia pestis*, and concentrations of immunoglobulins in serum blood, as well as immunophenotyping of blood lymphocytes.

Results. In the course of a comprehensive immunological study, features of the development of cellular and humoral reactions in people living in the territory of the Tuva natural plague focus were established in the first months after vaccination. Changes in the concentration dynamics of the main classes of immunoglobulins were accompanied by an increase in the level of specific IgGs to the F1 within 6 months after immunization. In the same period, a significant increase in the production of cytokines, as well as significant changes in terms of the subpopulation composition of the vaccinated blood.

Conclusion. It is necessary to note the importance of studying of the human immune status in 1–3 months after plague vaccination as this period coincides with potentially dangerous season from epidemiological point of view. Nevertheless, much important role for improvement of tactics of the specific prevention measures plays the data received after the revaccination.

Key words: plague, natural focus, vaccination, blood, immunoglobulin, cytokine, immunophenotyping

For citation: Korytov K.M., Voitkova V.V., Dubrovina V.I., Pyatidesyatnikova A.B., Noskov A.K., Glushkov E.A., Akimova I.S., Ondar N.V., Salchak L.K., Mongush O.S., Saydy A.A., Orteney Yu.K., Balakhonov S.V. Efficiency of Human Plague Vaccination in Tuvinian Natural Plague Focus. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 31-37. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.5

Чума – особо опасное природно-очаговое инфекционное заболевание группы карантинных инфекций, возбудителем которого является *Yersinia pestis* [1–3]. Эта болезнь характеризуется высокой летальностью и контагиозностью, а также включена в перечень болезней, подлежащих санитарной охране территорий на национальном и международном уровнях. Поэтому каждый случай заболевания человека чумой является основанием для объявления чрезвычайной ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения [4–7].

На территории Российской Федерации расположены 11 природных очагов чумы: Центрально-Кавказский высокогорный, Терско-Сунженский низкогорный, Дагестанский равнинно-предгорный, Прикаспийский Северо-Западный степной, Волго-Уральский степной, Забайкальский степной, Волго-Уральский песчаный, Прикаспийский песчаный, Восточно-Кавказский высокогорный, Горно-Алтайский высокогорный и Тувинский горный [8]. В Республике Тыва к эндемичным по чуме относятся территории Овюрского, Монгун-Тайгинского и Тес-Хемского районов, где периодически выделяются штаммы возбудителя у длиннохвостых сусликов [9].

Населению, проживающему на территории природных очагов чумы, при осложнении эпизоотологической и эпидемической обстановки проводится иммунопрофилактика против чумы. В Российской Федерации для специфической профилактики чумы применяется живая чумная вакцина (ЖЧВ) отечественного производства (ФКУЗ Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора) [10, 11].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Провести мониторинг показателей иммунного статуса вакцинированных чумной вакциной людей, проживающих на территории Тувинского природного очага.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 76 добровольцев, ранее не вакцинированных против чумы, проживающих

на энзоотичной территории по чуме, расположенной в непосредственной близости от Боро-Шайского мезоочага Тувинского природного очага чумы (с. Хандагайты, Овюрский кожуун, Республика Тыва). Критерием включения в исследование служили: отсутствие в анамнезе вакцинации и противопоказаний к ЖЧВ в соответствии с инструкцией к данной вакцине, возраст не моложе 18 лет.

Исследуемая группа людей по этническому признаку представлена исключительно тувинцами. При этом из всей группы 51 % приходится на женщин, а 49 % – на мужчин (рис. 1). Основная часть добровольцев входит в возрастную группу от 26 до 50 лет (67 % от общего числа).

Вакцинацию людей проводили медицинские работники ГБУЗ РТ «Овюрская ЦКБ» в соответствии с Санитарно-эпидемиологическими правилами СП 3.1.7.2492 – 09 «Профилактика чумы» однократно накожным способом с использованием коммерческой ЖЧВ (ФКУЗ Ставропольский исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора).

Исследование полученного клинического материала проводили согласно разработанным в РосНИПЧИ «Микроб» методическим рекомендациям «Оценка уровня иммунитета у лиц, вакцинированных (ревакцинированных) против чумы» (Саратов, 2015 г.), которое включало определение спонтанной и митогениндуцированной продукции биомаркерных цитокинов (IFN- γ , IL-4, TNF- α) клетками крови, титров специфических антител IgG к капсульному антигену F1 чумного микробы и концентраций основных классов иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA и IgE) в сыворотке крови, а также иммунофенотипирование лимфоцитов крови (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19) [12, 13].

Забор клинического материала (крови) проводили до вакцинации (1-й срок), через 1 (2-й срок), 3 (3-й срок) и 6 (4-й срок) месяцев после вакцинации ЖЧВ с помощью вакуумных систем для взятия крови (Improve, Китай и Vacutest Kima, Италия). Из крови выделяли сыворотку по стандартной методике. Для определения уровня продукции цитокинов кровь предварительно смешивали с питательной средой RPMI 1640, содержащей 100 мкг/мл

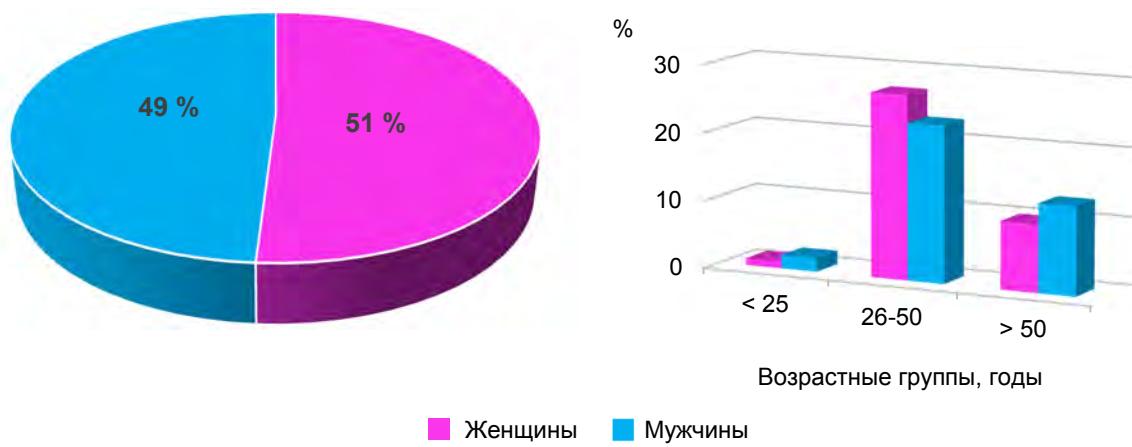


Рис. 1. Характеристика исследуемой группы людей по полу (а) и возрасту (б).

Fig. 1. Characteristics of the studied group of people by gender (a) and age (b).

тентамицина, в соотношении 1 : 4. В опытные пробы вносили по 100 мкл Т-клеточного митогена конканавалин А в концентрации 15 мкг/мл, а в контрольные – забуференный физиологический раствор (ЗФР), и инкубировали 24 часа при температуре 37 °С.

Количественное определение уровня цитокинов в спонтанной/индуцированной Т-клеточным митогеном конканавалином А пробах и основных классов иммуноглобулинов оценивали методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческих тест-систем ЗАО «Вектор-Бест» (р. п. Кольцово, Новосибирская область) согласно инструкциям производителя. Концентрацию цитокинов выражали в пг/мл, а иммуноглобулинов – в мг/мл (классы M, G и A) и МЕ/мл (класс E). Для оценки титра специфических антител к капсульному антигену F1 чумного микробы использовали иммуноферментную тест-систему «ИФА-Ат-Ф1 *Yersinia pestis*» (ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», г. Саратов). Учёт оптической плотности осуществляли на автоматическом ридере ELx 808 IU (Biotek Instruments Inc, США).

Фенотип лимфоцитов определяли с использованием сертифицированных моноклональных антител (МКАт, производства Becton Dickinson, США) в панели: CD3-PE-Cy7, CD4-PerCP, CD8-APC-Cy7, CD16-PE, CD19-FITC. Для чего готовили «коктейль» МКАт в соответствии с инструкцией производителя. В пробирку для цитофлуориметрического анализа добавляли 50 мкл крови с ЭДТА и 75 мкл коктейля МКАт, перемешивали на воротке и инкубировали при 4 °С в темноте в течение 30 мин. Лизис эритроцитов проводили с помощью BD FACSTM Lysing solution (Becton Dickinson, США) согласно инструкции. Затем образцы центрифугировали при 300 г в течение 5 мин с последующим двукратным отмыванием ЗФР. По завершении процесса отмывания клеток осаждённые лейкоциты ресуспендировали в 450 мкл ЗФР. Анализ окрашенных МКАт образцов проводили на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto™ II (Becton Dickinson, США) в программе BD Diva 6.0. В каждой пробе анализировалось не менее 10 000 клеток. Для изучения клеточного звена определяли следующие субпопуляции лимфоцитов Т-лимфоциты (CD3+), Т-хелперы (CD3+CD4+), цитотоксические Т-лимфоциты (CD3+CD8+), NK-клетки (CD3-CD16+) и В-лимфоциты (CD3-CD19+). Рассчиты-

вали иммунорегуляторный индекс (ИРИ) по формуле: CD3+CD4+/CD3+CD8+ у.е.

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 противочумный институт Роспотребнадзора.

Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA» версия 6.1 непараметрическими критериями Уилкоксона и Фридмана для парных и множественных сравнений соответственно, 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 сравнительном анализе показателей основных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови людей индикаторной группы установлено статистически значимое снижение концентрации IgM спустя 1, 3 и 6 месяцев по сравнению со значениями до проведения вакцинации ЖЧВ. Кроме того, зафиксировано достоверное снижение уровня IgG на 2-м сроке наблюдения, однако спустя 2 месяца уровень данных антител возвращался к исходным значениям. При этом все выявленные изменения концентраций основных классов иммуноглобулинов варьировали в пределах референсных значений (табл. 1).

При исследовании сывороток крови людей, проживающих на территории Тувинского очага чумы, было показано, что положительная сероконверсия отмечалась в 86 % случаев через 1 месяц после вакцинации ЖЧВ, средний титр равняется 1 : 156,3. Тем не менее, только в 37 % случаев зафиксирован уровень специфических антител к фракции 1 чумного микробы, превышающий

Таблица 1

Динамика основных классов иммуноглобулинов, Me (Q25%–Q75%)

Table 1

Dynamics of the major classes of immunoglobulins, Me (Q25% –Q75%)

Показатель	До вакцинации	После вакцинации, месяц		
		1-й месяц	3-й месяц	6-й месяц
IgE общ., ME/мл	25,0 (10,0–130,0)	20,0 (0–85,0)	50,0 (50,0–110,0)	32,0 (15,0–81,0)
IgM, мг/мл	1,8 (1,2–2,6)	1,4 (1,2–1,8)*	1,7 (1,2–2,0)*	1,3 (0,6–1,9)**
IgA, мг/мл	1,3 (0,9–2,0)	1,9 (1,4–2,4)**	1,5 (0,9–1,9)	1,9 (1,1–2,6)
IgG, мг/мл	13,4 (9,0–21,2)	8,4 (5,7–11,6)**	14,0 (7,4–22,4)	13,0 (6,6–17,4)

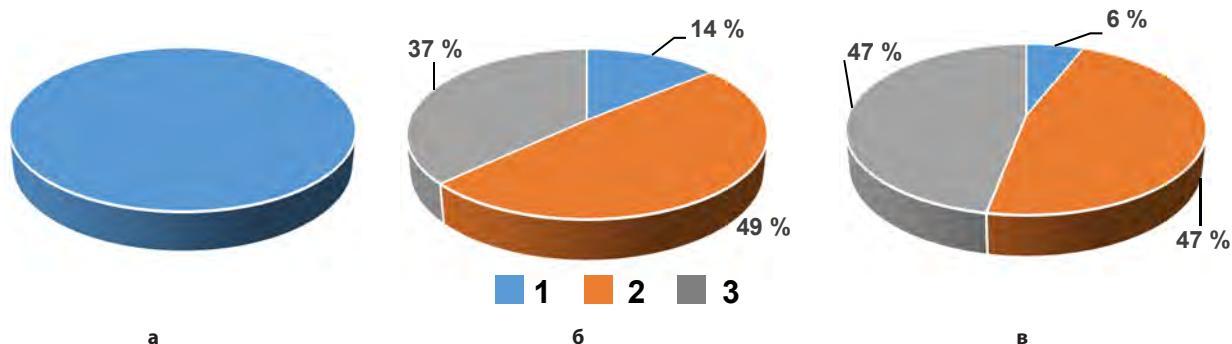
Примечание. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ – уровни значимости по отношению к значениям показателя до проведения вакцинации.

Рис. 2. Процентное соотношение титров антител к F1 *Y. pestis* у людей, вакцинированных ЖЧВ. **а** – 1-й срок; **б** – 2-й срок; **в** – 3-й срок; 1 – титр АТ меньше диагностического; 2 – титр АТ на уровне диагностического; 3 – титр АТ выше диагностического; согласно инструкции производителя диагностический титр составляет 1 : 80.

Fig. 2. Percentage ratio of antibody titre to F1 *Y. pestis* in humans vaccinated with live plague vaccine. **a** – period 1; **b** – period 2; **c** – period 3; 1 – antibody titre is less than diagnostic; 2 – antibody titre at the diagnostic level; 3 – antibody titre higher than diagnostic; diagnostic titre is 1 : 80 according to the instruction of the manufacturer.

Таблица 2

Спонтанная и индуцированная продукция цитокинов (TNF- α , IFN- γ и IL-4) у людей, вакцинированных ЖЧВ, Me (Q25%–Q75%)

Table 2

Spontaneous and induced production of cytokines (TNF- α , IFN- γ and IL-4) in humans vaccinated with live plague vaccine, Me (Q25%–Q75%)

Показатель	До вакцинации		После вакцинации, месяц					
	спонт. продукция	индуцир. продукция	1-й месяц		3-й месяц		6-й месяц	
			спонт. продукция	индуцир. продукция	спонт. продукция	индуцир. продукция	спонт. продукция	индуцир. продукция
IFN- γ , пг/мл	100 (0–280)	240 (6–350)	3 (2–4)	16 (7–26)	180 (120–260)***	320 (200–440)***	220 (140–260)***	400 (320–800)***
TNF- α , пг/мл	60 (60–103)	99,5 (60–250)	42 (19–86)**	860 (570–1200)***	100 (100–100)	101 (100–200)	140 (140–300)***	300 (140–540)***
IL-4, пг/мл	0 (0–0,5)	0,5 (0–0,5)	0 (0–0)	0 (0–0)	2,6 (0,75–2,6)***	4,0 (2,6–6,4)***	1,0 (0,0–2,6)***	0,0 (0,0–0,5)***

Примечание. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ – уровни значимости по отношению к значениям показателя до проведения вакцинации.

диагностический титр, равный 1 : 80. Через 3 месяца после вакцинации наблюдалась схожая картина – лишь в 6 % случаев уровень антител не превышал значения диагностического титра и составил в среднем 1 : 137,3 (рис. 2)

Установлено статистически значимое повышение концентрации IFN- γ и IL-4 через 3 и 6 месяцев после вакцинации по сравнению с исходными значениями. Изменение уровня TNF- α зафиксировано спустя 1 и 6 месяцев после вакцинации. При этом, у всех обследованных митогенная стимуляция вызывала достоверное повышение выработки цитокинов клетками периферической крови по отношению к спонтанной продукции во все сроки наблюдения (табл. 2).

В ходе изучения клеточного состава крови вакцинированных ЖЧВ людей, проживающих на территории

Тувинского природного очага чумы, было установлено статистически значимое снижение CD3 $^{+}$ -клеток через 1, 3 и 6 месяцев после вакцинации в сравнении с исходным уровнем. При этом наблюдалось статистически значимые увеличение содержания CD3 $^{+}$ CD8 $^{+}$ -лимфоцитов на 2-й и 4-й сроки наблюдения и снижение уровня CD3 $^{+}$ CD4 $^{+}$ -клеток через 3 месяца, а через 6 месяцев – достоверное повышение этих популяций. Динамика содержания В-клеток крови соответствует текущему вакцинальному процессу: повышение их относительного содержания после вакцинации и постепенное снижение. Известно, что натуральные киллеры относятся к клеточным факторам неспецифической резистентности, которые лизируют клетки-мишени, инфицированные вирусами и другими внутриклеточными агентами. Нами показано, что по-

Таблица 3
Динамика содержания натуральных киллеров, Т- и В-лимфоцитов в крови вакцинированных против чумы людей, Me (Q25%–Q75%)

Table 3
Content dynamics of natural killers, T- and B-lymphocytes in blood of humans vaccinated against the plague, Me (Q25% –Q75%)

Показатель	До вакцинации	После вакцинации, месяц		
		1-й месяц	3-й месяц	6-й месяц
CD3 ⁺ -клетки, %	64,9 (58,1–70,1)	61,9 (55,1–68,1)**	53,5 (48,5–60,2)***	74,4 (67,3–76,7)***
CD3 ⁺ CD8 ⁺ -клетки, %	29,4 (24,1–35,1)	30,3 (23,4–35,7)*	28,9 (20,1–38,1)	26,4 (23,6–31,4)***
CD3 ⁺ CD4 ⁺ -клетки, %	29,6 (24,5–33,5)	28,3 (23,8–32,8)	24,3 (20,5–26,7)***	38,5 (32,2–43,7)***
CD3 ⁺ CD16 ⁺ -клетки, %	16,7 (12,9–21,9)	19,2 (13,1–25,2)***	20,9 (17,6–25,1)***	13,6 (7,0–19,3)**
CD19 ⁺ -клетки, %	9,5 (7,2–12,3)	12,2 (8,5–14,2)***	12,1 (8,5–16,0)**	7,5 (5,2–9,1)***

Примечание. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ – уровни значимости по отношению к значениям показателя до проведения вакцинации.

Таблица 4
Динамика иммунорегуляторный индекс (ИРИ), Me (Q25%–Q75%)

Table 4
Dynamics of immunoregulatory index, Me (Q25% –Q75%)

Показатель	До вакцинации	После вакцинации, месяц		
		1-й месяц	3-й месяц	6-й месяц
ИРИ, у.е.	1,0 (0,8–1,3)	1,0 (0,7–1,3)	0,8 (0,6–1,2)*	1,3 (1,2–1,7)**

Примечание. * $p < 0,01$, ** $p < 0,001$ – уровни значимости по отношению к значениям показателя до проведения вакцинации.

сле вакцинации ЖЧВ содержание NK увеличивается в 1,1–1,2 раза по сравнению с показателями до иммунизации (табл. 3).

Увеличение процентного содержания CD3⁺CD8⁺-клеток после вакцинации людей ЖЧВ сопровождалось изменением иммунорегуляторного индекса (ИРИ) – снижение на 3-й срок наблюдения за счёт Т-хелперов. А повышение значения ИРИ через 6 месяцев после вакцинации происходило за счёт увеличения доли Т-хелперов (табл. 4).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе комплексного иммунологического исследования были установлены статистически значимые особенности развития клеточных и гуморальных реакций у людей, проживающих на территории Тувинского природного очага чумы, в первые месяцы после вакцинации живой чумной вакциной. Так, изменения динамики концентраций основных классов иммуноглобулинов (A, M и G) сопровождались повышением уровня специфических IgG к капсулному антигену F1 *Y. pestis* в течение 6 месяцев после проведения иммунизации. В этот же период об активации клеточного иммунитета свидетельствует существенное повышение спонтанной и индуцированной продукции про- и противовоспалительных цитокинов, а также достоверные изменения в отношении показателей субпопуляционного состава крови вакцинированных. Стоит отметить важность изучения иммунного статуса людей в начальные сроки (1–3-й месяц) после вакцинации против чумы, поскольку этот период приходится на потенциально опасный в эпидемиологическом отношении сезон. Тем не менее, не- мало важную роль для совершенствования тактики применения мероприятий по специфической профилактике играют данные, полученные после повторной вакцинации (ревакцинации) [12, 13]. В связи с чем дальнейшее исследование иммунного статуса вакцинированных против

чумы людей, проживающих на территории Тувинского природного очага, является актуальным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Perry RD, Fetherston JD. *Yersinia pestis* – etiologic agent of plague. *Clin Microbiol Rev*. 1997; 10(1): 35–66.
2. Henry R. Etymologia: Plague. *Emerg Infect Dis*. 2018; 24(1): 102. doi: 10.3201/eid2401.ET2401
3. Дубровина В.И., Коновалова Ж.А., Витязева С.А., Марков Е.Ю., Балахонов С.В., Загоскина Т.Ю. Чума: вопросы патогенеза и иммуногенеза: учебное пособие. Иркутск: ИЦХТ; 2016.
4. Forrester JD, Apangu T, Griffith K, Acayo S, Yockey B, Kagwaga J. et al. Patterns of human plague in Uganda, 2008–2016. *Emerging Infectious Diseases*. 2017; 23(9): 1517–1521. doi: 10.3201/eid2309.170789
5. Yun-fang Li, De-biao Li, Hong-sheng Shao, Hong-jun Li, Yue-dong Han. Plague in China 2014 – All sporadic case report of pneumonic plague. *BMC Infect Dis*. 2016; 16: 85. doi: 10.1186/s12879-016-1403-8
6. Балахонов С.В., Афанасьев М.В., Шестопалов М.Ю., Остяк А.С., Витязева С.А., Корзун В.М. и др. Первый случай выделения *Yersinia pestis* subsp. *pestis* в Алтайском горном природном очаге чумы. Сообщение 1. Микробиологическая характеристика, молекулярно-генетическая и масс-спектрометрическая идентификация изолятов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013; (1): 60–65. doi: 10.21055/0370-1069-2013-1-60-65
7. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б. и др. Случай заболевания человека чумой в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге в 2014 г. В: *Материалы XII Межгосударственной научно-практической конференции государств-участников «Вклад государств-участников содружества независимых государств в обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения в современных условиях»*, 25–26 ноября 2014 года. Саратов; 2014. стр. 130–132.
8. Попов Н.В., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Вершинин С.А. и др. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в 2008–2017 гг. и прогноз на 2018 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; (1): 50–55. doi: 10.21055/0370-1069-2018-1-50-55

9. Балахонов С.В., Вержуцкий Д.Б., Иннокентьева Т.И. Эпидемиологическая оценка современного состояния природных очагов чумы в Сибири. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2010; 2(51): 34-37.
10. Feodorova VA, Sayapina LV, Corbel MJ, Motin VL. Russian vaccines against especially dangerous bacterial pathogens. *Emerg Microb Infect*. 2014; 3(1): e86. doi: 10.1038/emi.2014.82
11. Аксенова В.А., Алексеев Л.П., Апарин П.Г. *Вакцины и вакцинация: национальное руководство*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2011.
12. Бугоркова С.А., Щуковская Т.Н., Микшиш Н.И., Клюева С.Н., Кудрявцева О.М., Кравцов А.Л. и др. Комплексное иммунологическое исследование вакцинированных живой чумной вакциной лиц, проживающих на территории Прикаспийского песчаного очага чумы в Республике Калмыкия. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2018; 17(3): 38-50. doi: 10.31631/2073-3046-2018-17-3-38-50
13. Корытов К.М., Войткова В.В., Дубровина В.И., Носков А.К., Мищенко А.И., Михайлов Е.П. и др. Оценка иммунологической эффективности вакцинации населения против чумы в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2018; 17(6): 87-97. doi: 10.31631/2073-3046-2018-17-87-97
- REFERENCES**
1. Perry RD, Fetherston JD. *Yersinia pestis* – etiologic agent of plague. *Clin Microbiol Rev*. 1997; 10(1): 35-66.
 2. Henry R. Etymologia: Plague. *Emerg Infect Dis*. 2018; 24(1): 102. doi: 10.3201/eid2401.ET2401
 3. Dubrovina VI, Konovalova ZA, Vityazeva SA, Markov EYu, Balakhonov SV, Zagorskina TYu. *Plague: issues of pathogenesis and immunogenesis: a tutorial*. Irkutsk: ISCST; 2016. (in Russ.)
 4. Forrester JD, Apangu T, Griffith K, Acayo S, Yockey B, Kaggwa J, et al. Patterns of human plague in Uganda, 2008–2016. *Emerging Infectious Diseases*. 2017; 23(9): 1517-1521. doi: 10.3201/eid2309.170789
 5. Yun-fang Li, De-biao Li, Hong-sheng Shao, Hong-jun Li, Yue-dong Han. Plague in China 2014 – All sporadic case report of pneumonic plague. *BMC Infect Dis*. 2016; 16: 85. doi: 10.1186/s12879-016-1403-8
 6. Balakhonov SV, Afanasiev MV, Shestopalov MYu, Ostyak AS, Vityazeva SA, Korzun VM, et al. The first case of *Yersinia pestis* subsp. *pestis* isolation in the territory of Altai Mountain Natural Plague focus. Report 1. Microbiological characteristics, molecular-genetic and mass-spectrometric identification of the isolate. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2013; (1): 60-65. doi: 10.21055/0370-1069-2013-1-60-65. (in Russ.)
 7. Kutyrev VV, Popova AYu, Yezhlova EB, et al. The case of human plague in the Gorno-Altaisk high-mountain natural focus in 2014. In: *Materialy XII Mezhdunarodnogo nauchno-prakticheskoy konferentsii gosudarstv-uchastnikov «Vklad gosudarstv-uchastnikov soderzhestva nezavisimykh gosudarstv v obespechenie sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya naseleniya v sovremennykh usloviyakh»*, 25-26 November 2014. Saratov; 2014. p. 130-132. (in Russ.)
 8. Popov NV, Kuznetsov AA, Matrosov AN, Korzun VM, Verzhutsky DB, Vershinin SA, et al. Epizootic activity of natural plague foci of the Russian Federation in 2008–2017 and forecast for 2018. *Problemy osobo opasnykh infekts.* 2018; (1): 50-55. doi: 10.21055/0370-1069-2018-1-50-55. (In Russ.)
 9. Balakhonov SV, Verzhutsky DB, Innokentieva TI. Epidemiological evaluation of the current state of natural focus plague in Siberia. *Epidemiologiya i vaktsinoprophylaktika*. 2010; 2(51): 34-37. (in Russ.)
 10. Feodorova VA, Sayapina LV, Corbel MJ, Motin VL. Russian vaccines against especially dangerous bacterial pathogens. *Emerg Microb Infect*. 2014; 3(1): e86. doi: 10.1038/emi.2014.82
 11. Aksanova VA, Alexeev LP, Aparin PG. *Vaccines and Vaccination: National Guide*. Moscow: GEOTAR-Media; 2011. (in Russ.)
 12. Bugorkova SA, Shchukovskaya TN, Mikishis NI, Klyueva SN, Kudryavtseva OM, Kravtsov AL, et al. Comprehensive immunological study of persons vaccinated with live plague vaccine living on the territory of the Pre-Caspian Sand foci of the plague in the Republic of Kalmykia. *Epidemiologiya i vaktsinoprophylaktika*. 2018; 17(3): 38-50. doi: 10.31631/2073-3046-2018-17-3-38-50. (In Russ.)
 13. Korytov KM, Voitkova VV, Dubrovina VI, Noskov AK, Mishchenko AI, Mikhailov EP, et al. Immunological efficiency of human plague vaccination in the Gorno-Altai high-mountain natural plague focus. *Epidemiologiya i vaktsinoprophylaktika*. 2018; 17(6): 87-97. doi: 10.31631/2073-3046-2018-17-87-97. (In Russ.)

Сведения об авторах

Корытов Константин Михайлович – научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: konstmikhkor@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1137-6049>

Войткова Валентина Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: vvoitkova@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0685-7625>

Дубровина Валентина Ивановна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

Пятидесятникова Анна Борисовна – младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, <http://orcid.org/0000-0002-6381-4517>

Носков Алексей Кимович – кандидат медицинских наук, заведующий отделом санитарной охраны территории и мониторинга ЧС, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: noskov-epid@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

Глушков Эдуард Анатольевич – директор, ФКУЗ «Тувинская противочумная станция» Роспотребнадзора

Акимова Ирина Сергеевна – заместитель директора, ФКУЗ «Тувинская противочумная станция» Роспотребнадзора

Ондар Ненила Валерьевна – заведующая эпидемиологическим отделом, ФКУЗ «Тувинская противочумная станция» Роспотребнадзора

Салчак Людмила Кимовна – руководитель Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Тыва

Монгуш Ольга Сереновна – заместитель руководителя Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Тыва

Дажакай Аляна Девин-ололовна – начальник отдела эпидемиологического надзора, Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Тыва

Сайды Алимаа Алексеевна – руководитель Территориального отдела Управления Роспотребнадзора по Республике Тыва в Овюрском районе

Ортненей Юрий Кан-ололович – и. о. главного врача, ГБУЗ РТ «Овюрская центральная кожуунная больница»

Балахонов Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, директор, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, e-mail: balakhonov.irk@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Information about the authors

Konstantin M. Korytov – Research Officer, Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, e-mail: konstmikhkor@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1137-6049>

Valentina V. Voitkova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer, Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, e-mail: vvoitkova@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0685-7625>

Valentina I. Dubrovina – Dr. Sc. (Biol.), Head of Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-8561-6207>

Anna B. Pyatidesyatnikova – Junior Research Officer, Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, <http://orcid.org/0000-0002-6381-4517>

Alexey K. Noskov – Cand. Sc. (Med.), Head of Department of Sanitary Protection of the Territory and Monitoring of Emergencies, Irkutsk Research Antiplague Institute of Rospotrebnadzor, e-mail: noskov-epid@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

Eduard A. Glushkov – Director, Tuvinian Antiplague Station of Rospotrebnadzor

Irina S. Akimova – Deputy Director, Tuvinian Antiplague Station of Rospotrebnadzor

Nenila V. Ondar – Head of Epidemiology Department, Tuvinian Antiplague Station of Rospotrebnadzor

Lyudmila K. Salchak – Head of Regional Office of Rospotrebnadzor in Republic of Tyva

Olga S. Mongush – Deputy Head of Regional Office of Rospotrebnadzor in Republic of Tyva

Alyana D. Dazhikay – Head of Department of Epidemiological Surveillance, Regional Office of Rospotrebnadzor in Republic of Tyva

Alimaa A. Saydy – Head of Territorial Office of Rospotrebnadzor in Ovyur Region

Yuri K. Orteney – Acting Chief Medical Officer, Ovyur Central Kozhuun Hospital

Sergey V. Balakhonov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor, e-mail: balakhonov.irk@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Вклад авторов

Корытов Константин Михайлович – планирование эксперимента, постановка реакций, учёт и анализ результатов, написание статьи

Войткова Валентина Владимировна – планирование эксперимента, анализ результатов, оформление статьи

Дубровина Валентина Ивановна – планирование эксперимента, анализ результатов, написание статьи

Пятидесятникова Анна Борисовна – постановка реакций, учёт результатов

Носков Алексей Кимович – подбор индикаторной группы, подготовка эксперимента, написание статьи

Глушкин Эдуард Анатольевич – работа с население по подбору добровольцев, подготовка забора материала для исследования

Акимова Ирина Сергеевна – работа с население по подбору добровольцев, подготовка забора материала для исследования

Ондар Ненила Валерьевна – обеспечение забора материала для исследований

Салчак Людмила Кимовна – планирование научной темы, работа с население по подбору добровольцев, анализ данных

Монгуш Ольга Сереновна – работа с население по подбору добровольцев, анализ данных

Дажикай Аляна Девин-ооловна – обеспечение забора материала для исследований

Сайды Алима Алексеевна – работа с население по подбору добровольцев, обеспечение забора материала для исследования

Ортеней Юрий Кан-оолович – обеспечение вакцинации добровольцев и забора материала для исследований

Балахонов Сергей Владимирович – планирование научной темы, оформление статьи

Статья получена: 17.04.2019. Статья принята: 17.07.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 17.04.2019. Accepted: 17.07.2019. Published: 26.10.2019.

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.5.6

Бактериальные биоплёнки при гнойно-септических инфекциях

Савилов Е.Д.^{1,2}, Анганова Е.В.², Носкова О.А.^{1,3}, Духанина А.В.¹

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

²Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава РФ (664079, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия); ³ГБУЗ Иркутская государственная областная детская клиническая больница (664022, г. Иркутск, бульвар Гагарина, 4, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Носкова Ольга Александровна, e-mail: noskovaepid@yandex.ru

Резюме

Значительная часть инфекционных заболеваний обусловлена способностью их возбудителей существовать в форме биоплёнок. Биоплёночные инфекции существенно ограничивают проведение профилактических и лечебных мероприятий в медицинских учреждениях. Учитывая тот факт, что биоплёночная активность различных микроорганизмов значительно варьирует, особый интерес представляет её изучение у госпитальных штаммов.

Цель: изучение биоплёнок у микроорганизмов, выделенных из различных локусов при гнойно-септических инфекциях.

Материалы и методы. Биоплёнкообразование определяли по способности к адсорбции кристалвиолета этанолом. Оптическую плотность измеряли с помощью спектрофотометра Multiscan Plus. Исследовали бактерии различных таксономических групп (*Staphylococcaceae*, *Enterobacteriaceae*, неферментирующие грамотрицательные бактерии), выделенных из различных локусов у пациентов с сепсисом.

Результаты. Биоплёнки выявлены у подавляющего большинства протестированных микроорганизмов ($73,3 \pm 11,4\%$). Наиболее высокая степень биоплёнкообразования установлена у *Klebsiella pneumoniae* ($0,445 \pm 0,05$ единиц оптической плотности), а также преимущественно у изолятов из клинически значимых локусов (кровь, мокрота), минимальная – у *Staphylococcus haemolyticus* ($0,095 \pm 0,05$). Большая часть протестированных микроорганизмов характеризовалась средней степенью активности биоплёнкообразования; пятая часть штаммов – слабой степенью, а высокая активность пленкообразования установлена только у 13,3 % изолятов. Микробионы, выделенные из крови, мокроты и смыва с трахео-бронхиального дерева во всех случаях обладали способностью к формированию биоплёнок.

Заключение. Штаммы в большинстве случаев образуют биоплёнки и характеризуются разной степенью активности биоплёнкообразования. Подчёркивается необходимость разработки мер профилактики инфекций, вызванных биоплёнками в медицинских организациях.

Ключевые слова: бактериальные биоплёнки, гнойно-септические инфекции, локусы мониторинга, клинически значимые локусы

Для цитирования: Савилов Е.Д., Анганова Е.В., Носкова О.А., Духанина А.В. Бактериальные биоплёнки при гнойно-септических инфекциях. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 38-42. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.6

Bacteria Biofilms in Purulent-Septic Infections

Savilov E.D.^{1,2}, Anganova E.V.¹, Noskova O.A.^{1,3}, Dukhanina A.V.¹

¹ Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazev str. 16, 664003 Irkutsk, Russian Federation); Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education – Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileyniy 100, 664049 Irkutsk, Russian Federation); ³ Irkutsk Children's Clinical Hospital, Russia (Gagarina Blvd. 4, 664022 Irkutsk, Russian Federation)

Corresponding author: Olga A. Noskova, e-mail: noskovaepid@yandex.ru

Abstract

The causative agents of many infectious diseases can exist in the form of biofilms. The aim of the work is to study of the frequency of occurrence and the degree of activity of biofilm formation of microorganisms isolated from different locus in purulent-septic infections.

Materials and methods. Fifteen strains isolated from patients with purulent-septic infections were examined. Biofilms were determined by the ability to adsorption a crystalviolet to ethanol.

Results. $73,3 \pm 11,4\%$ strains had biofilms (including gram-negative bacteria – $69,2 \pm 11,9\%$; *Staphylococcus* – 100,0%; $p < 0,05$). The degree of activity of formation of biofilm by gram-negative bacteria was higher than *Staphylococcus*

$(0,302 \pm 0,04$ и $0,134 \pm 0,01$ units of optical density; $p < 0,01$). The highest activity of formation of biofilm was detected in *K. pneumoniae* isolated from patients with sepsis. Strains from clinically important locus (blood, sputum, wound discharge, abdominal fluid) had biofilms in 75,0 %; from locus of monitoring – 66,7 %. The pathogens isolated from locus of the monitoring were characterized by an average degree of activity of biofilm formation (0,180–0,360 units of optical density). Strains from clinically important locus (blood and sputum from patients with sepsis) had a high degree of biofilm formation (more than 0,360 units of optical density).

Conclusion. In most cases, strains were characterized by the presence of biofilms and differed in degrees activity of biofilm formation depending on locus.

Key words: bacteria biofilms, purulent-septic infections, locus of monitoring, clinically important locus

For citation: Savilov E.D., Anganova E.V., Noskova O.A., Dukhanina A.V. Bacteria Biofilms in Purulent-Septic Infections. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 38-42. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.6

В настоящее время предполагают, что значительная часть инфекционных заболеваний человека обусловлена способностью микроорганизмов существовать в форме биоплёночных сообществ [1, 2]. По данным ряда авторов, биоплёнки значительно затрудняют терапию пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями, повышают стоимость лечения и могут приводить к неблагоприятным исходам. Биоплёночные инфекции также отличаются склонностью к хронизации и высокой вероятности генерализации инфекционного процесса вследствие диссеминации возбудителя [3]. Биоплёнки (БП) выявлены у многих видов грамотрицательных и грамположительных бактерий [1, 4, 5, 6], в связи с чем их необходимо учитывать при исследовании механизмов инфекционного процесса. Биоплёнкообразование у микроорганизмов следует рассматривать как один из факторов патогенности, реализуемый в результате воздействия неблагоприятных факторов внешней среды или организма-хозяина (лекарственных препаратов, дезинфицирующих средств, физических факторов, иммунной системы человека). Биоплёнка – это специализированная экосистема со сложным циклом развития и кооперативным поведением входящих в неё родственных и неродственных бактерий, соединённых между собой и фиксированных на различных биотических и абиотических поверхностях (имплантатах, искусственных сердечных клапанах, катетерах, шунтах, оборудовании, изделиях медицинского назначения и т.д.). Образование биоплёнок на инвазивных материалах и изделиях может привести к развитию катетер-ассоциированных, вентилятор-ассоциированных, генерализованных гнойно-септических инфекций. В связи с этим, изучение данных свойств микроорганизмов очень актуально для отделений реанимации и интенсивной терапии, где наиболее часто используются различные инвазивные устройства. Следует отметить, что на современном этапе доказана роль биоплёнкообразующих бактерий в формировании госпитальных штаммов в стационарах различного профиля. Вместе с тем, результаты исследований свидетельствуют о более высокой степени биоплёнкообразования у бактерий, выделенных от больных, чем у микроорганизмов, выделенных с объектов внешней среды [3]. Учитывая тот факт, что биоплёночная активность различных микроорганизмов значительно варьирует, особый интерес представляет её изучение у госпитальных штаммов. На современном этапе формирование биоплёнок служит новой модельной системой для изучения развития микробов [7, 8, 9]. В то же время, несмотря на актуальность данной проблемы, бактериальные биоплёнки до сих пор являются недостаточно изученными [2].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение частоты встречаемости и степени активности биоплёнкообразования у микроорганизмов, выделенных из различных локусов при гнойно-септических инфекциях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение биоплёнкообразования проведено у штаммов, выделенных от пациентов, находящихся на стационарном лечении в Областной детской клинической больнице (г. Иркутск) с тяжёлыми гнойно-септическими инфекциями (сепсис, перитонит, вторичный гнойный менингоэнцефалит). Исследованы изолят из раневого отделяемого, мокроты, жидкости брюшной полости, зева, крови, смыва с трахеобронхиального дерева (ТБД). На способность формировать биоплёнки протестированы 15 штаммов, в том числе представители семейств *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*), *Pseudomonadaceae* (*Pseudomonas aeruginosa*), *Moraxellaceae* (*Acinetobacter calcoaceticus* / *baumannii*) и *Staphylococcaceae* (*Staphylococcus epidermidis*, *S. haemolyticus*). Всего проведено 45 исследований.

Выделение и идентификацию микроорганизмов осуществляли согласно существующим стандартным методикам [10, 11]. Для выявления образования биоплёнок использовали 96-луночные полистироловые планшеты [7]. Изолят культуры вали в мясо-пептонном бульоне при температуре 37 °C. Удаляли планктонные клетки из лунок, плёнки окрашивали с использованием 1%-ного раствора кристаллиолета с последующей инкубацией в течение 45 минут при комнатной температуре. После трёхкратного промывания дистиллированной водой осуществляли экстракцию краски из плёнки путём добавления этанола. С помощью спектрофотометра Multiscan Plus измеряли оптическую плотность (ОП) раствора при длине волны 492 нм. Полученные данные интерпретировали следующим образом: при значениях оптической плотности ниже 0,090 единиц изолят относили к неплёнкообразующим; при $0,090 < \text{ОП} \leq 0,180$ штаммы характеризовались слабой способностью к образованию бактериальной плёнки; при $0,180 < \text{ОП} \leq 0,360$ – средней; при $\text{ОП} > 0,360$ – высокой. Все эксперименты проводили в трёхкратной повторности.

Статистическую обработку результатов осуществляли в соответствии с общепринятыми методиками [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведённых нами исследований биоплёнки выявлены у $73,3 \pm 11,4$ % протестированных штаммов. При этом частота встречаемости биоплёнкообразования у грамотрицательных бактерий составила

$69,2 \pm 11,9$ %; стафилококков – 100,0 % ($p < 0,05$). Среди грамотрицательных бактерий биоплёнки выявлены как у представителей семейства *Enterobacteriaceae*, так и неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОБ) (рис. 1).

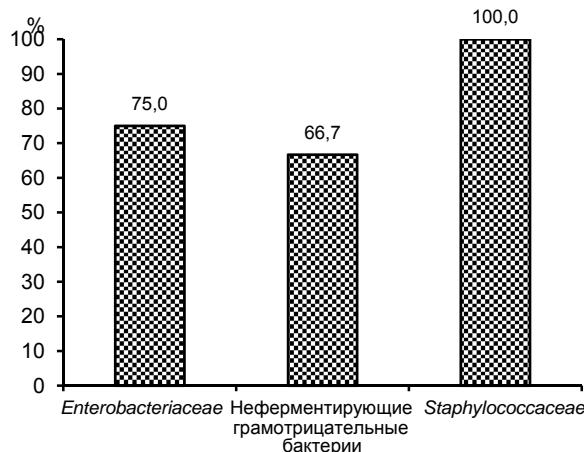


Рис. 1. Частота выявления биоплёнок у бактерий различных таксономических групп (%).

Fig. 1. The frequency of detection of biofilms in bacteria of various taxonomic groups (%).

При этом среди энтеробактерий свойство биоплёнкообразования установлено у *K. pneumoniae* и *S. marcescens*, а кишечная палочка, напротив, характеризовалась отсутствием БП. Различий в частоте встречаемости биоплёнок у неферментирующих грамотрицательных бактерий (*P. aeruginosa* и *A. calcoaceticus* / *baumannii*) не установлено (около 70 %). Среди стафилококков способность к формированию биоплёнок выявлена как у *S. epidermidis*, так и *S. haemolyticus*.

Оценка биоплёнкообразования штаммов, выделенных из различных локусов, показала, что изолятами из клинически значимых локусов (кровь, мокрота, смыв с трахеобронхиального дерева, раневое отделяемое, жидкость брюшной полости) продемонстрировали наличие биоплёнок в 100,0 % случаев; из локусов мониторинга (зев) – в 66,7 % ($p > 0,05$). Следует отметить, что штаммы, выделенные из трёх клинически значимых локусов, во

всех случаях обладали способностью к формированию БП (рис. 2).

Оценка активности биоплёнкообразования у исследованных изолятов показала, что средний уровень адсорбции кристаллов иода этанолом составил $0,272 \pm 0,04$ единиц оптической плотности. При этом среди грамотрицательных микроорганизмов данный показатель был значимо ($p < 0,01$) более высоким по сравнению с грамположительными кокками ($0,302 \pm 0,04$ и $0,134 \pm 0,01$ единиц ОП соответственно). У энтеробактерий степень пленкообразования составила $0,368 \pm 0,06$ единиц ОП, у НГОБ – $0,269 \pm 0,02$ единиц ОП ($p > 0,05$).

В результате сравнения степени биоплёнкообразования у бактерий различных видов установлено, что штаммы *K. pneumoniae*, выделенные от пациентов с сепсисом, характеризовались самой высокой активностью биоплёнкообразования ($0,445 \pm 0,05$ единиц оптической плотности). Минимальная степень активности биоплёнкообразования выявлена у штамма *S. haemolyticus* (рис. 3).

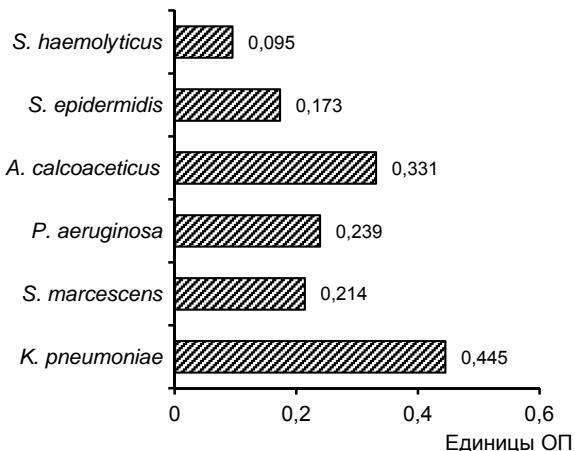


Рис. 3. Сравнительная характеристика активности биоплёнкообразования микроорганизмов разных видов (в единицах ОП).

Fig. 3. Comparative characteristics of the activity of biofilm formation of microorganisms of different species (in units of OD).

Результаты спектрофотометрического исследования показали, что исследованные изоляты распределились

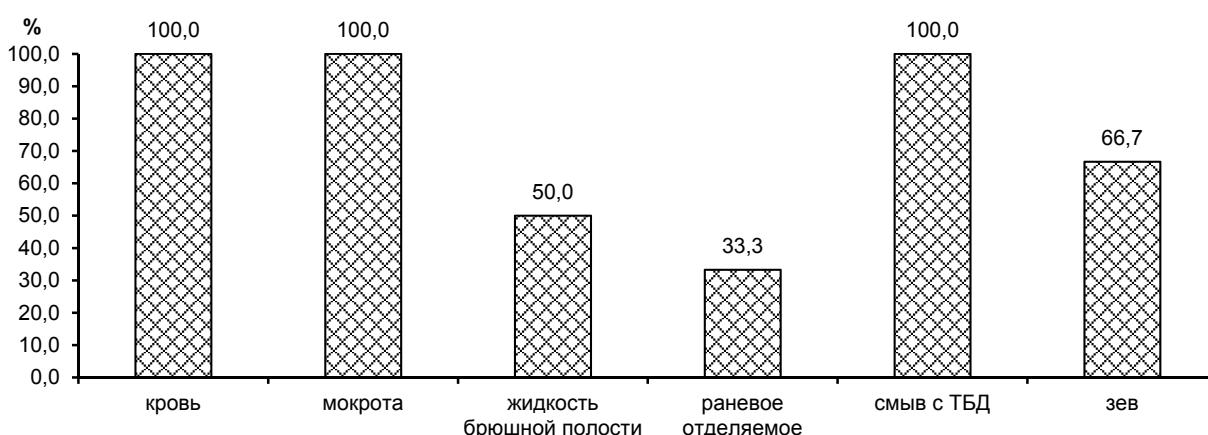


Рис. 2. Биоплёнкообразование бактерий, выделенных из различных локусов (%).

Fig. 2. Biofilm formation of bacteria isolated from various loci (%).

следующим образом: у 26,7 % штаммов способность к образованию биоплёнок не выявлена. Большая часть протестированных микроорганизмов характеризовалась средней степенью активности биоплёнкообразования; пятая часть штаммов – слабой степенью, а высокая активность пленкообразования установлена только у 13,3 % изолятов.

Средняя степень биоплёнкообразования штаммов из локусов мониторинга и клинически значимых локусов составила $0,297 \pm 0,002$ единиц ОП и $0,266 \pm 0,05$ единиц ОП соответственно ($p > 0,05$). Следует отметить, что штаммы, выделенные из зева, характеризовались только средней степенью биоплёнкообразования. В то же время в отношении изолятов из клинически значимых локусов установлена большая вариабельность данного свойства. Так, у третьей части штаммов, полученных из клинически значимых локусов, выявлена средняя степень активности биоплёнкообразования; у четвертой части – слабая. Кроме того, высокая степень биоплёнкообразования была установлена только у изолятов из клинически значимых локусов (кровь и мокрота от пациентов с сепсисом).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, установлено, что большая часть штаммов (энтеробактерий, неферментирующих грамотрицательных бактерий, стафилококков), изолированных от больных с тяжёлыми формами гнойно-септических инфекций, обладали способностью к биоплёнкообразованию ($73,3 \pm 11,4$ %). Частота встречаемости БП у грамотрицательных бактерий составила $69,2 \pm 11,9$ %, у стафилококков была значимо ($p < 0,05$) более высокой (100,0 %). В то же время степень активности биоплёнкообразования среди грамотрицательных бактерий значительно ($p < 0,01$) превышала аналогичный показатель среди стафилококков ($0,302 \pm 0,04$ и $0,134 \pm 0,01$ единиц ОП соответственно). Самая высокая активность биоплёнкообразования выявлена у штаммов *K. pneumoniae*, изолированных от пациентов с сепсисом ($0,445 \pm 0,05$ единиц ОП), наименьшая – у *S. haemolyticus* ($0,095 \pm 0,05$ единиц ОП).

Значимых различий в частоте встречаемости БП у штаммов, изолированных из клинически значимых локусов и локусов мониторинга, не выявлено. Однако они характеризовались разной степенью активности биоплёнкообразования. Так, у штаммов, выделенных из локуса мониторинга (зев), активность биоплёнкообразования находилась в пределах от 0,180 до 0,360 единиц ОП. Высокая степень биоплёнкообразования (выше 0,360 единиц ОП) была установлена только у изолятов из клинически значимых локусов (кровь и мокрота от пациентов с сепсисом).

Установленная способность к биоплёнкообразованию большинства микроорганизмов, изолированных от больных с гнойно-септическими инфекциями, свидетельствует о необходимости разработки мер профилактики инфекций, вызванных биоплёнками в медицинских организациях.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Гостев В.В., Сидоренко С.В. Бактериальные биоплёнки и инфекции. Журнал инфектологии. 2010; 3(2): 4-15.

2. Глущанова Н.А., Блинова А.И., Алексеева Н.Б. Бактериальные биоплёнки в инфекционной патологии человека. *Медицина в Кузбассе*. 2015; 14(2): 30-35.

3. Петрухина М.И., Ющенко Г.В., Политова Н.Г. Эпидемиологическое значение бактериальных плёнок. *Журнал МедиАль*. 2015; (3): 9-16.

4. Анганова Е.В., Савилов Е.Д., Ушкарева О.А., Аблов А.М., Духанина А.В. Способность патогенных и условно-патогенных энтеробактерий к формированию биоплёнок. *Acta biomedica scientifica*. 2014; (5): 34-37.

5. Лахтин М.В., Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Байракова А.Л., Алешик В.А. Биоплёнкообразование в биотопном микробиоценозе человека: модель для прогнозических расчётов межмикробных взаимосвязей. *Acta biomedica scientifica*. 2015; (3): 56-61.

6. Beloin C, Roux A, Ghigo JM. *Escherichia coli* biofilms. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 2008; 322: 249-289. doi: 10.1007/978-3-540-75418-3_12

7. O'Toole GA, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Ann. Rev. Microbiol.* 2000; (54): 49-79. DOI:10.1146/annurev.micro.54.1.49

8. Taj Y, Essa F, Aziz F, Kazmi SU. Study on biofilm-forming properties of clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dev Ctries*. 2012; 6(5): 403-409. doi: 10.3855/jidc.1743

9. Yu W, Hallinen KM, Wood KB. Interplay between antibiotic efficacy and drug-induced lysis underlies enhanced biofilm formation at subinhibitory drug concentrations. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018; 62(1): e01603-17. doi.org/10.1128/AAC.01603-17

10. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-диагностических учреждений: Приказ № 535 МЗ СССР от 22.04.85. М.; 1985.

11. Лабинская А.С., Костюкова Н.Н. (ред.) *Руководство по медицинской микробиологии*. М.: БИНОМ; 2013.

12. Савилов Е.Д., Астафьев В.А., Жданова С.Н., Заруднев Е.А. *Эпидемиологический анализ: методы статистической обработки материала*. Новосибирск: Наука-Центр, 2011.

REFERENCES

1. Gostev VV, Sidorenko SV. Biofilms bacteria and infections. *Zhurnal infektologii*. 2010; 2(3): 4-15. (In Russ.)
2. Glushanova NA, Blinova AI, Alekseeva NB. Bacterial biofilms in infectious pathology of human. *Meditina v Kuzbasse*, 2015; 14(2): 30-35. (In Russ.)
3. Petrukhina MI, Yushchenko GV, Politova NG. Epidemiological significance of bacterial films. *Zhurnal MediAl'*. 2015; (3): 9-16. (In Russ.)
4. Anganova EV, Savilov ED, Ushkareva OA, Ablov AM, Dukhanina AV. Ability of pathogenic and opportunistic pathogenic *Enterobacteriaceae* to the formation of biofilms. *Acta biomedica scientifica*. 2014; (5): 34-37. (In Russ.)
5. Lakhtin MV, Lakhtin VM, Afanasjev SS, Bayrakova AL, Aleshkin VA. Formation of biofilms in human biotope microbiocenosis: model for prognostic calculations of intermicrobial relationships. *Acta biomedica scientifica*. 2015; (3): 56-61. (In Russ.)
6. Beloin C, Roux A, Ghigo JM. *Escherichia coli* biofilms. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 2008; 322: 249-289. doi: 10.1007/978-3-540-75418-3_12
7. O'Toole GA, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Ann Rev Microbiol*. 2000; (54): 49-79. doi:10.1146/annurev.micro.54.1.49
8. Taj Y, Essa F, Aziz F, Kazmi SU. Study on biofilm-forming properties of clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dev Ctries*. 2012; 6(5): 403-409. doi: 10.3855/jidc.1743
9. Yu W, Hallinen KM, Wood KB. Interplay between antibiotic efficacy and drug-induced lysis underlies enhanced biofilm formation at subinhibitory drug concentrations. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018; 62 (1): e01603-17. doi.org/10.1128/AAC.01603-17

10. *About unification of microbiological (bacteriological) methods of research used in clinical diagnostic laboratories of medical-diagnostic institutions. Order of the Ministry of Health, SSSR from 22.04.1985. Moscow; 1985. (In Russ.)*
11. Labinskaya AS, Kostyukova NN. (eds.) *Manual of Medical Microbiology*. Moscow: BINOM; 2013. (In Russ.)
12. Savilov ED, Astafev VA, Zhdanova SN, Zarudnev EV. *Epidemiological analysis: methods of statistical treatment of the material*. Novosibirsk: Nauka-Centr; 2011. (In Russ.)

Сведения об авторах

Савилов Евгений Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эпидемиологии и микробиологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава РФ; главный научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: savilov47@gmail.com

Анганова Елена Витальевна – доктор биологических наук, лаборатория эпидемиологически и социально-значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: eva.irk@mail.ru

Носкова Ольга Александровна – заместитель главного врача по санитарно-эпидемиологической работе, ГБУЗ «Иркутская государственная областная детская клиническая больница»; младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: noskovaepid@yandex.ru

Духанина Алла Владимировна – кандидат биологических наук, профессор, инженер лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: duhanina.alla@yandex.ru

Information about the authors:

Evgeny D. Savilov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Epidemiology and Microbiology, Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education – Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Chief Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Important Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: savilov47@gmail.com

Elena V. Anganova – Dr. Sc. (Biol.), Laboratory of Epidemiologically and Socially Important Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: eva.irk@mail.ru

Olga A. Noskova – Deputy Chief Physician for Sanitary and Epidemiological Work, Irkutsk State Regional Children's Clinical Hospital; Junior Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Important Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: noskovaepid@yandex.ru

Alla V. Dukhanina – Cand. Sc. (Biol.), Professor, Engineer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Important Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: duhanina.alla@yandex.ru

Статья получена: 09.07.2019. Статья принята: 23.09.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 09.07.2019. Accepted: 23.09.2019. Published: 26.10.2019.

Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Bacillus anthracis*, выделенных во время вспышек сибирской язвы в Казахстане в 2016 г.

Избанова У.А.¹, Лухнова Л.Ю.¹, Мека-Меченко Т.В.¹, Сансызбаев Е.Б.¹, Каиржанова А.Д.², Шведюк В.Б.²,
Бегимбаева Э.Ж.¹, Сущих В.Ю.¹, Шевцов А.Б.²

¹ Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева МЗ РК (050054, г. Алматы, ул. Капальская, 14, Казахстан); ² Национальный центр биотехнологии Комитета науки МОН РК, Нур-Султан (010000, г. Астана, ул. Валиханова, 13/1, Казахстан)

Автор, ответственный за переписку: Избанова Уинкуль Айтеновна, e-mail: uizbanova@gmail.com

Резюме

На сегодняшний день сибирская язва регистрируется во многих странах мира, в Казахстане – в виде спорадических случаев или небольших вспышек. Несмотря на эндемичность сибирской язвы в Казахстане, генетическое разнообразие штаммов недостаточно описано. На данный момент одним из самых дискриминационных методов генотипирования признан MLVA-25, достаточный для проведения молекулярно-эпидемиологического мониторинга.

Цель работы: определение культурально-морфологических свойств, геномных особенностей штаммов возбудителя сибирской язвы, их географическое распространение на территории Казахстана во время вспышек в 2016 г., сравнительный анализ с коллекционными штаммами, выделенными с 1962 г.

Методы. В работе использованы микробиологические, генетические методы исследования.

Результаты. Исследовали 11 штаммов *B. anthracis*, выделенных в 2016 г. в Казахстане. Для сравнения генотипов использовали 26 штаммов из коллекции патогенных микроорганизмов Казахского научного центра карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева. Филогенетический анализ кластеризовал 37 штаммов *B. anthracis* в три кластера и 23 генотипа. Результаты изучения фенотипических свойств штаммов сибирской язвы по основным тестам идентификации показали, что все штаммы, изученные в эксперименте и, выделенные в период с 1961 по 2016 гг., имели биологические свойства, характерные для типичных штаммов *B. anthracis*.

Штаммы сибирской язвы, выделенные в 2016 г., характеризуются как значительной вариабельностью, также и циркуляцией одних и тех же генотипов и кластеров в разных областях Казахстана. MLVA-профили анализируемых Казахстанских штаммов уникальны и не совпадают полностью ни с одним исследуемым штаммом из MLVABank. На MST дереве Казахстанские штаммы располагаются тремя кластерами, как и на филогенетическом дереве.

Заключение. Молекулярно-генетический анализ штаммов *B. anthracis* расширяет возможности эпидемиологов в отслеживании источников и путей распространения инфекции. Необходимо усовершенствовать систему отслеживания штаммов особо опасных инфекций в Казахстане с применением современных молекулярно-генетических методов.

Ключевые слова: штаммы сибирской язвы, генотип, мультилокусный анализ

Для цитирования: Избанова У.А., Лухнова Л.Ю., Мека-Меченко Т.В., Сансызбаев Е.Б., Каиржанова А.Д., Шведюк В.Б., Бегимбаева Э.Ж., Сущих В.Ю., Шевцов А.Б. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Bacillus anthracis*, выделенных во время вспышек сибирской язвы в Казахстане в 2016 г. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 43-49. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.7

Biological Properties and Molecular Genetic Characteristics of *Bacillus Anthracis* Strains Isolated During Anthrax Outbreaks in Kazakhstan in 2016

Izbanova U.A.¹, Lukhnova L.Yu.¹, Meka-Mechenko T.V.¹, Sansyzbaev E.B.¹, Kairzhanova A.D.²,
Shvedyuk V.B.², Begimbayeva E.Zh.¹, Sushchih V.Yu.¹, Shevtsov A.B.²

¹ Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic infections named after M. Aykimbayev of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan (Kapalskaya str. 14, 050054 Almaty, Kazakhstan); ² National Center for Biotechnology of the Science Committee of the MES of the Republic of Kazakhstan, Astana (Valikhanov str. 13/1, 010000 Nur-Sultan, Kazakhstan)

Corresponding author: Uinkul A. Izbanova, e-mail: uizbanova@gmail.com

Abstract

Today, anthrax is recorded in many countries around the world, in Kazakhstan – in the form of sporadic cases or small outbreaks. Despite the endemicity of anthrax in Kazakhstan, the genetic diversity strains is not well described. At the moment, MLVA-25, which is sufficient for molecular and epidemiological monitoring, is recognized as one of the most discriminatory methods of genotyping.

Objective: to determine the cultural and morphological properties, the genomic characteristics of the strains of the anthrax pathogen, their geographical distribution in the territory of Kazakhstan during the outbreaks in 2016, a comparative analysis with collection strains isolated since 1962.

Methods: microbiological, genetic research methods were used in the work.

Results. We investigated 11 strains of *B. anthracis*, which were isolated in 2016 in Kazakhstan. For comparison of genotypes, 26 strains were used from the collection of pathogenic microorganisms of the A.M. Aykimbayev's Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Diseases. Phylogenetic analysis clustered 37 strains of *B. anthracis* into three clusters and 23 genotypes.

The results of studying the phenotypic properties of anthrax strains by the main identification tests showed that all the strains studied in the experiment and isolated from 1961 to 2016 had biological properties characteristic of typical of *B. anthracis* strains.

The anthrax strains isolated in 2016 are characterized as significant variability, as well as the circulation of the same genotypes and clusters in different areas of Kazakhstan. MLVA-profiles of analyzed Kazakhstan strains are unique and do not fully coincide with any studied strain from MLVAbank. On the MST-tree, Kazakhstan's strains are located in three clusters, as on the phylogenetic tree.

Conclusion: Molecular genetic analysis of *B. anthracis* strains enhances the ability of epidemiologists to track the sources and pathways of infection.

It is necessary to improve the tracking system for strains of especially dangerous infections in Kazakhstan using modern molecular genetic methods.

Key words: anthrax strains, genotype, multilocus analysis

For citation: Izbanova U.A., Lukhnova L.Yu., Meka-Mechenko T.V., Sansyzbaev E.B., Kairzhanova A.D., Shvedyuk V.B., Begimbayeva E. Zh., Sushchih V.Yu., Shevtsov A.B. Biological Properties and Molecular Genetic Characteristics of *Bacillus Anthracis* Strains Isolated During Anthrax Outbreaks in Kazakhstan in 2016. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 43-49. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.7

АКТУАЛЬНОСТЬ

Случаи сибирской язвы человека почти ежегодно регистрируют в Казахстане. В настоящее время эпидемиологический контроль за особо опасными заболеваниями включает молекулярно-генетическую «дактилоскопию» с целью отслеживания источников инфицирования и распространения инфекции. На территории республики Казахстан зарегистрировано 1778 стационарно неблагополучных по сибирской язве населенных пунктов, 2249 почвенных очагов, где захоронены сельскохозяйственные животные, павшие от сибирской язвы [1]. Общие потери от данного заболевания с 1935 по 2018 гг. составляют более 27 000 голов сельскохозяйственных животных, зарегистрировано 1887 случаев заболеваний у людей. Ежегодно происходит регистрация новых вспышек и выделение штаммов *Bacillus anthracis*. Тем не менее обязательное генотипирование не включено в практику контроля за инфекцией.

Сходство *Bacillus anthracis* с другими видами рода *Bacillus* по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам создают значительные трудности в лабораторной диагностике сибирской язвы. *Bacillus anthracis*, *B. cereus*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. thuringiensis* и *B. weihenstephanensis* составляют единую таксономическую группу «*Bacillus cereus*» [2]. Данная группа микроорганизмов имеет высокое промышленное и медицинское значение. Так, например, штаммы *B. cereus* и *B. thuringiensis* широко используются в сельском хозяйстве в качестве инсектицидных или ростостимулирующих препаратов. В то же время генетически близкий вид *B. anthracis* остаётся проблемой здравоохранения и животноводства. Важным элементом эпидемиологического мониторинга за сибирской язвой является генетическая характеристика штаммов, осуществляемая с целью оценки географического происхождения. Полученная информация позволяет оценивать распространение вспышки в глобальном масштабе устанавливать регион происхождения штамма и дифференцировать естественную вспышку от актов биологического терроризма.

Основные исследования по типированию штаммов сибиреязвенного микробы были проведены P. Keim et al. (2000), который разработал систему многолокусного анализа вариабельных tandemных повторов (MLVA), позволяющую дифференцировать штаммы *B. anthracis* [3]. Ранее нами было проведено молекулярное типирование (MLVA-8) коллекционных штаммов *B. anthracis*, что позволило определить, что в очагах инфекции Казахстана циркулируют штаммы *B. anthracis* четырёх кластеров (A1a, A4,

A3b, A5) [4]. Определены размеры хромосомных локусов, характерные для возбудителя сибирской язвы, что позволяет выявлять атипичные штаммы, дифференцировать от близкородственных бацилл. Размеры хромосомных и плазмидных ампликонов: vrrA 296–320; vrrB₁ 223–224; vrrB₂ 152–156; vrrC₁ 535–619; vrrC₂ 528–602; CG-3 147–152; pXO1 123–135; pXO2 134–138 свидетельствуют о принадлежности штаммов к виду *B. anthracis*.

Дискриминационная способность MLVA-8 ограничена и не позволяет проводить полноценный эпидемиологический мониторинг, и, тем более дифференцировать вспышку по происхождению [5]. В последнее десятилетие схема генотипирования *B. anthracis* неоднократно совершенствовалась, постоянно увеличивая дискриминационную способность [5, 6, 7]. На данный момент комбинация 25 MLVA-маркеров и 12 однокарбонатных полиморфизмов (SNP), позволяет получить данные достаточные для проведения молекулярно-эпидемиологического мониторинга и отслеживать географическое происхождение штаммов на глобальном и локальном уровнях.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение культурально-морфологических свойств, геномных особенностей штаммов возбудителя сибирской язвы, их географическое распространение на территории Казахстана во время вспышек в 2016 г., сравнительный анализ с коллекционными штаммами, выделенными с 1961 года.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 37 штаммов, из которых 11 были выделены при вспышках сибирской язвы в 2016 г., остальные штаммы были взяты из коллекции патогенных микроорганизмов Казахского научного центра карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева (табл. 1).

Выделение ДНК проводили с использованием набора «QIAamp DNA Mini Kit» производства фирмы QIAGEN (США).

Для молекулярного типирования штаммов *B. anthracis* был использован мультилокусный анализ числа вариабельных tandemных повторов (MLVA), включающий в себя 25 локусов, предложенный Florio Liste (2006) [5]. Для амплификации целевых фрагментов использовано 4 мультиплексных ПЦР реакции. Концентрация праймеров в реакции соответствовала рекомендациям Liste. Смесь включала: 0,2 мМ каждого дНТФ; 1-х ПЦР буфер (20 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,01% (v/v) Tween 20 (Fermentas), ионы

Характеристика исследованных штаммов *Bacillus anthracis*
Characteristics of the investigated strains of Bacillus anthracis

Таблица 1

Table 1

Шифр штамма	Год выделения	Выделен: внешняя среда/ источник	Географическое место выделения <i>B. anthracis</i> (область, населенный пункт)	Характеристика эпидемиологического случая
Almaty_31	2004	Мясо крупного рогатого скота	Актюбинская, Муголжарский район, г. Эмба	Случай
Almaty_9	1963	Кожа овцы	Алматинская, г. Алматы	Случай
Almaty_37	2016	Мясо крупного рогатого скота	Алматинская, Кербулакский район, с. Карапшокы	Случай
Almaty_11	1983	верблюд	Атырау, г. Эмба	Случай
Almaty_4	1962	Карбункул человека	Атырау, колхоз Сталина	Случай
Almaty_44	2016	Мясо крупного рогатого скота		
Almaty_45	2016	Почва на месте снятия шкуры	ВКО Жарминский район, с. Калбатау	Вспышка
Almaty_43	2016	Почва с места убоя		
Almaty_19	2001	Почва с места убоя	ВКО Урдженарский район, с. Маканчи	Вспышка
Almaty_18	2001	Карбункул человека		
Almaty_30	2004	Шерсть лошади	ВКО, Семипалатинск, с. Знаменка	Случай
Almaty_28	2004	Шкура крупного рогатого скота	ВКО, Шемонаихинский район, с. Усть-Таловка	Случай
Almaty_16	1999	Навоз	Жамбылская область, Луговской район	Случай
Almaty_29	2004	Селезёнка мелкого рогатого скота	Жамбылская, Кордайский район, с. Кенен	Случай
Almaty_15	1998	Мясо крупного рогатого скота	Жамбылская, Кордайский район, с. Сулуптор	Случай
Almaty_14	1997	Почва	Жамбылская, Тураг Рыскулова, с. Алгабас	
Almaty_12	1997	Карбункул человека		Вспышка
Almaty_32	2009	Мясо крупного рогатого скота	Западно-Казахстанская область (ЗКО), Бурлинский район, п. Ак-Булак	Случай
Almaty_21	1963	Карбункул человека	ЗКО, Калмыковская лаборатория	Случай
Almaty_49	2016	Язва больного	Караганда, Актогайский район, с. Ушарал	
Almaty_50	2016	Язва больного		Вспышка
Almaty_39	2016	Язва больного		
Almaty_40	2016	Мясо КРС	Караганда, Шесткий район, с. Еркиндык	Вспышка
Almaty_41	2016	Язва больного		
Almaty_2	1961	Кровь человека	Кызылординская, Казалинский район, с. Шакен	Вспышка
Almaty_3	1961	Карбункул человека		
Almaty_20	неизвестно	Неизвестно	Кыргыстан	Случай
Almaty_47	2016	Шкура крупного рогатого скота	Павлодарская, Иртышский район, с. Узынсу	
Almaty_48	2016	Холодец		Вспышка
Almaty_22	2000	Карбункул человека	Туркестанская, Байдибекский район, с. Акбастау	Случай
Almaty_10	1963	Карбункул человека	Туркестанская, Казгуртский, с. Кызыл Тан	Случай
Almaty_36	2011	Карбункул больного	Туркестанская, Ордабасинский район, с. Токсансай	Случай
Almaty_23	2000	Смыв с весов	Туркестанская, Сайрамский район, с. Сайрам	Случай
Almaty_5	1962	Кожа мелкого рогатого скота	Туркестанская, Тюлькубасский район, п. Жданова	Случай
Almaty_6	1962	Селезёнка овцы	Туркестанская, Тюлькубасский район, с. Антоновка	Случай
Almaty_7	1962	Карбункул человека	Туркестанская, Тюлькубасский район, с. Керент	Случай
Almaty_8	1962	Кожа овцы	Туркестанская, Казгуртский район, с. Коммунизм	Случай

магния 2,5 мМ, DMSO – 1 мкл, смесь Taq ДНК полимеразы и Pfu ДНК полимеразы в соотношении 1:8 (Fermentas). Программа ПЦР амплификации включала: 96 °С в течение 3 минут; 35 циклов 95 °С – 20 секунд, 60 °С – 30 секунд, 65 °С – 2 минуты; финальная элонгация 65 °С – 20 минут. После амплификации образцы разводили в 70 раз и 1,5 мкл использовали для капиллярного разделения на автоматическом генетическом анализаторе ABI3730xl (Applied Biosystems, Tokyo, Japan), с POP 7 и размерным стандартом LiZ 1200. Анализ размеров VNTR повторов проводили с использованием программного обеспечения GeneMapper 4.1 (Applied Biosystems). Построение дендограммы проводили с использованием программного обеспечения BioNumerics 7.5 (Applied Maths, Sint-Martens-Latem, Belgium). Кластерный анализ был проведён методом невзвешенного попарного среднего (UPGMA). При построении минимального оствового дерева (MST) использовали стандартный протокол.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время на территории Казахстана сохраняется неблагополучная ситуация по сибирской язве, которая определяется социально-экономическими условиями жизни населения, активизацией почвенных очагов, возможностью завоза инфекции из-за рубежа, нарушением действующих ветеринарно-санитарных правил и другими факторами.

В 2016 г. в период с мая по сентябрь зарегистрировано 19 случаев заболевания людей (из них три случая заболевания закончились летальным исходом) сибирской язвой были зарегистрированы в четырёх областях Казахстана – в Восточно-Казахстанской (ВКО), Алматин-

ской, Павлодарской и Карагандинской (табл. 1). Зарождение людей произошло при убое больных животных, без ведома ветеринарного врача.

Дополнительно были включены штаммы, хранящиеся в коллекции, выделенные в различных регионах Казахстана с 1961 года. Восемнадцать из анализируемых штаммов представляют собой 7 вспышек.

Результаты изучения фенотипических и генетических свойств штаммов сибирской язвы по основным тестам идентификации и дополнительным признакам показали, что все штаммы, изученные в эксперименте и, выделенные в период с 1961 по 2016 гг., имели биологические свойства, характерные для типичных штаммов *B. anthracis*.

Штаммы формировали колонии в R-форме на плотных питательных средах и придонный рост с сохранением прозрачности среды в питательном бульоне, обладали способностью к спорообразованию. У штаммов не выявлялась фосфатазная, лецитиназная, гемолитическая активность, штаммы обладали способностью к капсулообразованию *in vitro* и *in vivo*. Штаммы были чувствительны к сибириеязвенному бактериофагу, широкому спектру антибиотиков. В ПЦР выявлены гены rag и sap.

В результате проведённых исследований значения VNTR-повторов получены для 37 анализируемых штаммов. Филогенетический анализ кластеризовал 37 штаммов *B. anthracis* в три кластера и 23 генотипа, из которых 15 генотипов представлены единичными штаммами (рис. 1).

На основе MLVA-25 при UPGMA анализе штаммы формируют три обособленных кластера. Первый (I) кластер самый многочисленный, включает в себя 29 (78 %) штаммов, выделенных с 1961 по 2016 гг. в Алматинской, Карагандинской, Восточно-Казахстанской, Кызылордин-

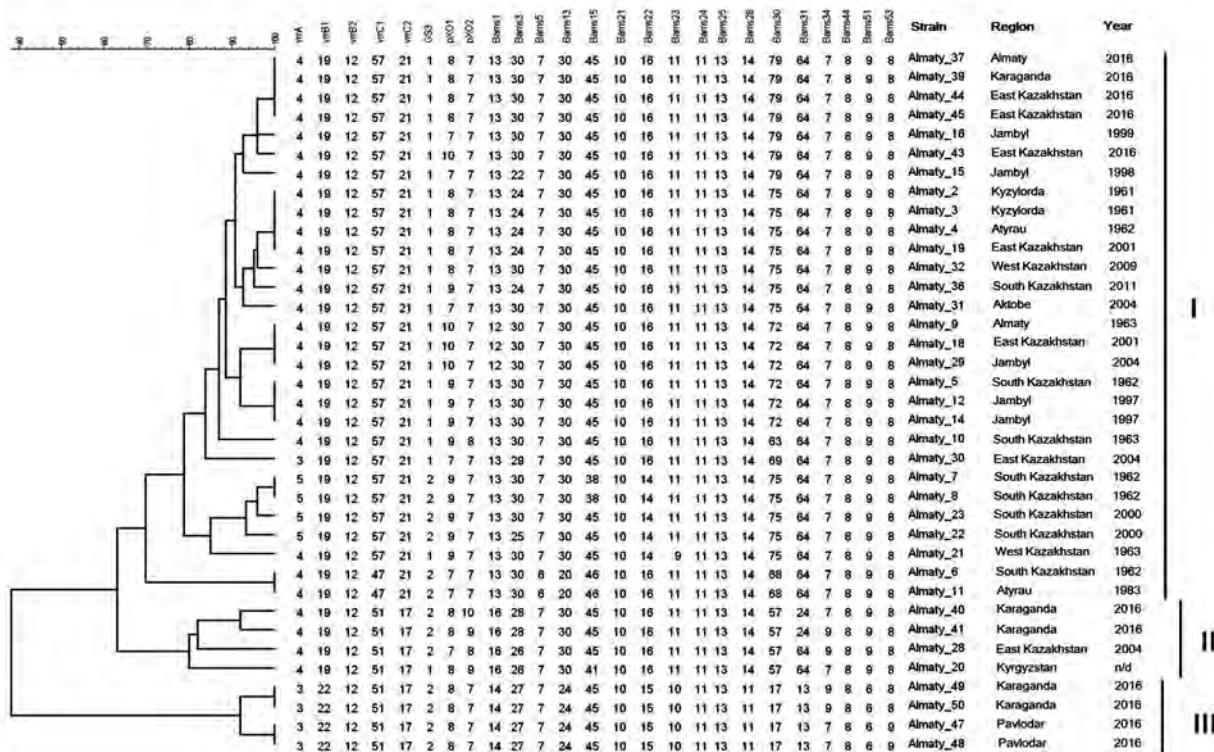


Рис. 1. Филогенетическое дерево, построенное на основании 25 VNTR маркеров.

Fig. 1. Phylogenetic tree, built on the basis of 25 VNTR markers.

ской, Атырауской, Туркестанской, Западно-Казахстанской и Жамбылской областях. Второй кластер (II) объединил в себе четыре штамма, из которых один штамм выделен в Республике Кыргызстан, два во время вспышки в Карагандинской области в 2016 г. и один штамм из ВКО, выделенный 2004 г. В третий кластер вошли 4 штамма, выделенные при вспышке 2016 г. в Карагандинской и Павлодарской областях.

Для многих генотипов чётко прослеживается кластеризация по вспышкам: штаммы под номерами Almaty_2 и Almaty_3, выделенные при вспышке в 1961 г. в Кызылординской; Almaty_47 и Almaty_48, выделенные при вспышке в Павлодарской области в 2016 г.; Almaty_49 и Almaty_50 – при вспышке в Ушарал, Карагандинской области в 2016 г.; Almaty_7 и Almaty_8 – при вспышке в Туркестанской области в 1962 году; Almaty_12 и Almaty_14 – в Жамбылской области, при этом в последних двух случаях установлен источник инфицирования. Два из трёх штам-

мов, выделенные при вспышке в ВКО в 2016 г. идентичны по генотипам (Almaty_44 и Almaty_45), штамм Almaty_43 из той же вспышки, отличается по гипервариабельному локусу pXO1.

Некоторые кластеризуются штаммы, выделенные во время вспышки 2016 г. в селе Еркиндык Карагандинской области, так Almaty_41 и Almaty_40 кластеризовались во второй кластер и отличаются между собой по гипервариабельным локусам pXO2 и Bams34, в то время как штамм Almaty_39 вошёл в первый кластер и полностью идентичен генотипам из Алматинской и ВКО областей 2016 г.

Результаты филогенетического анализа свидетельствуют, что в 2016 г. на территории Казахстана циркулировали штаммы сибирской язвы, входящие в состав трёх кластеров, шести генотипов (№№ 1, 24, 19, 20, 23, 3). Штаммы сибирской язвы, относящиеся ко II и III кластеру

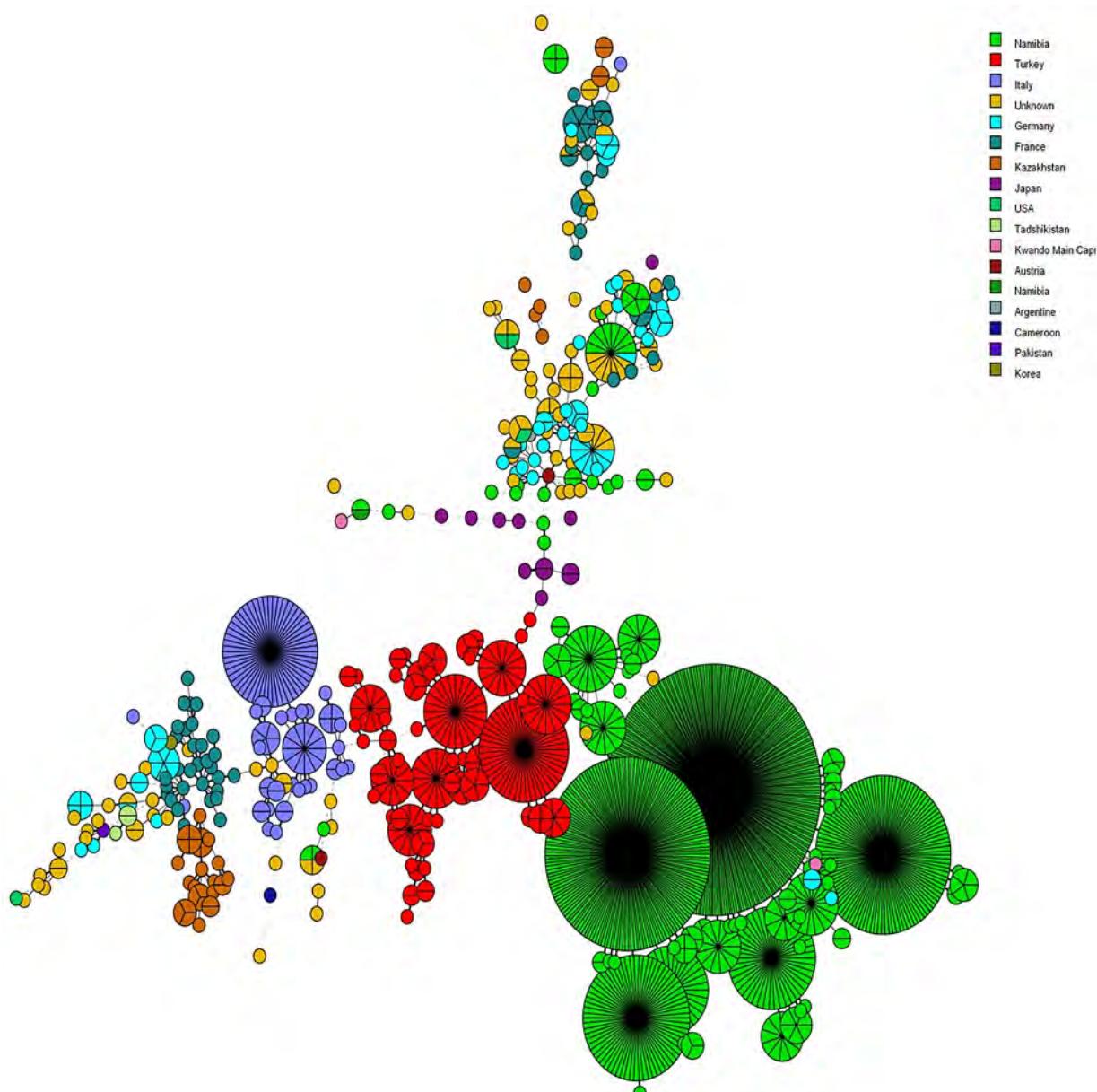


Рис. 2. Минимальное оствовное дерево.

Fig. 2. Minimum spanning tree.

и генотипам (№№ 1, 24, 19, 20, 23, 3), ранее, до 2016 г., не выделяли в Казахстане.

Штаммы сибирской язвы, выделенные в 2016 г., характеризуются как значительной вариабельностью, также и циркуляцией одних и тех же генотипов и кластеров в разных областях Казахстана. Так, штаммы сибирской язвы I кластера и I генотипа циркулируют в Алматинской, ВКО, Карагандинской областях.

Таким образом, результаты филогенетического анализа штаммов сибирской язвы, выделенных на территории Казахстана, свидетельствуют о том, что штаммы сибирской язвы, выделенные в 2016 г., характеризуются как значительной вариабельностью, также и циркуляцией одних и тех же генотипов и кластеров в разных областях Казахстана. Это может быть связано с отсутствием учёта движения животных, территориальной близостью и другими, пока ещё не определёнными факторами.

Для изучения глобального положения штаммов, циркулирующих в Казахстане, было построено минимальное оствовное дерево с MLVA-профилями 37 штаммов, циркулирующих в Казахстане и MLVA-профилями 1527 штаммов *B. anthracis* из MLVAbank (<http://microbesgenotyping.i2bc.paris-saclay.fr/>) (рис. 2).

Как видно из рис. 2 MLVA-профили анализируемых казахстанских штаммов уникальны и не совпадают полностью ни с одним исследуемым штаммом из MLVAbank. На MST-дереве казахстанские штаммы располагаются тремя кластерами, как и на филогенетическом дереве.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты филогенетического анализа свидетельствуют, что в 2016 г. на территории Казахстана циркулировали штаммы сибирской язвы, входящие в состав трёх кластеров, шести генотипов (№№ 1, 24, 19, 20, 23, 3). Штаммы сибирской язвы, относящиеся ко II и III кластеру и генотипам (№№ 1, 24, 19, 20, 23, 3), ранее, до 2016 г., не выделяли в Казахстане.

Штаммы сибирской язвы, выделенные в 2016 г., характеризуются как значительной вариабельностью, также и циркуляцией одних и тех же генотипов и кластеров в разных областях Казахстана. Это может быть связано с отсутствием учёта движения животных, территориальной близостью и другими, пока ещё не определёнными факторами.

Не характерно кластеризуются штаммы, выделенные во время вспышки 2016 года в селе Еркиндык Карагандинской области, так Almaty_41 и Almaty_40 кластрировались во второй кластер и отличаются между собой по гипервариабельным локусам pH02 и Bams34, в то время как штамм Almaty_39 вошёл в первый кластер и полностью идентичен генотипам из Алматинской и ВКО областей 2016 г.

Профили анализируемых казахстанских штаммов уникальны и не совпадают полностью ни с одним исследуемым штаммом из MLVAbank.

Молекулярно-генетический анализ штаммов *B. anthracis* расширяет возможности эпидемиологов в отслеживании источников и путей распространения инфекции. На основании полученных результатов можно предположить более высокое генетическое разнообразие циркулирующих штаммов.

Результаты опытов хотя и свидетельствуют о близости генотипов у штаммов возбудителя сибирской язвы,

но имеют значительные различия в зависимости от территориального выделения.

Необходимо усовершенствовать систему отслеживания штаммов особо опасных инфекций в Казахстане с применением современных молекулярно-генетических методов.

Конфликт интересов

Авторы статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Статья написана в рамках НТП «Разработка научных основ единой для Республики Казахстан системы мониторинга, диагностики и микробного коллекционирования возбудителей особо опасных, «возвращающихся», вновь возникающих и завозных инфекций».

Вклад авторов

Избанова У.А., Лухнова Л.Ю., Мека-Меченко Т.В., Сансызбаев Е.Б., Бегимбаева Э.Ж., Сущих В.Ю. – изучение культурально-морфологических свойств 37 штаммов коллекционных сибирской язвы, подготовка обзора, проведение анализа полученных результатов

Каиржанова А.Д., Шведюк В.Б., Бегимбаева Э.Ж., Сущих В.Ю., Шевцов А.Б. – изучение генетических свойств 37 коллекционных штаммов сибирской язвы (ПЦР, МЛВА -25)

ЛИТЕРАТУРА

- Султанов А.А., Адбыбекова А.М., Сущих В.Ю. (ред.). *Кадастр почвенных очагов сибирской язвы на территории Республики Казахстан*. Алматы: ТОО «КазНИВИ»; 2017.
- Цыганкова О.И. *Фенотипическая и генотипическая вариабельность штаммов сибиризированного микробы (теоретические и практические аспекты)*: автореф. д-ра мед. наук. Ростов-на-Дону; 2007.
- Keim P, Price LB, Klevytska AM, Smith KL, Schupp JM, Okinaka R, et al. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*. *J Bacteriol.* 2000; 182(10): 2928-2936. doi: 10.1128/jb.182.10.2928-2936.2000
- Aikimbayev A, Blackburn J, Van Ert MN, Easterday R, Zakaryan S, Lukhnova L, et al. Historical Incidence and Molecular Diversity of *Bacillus anthracis* in Kazakhstan. In: *Proceedings of URISA's GIS in Public Health Conference, May 20-23, 2007, New Orleans*. New Orleans; 2007. p. 456-461.
- Lista F, Faggioni G, Valjevac S, Ciammaruconi A, Vaissaire J, le Doujet C, et al. Genotyping of *Bacillus anthracis* strains based on automated capillary 25-loci multiple locus variable-number tandem repeats analysis. *BMC Microbiol.* 2006; 6: 33-39. doi: 10.1186/1471-2180-6-33
- Van Ert MN, Easterday WR, Huynh LY, Okinaka RT, Hugh-Jones ME, Ravel J, et al. Global genetic population structure of *Bacillus anthracis*. *PLoS One*. 2007; 2(5): e461. doi: 10.1371/journal.pone.0000461
- Beyer W, Bellan S, Eberle G, Ganz HH, Getz WM, Hau-macher R, et al. Distribution and molecular evolution of *Bacillus anthracis* genotypes in Namibia. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012; 6(3): 1534. doi: 10.1371/journal.pntd.0001534

REFERENCES

- Sultanov AA, Adbybekova AM, Sushchikh VYu (eds.). *Садастр почвенных очагов сибирской язвы в Республике Казахстан*. Алматы: ТОО «КазНИВИ»; 2017. (In Russ.)
- Tsygankova OI. *Phenotypic and genotypic variability of anthrax microbe strains (theoretical and practical aspects)*. Abstract of the dissertation of Doctor of Medical Sciences. Rostov-na-Donu; 2007. (In Russ.)
- Keim P, Price LB, Klevytska AM, Smith KL, Schupp JM, Okinaka R, et al. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis

- reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*. *J Bacteriol*. 2000; 182(10): 2928-2936. doi: 10.1128/jb.182.10.2928-2936.2000
4. Aikimbayev A, Blackburn J, Van Ert MN, Easterday R, Zakaryan S, Lukhnova L, et al. Historical Incidence and Molecular Diversity of *Bacillus anthracis* in Kazakhstan. In: *Proceedings of URISA's GIS in Public Health Conference, May 20–23, 2007, New Orleans*. New Orleans; 2007. p. 456-461.
 5. Lista F, Faggioni G, Valjevac S, Ciammaruconi A, Vaissaire J, le Doujet C, et al. Genotyping of *Bacillus anthracis* strains based on automated capillary 25-loci multiple locus variable-number tandem repeats analysis. *BMC Microbiol*. 2006; 6: 33-39. doi: 10.1186/1471-2180-6-33
 6. Van Ert MN, Easterday WR, Huynh LY, Okinaka RT, Hugh-Jones ME, Ravel J, et al. Global genetic population structure of *Bacillus anthracis*. *PLoS One*. 2007; 2(5): e461. doi: 10.1371/journal.pone.0000461
 7. Beyer W, Bellan S, Eberle G, Ganz HH, Getz WM, Hau-macher R, et al. Distribution and molecular evolution of *Bacillus anthracis* genotypes in Namibia. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012; 6 (3): 1534. doi: 10.1371/journal.pntd.0001534

Сведения об авторах

- Избанова Уинкуль Айтеновна** – кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией зоонозных бактериальных инфекций, РГП на ПХВ «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева» Министерства здравоохранения Республики Казахстан, e-mail: uizbanova@gmail.com
- Лукнова Лариса Юрьевна** – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории зоонозных бактериальных инфекций, РГП на ПХВ «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева» Министерства здравоохранения Республики Казахстан, e-mail: larissa.lukhnova@mail.ru
- Мека-Меченко Татьяна Владимировна** – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории чумы, РГП на ПХВ «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева» Министерства здравоохранения Республики Казахстан, e-mail: tmeka-mechenko@kscqzd.kz
- Сансызбаев Ерлан Байсалович** – кандидат медицинских наук, заместитель директора РГП на ПХВ «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева» Министерства здравоохранения Республики Казахстан, e-mail: ncorg@kscqzd.kz
- Кайржанова Алма Дүйсенбайқызы** – магистр младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии, РГП на ПХВ «Национальный центр биотехнологии» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, e-mail: ncbshevtsov@gmail.com
- Швейдюк Виктория Борисовна** – младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии, РГП на ПХВ «Национальный центр биотехнологии» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, e-mail: diwr@mail.ru
- Бегимбаева Эльмира Жуазбаева** – кандидат медицинских наук, заведующий музеем живых культур, РГП на ПХВ «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева» Министерства здравоохранения Республики Казахстан, e-mail: ebegimbay@mail.ru
- Сущих Владлена Юрьевна** – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник вакцинной лаборатории, РГП на ПХВ «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева» Министерства здравоохранения Республики Казахстан, e-mail: vladasali@mail.ru
- Шевцов Александр Борисович** – заведующий лабораторией биотехнологии, РГП на ПХВ «Национальный центр биотехнологии» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан. e-mail: ncbshevtsov@gmail.com

Information about the authors

- Uinkul A. Izbanova** – Cand. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Zoonotic Bacterial Infections, Masgut Aykimbayev's Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Diseases, Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan, e-mail: uizbanova@gmail.com
- Larisa Yu. Lukhnova** – Dr. Sc. (Med.), Senior Research Officer, Laboratory of Zoonotic Bacterial Infections, Masgut Aykimbayev's Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Diseases, Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan, e-mail: larissa.lukhnova@mail.ru
- Tatyana V. Meka-Mechenko** – Dr. Sc. (Med.), Senior Research Officer, Plague Laboratory, Masgut Aykimbayev's Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Diseases, Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan, e-mail: tmeka-mechenko@kscqzd.kz
- Erlan B. Santsybaev** – Cand. Sc. (Med.), Deputy Director, Masgut Aykimbayev's Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Diseases, Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan, e-mail: ncorg@kscqzd.kz
- Alma D. Kairzhanova** – Graduate, Junior Research Officer, Laboratory of Biotechnology, National Center for Biotechnology of the Committee of Science, Ministry of Education and Science, e-mail: ncbshevtsov@gmail.com
- Viktoria B. Shvedyuk** – Junior Research Officer, Laboratory of Biotechnology, National Center for Biotechnology of the Committee of Science, Ministry of Education and Science, e-mail: diwr@mail.ru
- Elmira Zh. Begimbayeva** – Cand. Sc. (Vet.), Senior Research Officer of the Museum of Living Cultures, Masgut Aykimbayev's Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Diseases, Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan, e-mail: ebegimbay@mail.ru
- Vladlена Yu. Sushchykh** – Cand. Sc. (Vet.), Senior Research Officer at the Vaccine Laboratory, Masgut Aykimbayev's Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Diseases, Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan, e-mail: vladasali@mail.ru
- Alexander B. Shevtsov** – Head of the Laboratory of Biotechnology of National Center for Biotechnology of the Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, e-mail: ncbshevtsov@gmail.com

Статья получена: 13.03.2019. Статья принята: 15.08.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 13.03.2019. Accepted: 15.08.2019. Published: 26.10.2019.

Modulation of Streptomycin Killing Rate against Mature *Escherichia coli* Biofilms in the Presence of Medicinal Plant Extracts*

Samoilova Z.Y., Smirnova G.V., Oktyabrsky O.N.

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of Perm Federal Research Center, Ural Branch of Russian Academy of Sciences
(Goleva str. 13, 614081 Perm, Russian Federation)

Corresponding author: Zoya Yu. Samoilova, e-mail: samoilova@iegm.ru

Abstract

Background. Medicinal plant extracts exhibiting pro- and antioxidant properties may affect antibiotic-induced killing of biofilm-producing bacteria in both synergistic and antagonistic modes. Better understanding of these alternations is required to adjust antibiotic therapy and herbal medicine in order to exclude unwanted losses of antibiotic efficiency.

Aim: to study modulation modes of streptomycin killing rate against mature biofilms of *Escherichia coli* in the presence of different doses of commonly used medicinal plant extracts.

Materials and methods. Pharmacodynamic parameter killing rate and mass biofilm formation were determined in the presence of streptomycin and medicinal plant extracts. **Results.** Synergism was found between 100 mg/ml streptomycin and low doses (0.83 mg of dry herb/ml) of green, black tea, *Arctostaphylos uva-ursi*, *Betula pendula* and *Laminaria japonica* against killing mature biofilms. Alternatively, high doses (6.64 mg of dry herb/ml) of green, black tea and *Vaccinium vitis-ideae* demonstrated antagonism, decreasing killing rate and enhancing biofilm formation. Presumably, high doses of the extracts were sufficient to enhance biofilm formation blocking penetration of streptomycin through enlarged biofilm matrix and diminishing the killing rate.

Conclusions. Widely consumed as soft beverages or for prophylactic purposes green, black tea and *V. vitis-ideae* could promote strong antagonistic effects with streptomycin. These extracts can stimulate biofilm production, making benefit for commensal microbiota, but have clinical relevance due to a significant reduction in the lethal efficiency of streptomycin in biofilms of pathogenic strains. This highlights the need of careful antibiotic prescription scheme adjustment when choosing appropriate combinations of plant extracts and antibiotics to achieve a synergistic effect.

Key words: streptomycin, killing rate, biofilms, medicinal plant extracts

For citation: Samoilova Z.Y., Smirnova G.V., Oktyabrsky O.N. Modulation of Streptomycin Killing Rate against Mature *Escherichia coli* Biofilms in the Presence of Medicinal Plant Extracts. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 50-54. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.8

Изменение скорости бактерицидного эффекта стрептомицина при действии на зрелые биоплёнки *Escherichia coli* в присутствии экстрактов лекарственных растений*

Самойлова З.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н.

Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН (614081, г. Пермь, ул. Голева, 13, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Зоя Юрьевна Самойлова, e-mail: samoilova@iegm.ru

Резюме

Обоснование. Экстракты лекарственных растений, обладающие про- и антиоксидантным действием, могут оказывать двойственное модулирующее влияние на бактерицидные эффекты антибиотиков.

Цель исследования: изучить модулирующие эффекты водных экстрактов лекарственных растений на скорость бактерицидного эффекта стрептомицина при действии на зрелые биоплёнки *Escherichia coli*.

Методы. Измеряли скорость бактерицидного эффекта и валовое биоплёнкообразование в присутствии различных доз экстрактов и стрептомицина.

Результаты. Выявлен синергизм между 100 мкг/мл стрептомицина и низкими дозами (0,83 мг сухого вещества/мл) зелёного, чёрного чая, *Arctostaphylos uva-ursi*, *Betula pendula* и *Laminaria japonica*. В то же время, высокие дозы (6,64 мг сухого вещества/мл) зелёного, чёрного чая и *Vaccinium vitis-ideae* оказывали антагонистические эффекты, подавляя скорость бактерицидного эффекта и стимулируя биоплёнкообразование. В последнем случае, вероятно, подавлялось проникновение стрептомицина в матрикс биоплёнки, что и способствовало снижению скорости бактерицидного эффекта.

Заключение. Широко применяемые человеком в пищу зелёный, чёрный чай и *V. vitis-ideae* снижали бактерицидный эффект стрептомицина. Эти экстракты также стимулировали биоплёнкообразование, что может положительно сказываться на жизнедеятельности нормальной микрофлоры человека, однако может привести к стимулированию толерантности болезнетворных микробов. Выявленные ситуации подавления скорости бактерицидного эффекта в присутствии используемых экстрактов указывают на необходимость корректировки схем лечения, включающих совместный прием антибиотиков и фитопрепаратов. Полученные данные представляют практический интерес и нуждаются в дальнейшем изучении.

Исследование выполнено в рамках государственного задания № госрегистрации темы 01201353246, а также при поддержке грантами Президента МК-3376.2018.4 и Программы УрО РАН ААА-А18-118041890005-1.

* Статья подготовлена на основании доклада, представленного на Всероссийской научной конференции с международным участием «Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания» (4–7 июня 2019 г., Иркутск).

Ключевые слова: биоплёнки, стрептомицин, скорость бактерицидного эффекта, лекарственные растения

Для цитирования: Самойлова З.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н. Изменение скорости бактерицидного эффекта стрептомицина при действии на зрелые биоплёнки *Escherichia coli* в присутствии экстрактов лекарственных растений. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 50-54. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.8

Streptomycin is a broad-spectrum aminoglycoside antibiotic, which was found effective in pneumonias, abscesses, peritonitis and other infections, caused by the gram-negative bacteria frequently present in the urinary tract [1]. Broad categories of people, including infants, pregnant women, elderly patients with catheters, diabetes and immunocompromised patients, as well are at a high risk of development of urinary tract infections [2]. The most common causes of urinary tract infections (UTIs) are associated with biofilm-producing bacteria such as *Escherichia coli*.

While green and black tea are common diet constituents, medicinal plant extracts of *Arctostaphylos uva-ursi* and *Vaccinium* sp. are commonly used in prophylaxis of UTIs, *Betula pendula* leaf extracts are used as diuretic, *Laminaria japonica* is known as a strong bactericidal, anti-inflammatory and immunomodulating agent [3]. Beneficial properties of these plant extracts are often explained by their pro- and antioxidant effect [4, 5]. The idea of involvement of reactive oxygen species into non-specific killing mechanisms by a number of antibiotics has also been discussed [6, 7]. Therefore, modulation of antibiotic action in the presence of redox-active compounds requires comprehensive research. Taking into account a global rise in antibiotic resistant bacteria, such investigations might be helpful in creating powerful antimicrobials and herbal adjuvants increasing efficiency of antibiotic therapy. Strong antimicrobials of plant origin are being frequently characterized [8, 9]. At the same time, a decrease in antibacterial action of aminoglycosides in *Escherichia coli* in the presence of antioxidants has been reported [10], highlighting the complexity of interaction modes of antibiotics and plant substances within a bacterial cell. In this work, we examined how streptomycin killing rate against mature biofilms of *E. coli* might be modulated in the presence of commonly used medicinal plant extracts. As an advantage of the study, we investigated effects of both low and high doses of the plant extracts.

MATERIALS AND METHODS OF RESEARCH

Reagents including antibiotic streptomycin, thiamine, casamino acids, agar, Luria-Bertani broth were from Sigma-Aldrich Chemical Co (St Louis, MO, USA). Other reagents were of analytical grade (Reachim, Russia).

Water extracts of medicinal herbs *Arctostaphylos uva-ursi*, *Vaccinium vitis-idaea*, *Betula pendula*, *Laminaria japonica* were prepared from commercial pharmaceutical preparations (OAO Krasnogorskleksredstva and ZAO Ivan-Chai, Russia) and commercial samples of green and black tea (Greenfield "Golden Ceylon", Greenfield tea Ltd., London, W1U 2HQ, UK). Dry herbs (1 g) were boiled in 30 ml of distilled water in a water-bath during 30 min, cooled and sequentially filtrated through paper and membrane (0.45 μ m pore size) filters. This initial extract was concentrated by 8 times using a rotary evaporator IKA RV 10 basic (Germany). The final doses applied in the cultural medium were 0.83 mg of dry herb/ml (initial extract) and 6.6 mg of dry herb/ml (concentrated extract). These doses were chosen as those as the minimal creating a visible effect and the maximal which did not result in precipitation during the incubation period. Fresh extracts were used in all experiments.

The strain of *E. coli* BW25113 was obtained from Keio collection [11]. Bacteria were grown overnight at 37 °C without shaking in minimal M9 medium supplemented with glucose (4 g/l), 0.2% casamino acids and 10 μ g/ml thiamine [12]. After centrifugation at 6000 g for 4 min, the cells were resuspended in fresh M9 to initial optical density at 600 nm (OD_{600}) of 0.1. This culture was transferred to 96-well polystyrene microtitre plates (200 μ l per well) and incubated statically at 37 °C for 22 h to obtain biofilms.

Mature biofilms were washed twice with 0.9% NaCl. Then 200 μ l of fresh M9 (4 g/l glucose) medium supplemented with 0.2% casamino acids, 10 μ g/ml thiamine and 5 μ l of extract were added in each well. The plates were incubated at 37 °C with shaking (340 rpm) in Shaker Thermostat Sky Line (ELMI, USA) for 1 hour, after that antibiotic streptomycin 10 μ g ml⁻¹ and 100 μ g ml⁻¹ (corresponding to 1 minimum inhibitory concentration (MIC) and 10 MIC, respectively) was added and incubation continued further for 2 hours.

In order to determine colony-forming ability (CFU/ml) in biofilms, medium was removed, the biofilms were washed with sterile saline and sonicated by two pulses (37 kHz, 30 W) for 1 min each with pause time of 1 min in a water bath sonicator (Ultrasonic cleaning unit Elmasonic S10 H, Elma, Germany). Then, OD_{600} was measured using xMark™ spectrophotometer (Bio-Rad, USA) and 10-ml drops of serial dilutions were plated on LB-agar. Colonies were counted in 24 h after incubation at 37 °C.

The rate of antibiotic-induced bacterial killing (ψ) was calculated based on the decline of the density of viable bacteria over a defined period, using the equation $\psi = [\ln(N_t/N_0)]/t$, where N_t is the cell density (CFU/ml) at time t ; N_0 is the initial cell density before antibiotic addition, and t is the time in hours (2 hours in the current study) [13].

Mass biofilm formation was monitored using the modified microplate biofilm assay from the methods previously described [14, 15]. Wells of 96-well polystyrene microtiter plates containing mature biofilms resuspended in the fresh medium with/without the extracts were prepared as described above. Control wells contained bacteria-free medium and the extracts only. At time zero and every hour of cultivation OD_{600} of each well was measured, broth was removed and wells were rinsed twice with 200 μ l of sterile saline. The wells were air-dried and 150 μ l per well of 0.1% crystal violet solution was added for 30 min. Then, the colourant was discarded and the wells were rinsed five times with distilled water. The plates were air-dried for 1 h. To quantify biofilms, 200 μ l of 96% ethanol was pipetted into each well. After 5 min, 125 μ l of the solution was transferred to a separate plate where the OD_{540} were measured using xMark™ spectrophotometer.

The total biofilm formation (BF) or, the mass of biofilms, was calculated using the formulae: $BF = AB - CW$, where AB is the OD_{540} of stained biofilms and CW is the OD_{540} of stained control wells.

Each result is indicated as the mean value of at least five independent experiments \pm the standard error of the mean (SEM). Significant difference was analyzed by Student's

t-test. A P-value of 0.05 was used as the cut-off for statistical significance. Results were analyzed by means of Statistica 6 (ver. 6, 2001; StatSoft Inc.).

RESULTS AND DISCUSSION

Under our conditions, streptomycin killing rate against mature biofilms of *E. coli* BW25113 grew up in a dose-dependent manner and was equal to -0.17 and -2.39 h^{-1} for 10 and 100 mg/ml streptomycin, respectively. In the presence of the tested medicinal plant extracts, we observed modulation of the killing rates. More remarkable effects were found with 100 mg/ml streptomycin (Fig. 1). Interestingly, different doses of the extracts could cause opposite effects: 0.83 mg/ml extracts of green tea, black tea, *A. uva-ursi*, *B. pendula* and

L. japonica increased killing rate of the antibiotic by about 25 %. Alternatively, 6.64 mg/ml extracts of green and black tea, *B. pendula* and *L. japonica* decreased the killing rate of streptomycin by about 20 %. High doses of *V. vitis-ideae* reduced the killing rate by 3.5 times. In case of 10 mg/ml streptomycin, the extract of *V. vitis-ideae* demonstrated a dose-dependent protection against killing by antibiotic (data not shown). Generally, synergistic effect between 100 mg/ml streptomycin and low doses of the extracts turned into antagonistic mode when doses of the extracts were increased.

The observed effects might be explained by pro-oxidant activity of green and black tea, *A. uva-ursi* and *V. vitis-ideae*, which also contributed to protection of planktonic cultures against ciprofloxacin and ampicillin but increased killing by kanamycin [16]. Nature of antibiotics is essential when their action is combined with the plant extracts. Specific killing mechanism by streptomycin involves inhibition of protein synthesis. Thus, it is more likely to affect rapidly growing bacterial cultures. As for the biofilms, antibiotic penetration through biofilm matrix might be the limiting factor. Thus, to understand the underlying mechanisms of modulation of streptomycin killing rate in the presence of the extracts we investigated changes in the mass biofilm formation during the incubation period. As it was mentioned in "Materials and methods" section, in the model of our experiment mature biofilms were firstly pretreated with the extracts for 1 h before antibiotic was added. After the first hour, we observed dose-dependent stimulating effects on mass biofilm formation by all the extracts excluding *B. pendula* (Fig. 2 A, B). This coincided with our earlier report about stimulating effects of these extract on biofilm formation in planktonic cultures [5]. Here, maximal stimulation was seen with 6.64 mg/ml *A. uva-ursi* and *V. vitis-ideae* extracts, which enhanced mass biofilm formation up to 5.5 times compared to the untreated biofilms. Strong pro-oxidant activity of the tested extracts could stimulate biofilm production via induction of stress response path-

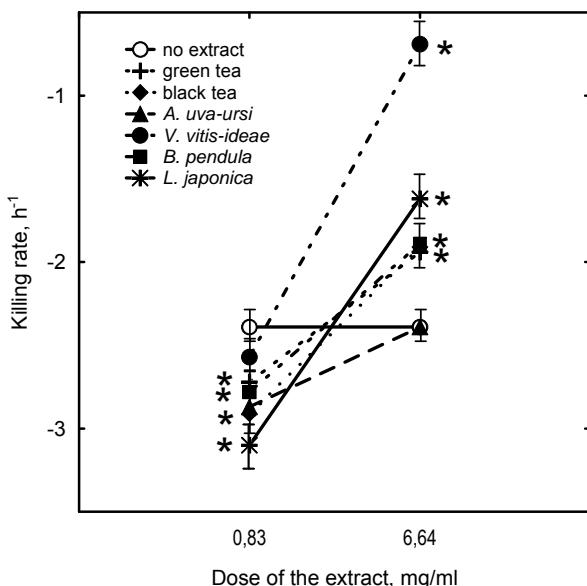


Fig. 1. Killing rate by 100 mg/ml streptomycin in the presence of different doses of the extracts (* indicates statistically significant difference from the sample treated with antibiotic alone).

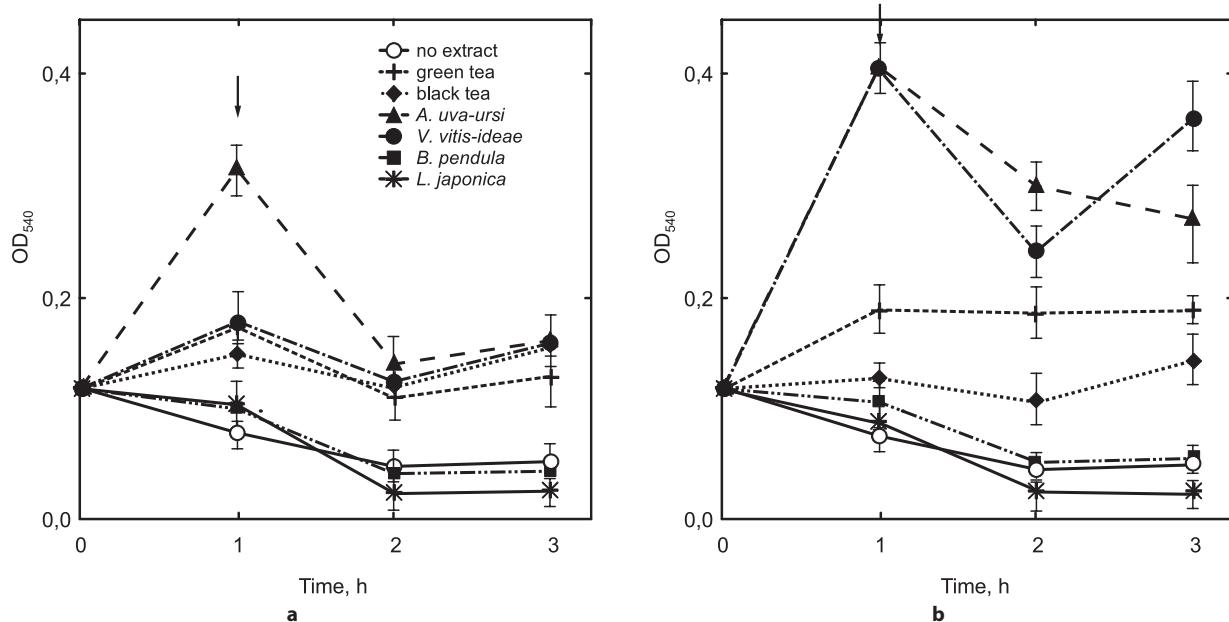


Fig. 2. Mass biofilm formation (OD_{540}) in the presence of low (a) and high (b) doses of the extracts and 100 mg/ml streptomycin (moment of antibiotic addition is indicated by the arrow).

ways [4; 5, 16]. At the same time, mature biofilms that were not treated with the extracts exhibited a slight eradication mode after 1 h of incubation and then the mass biofilm parameter did not change remarkably (data not shown). Treatment with 100 mg/ml streptomycin in the absence of the extracts enhanced eradication by about 50 %. After addition of streptomycin to the biofilms pretreated with the extracts a dose-dependent stimulation of mass biofilm formation was still observed after 2 h of incubation in case of *A. uva-ursi*, *V. vitis-ideae*, green and black tea compared to the sample treated only with antibiotic. Simultaneously, *L. japonica* extract decreased biofilm formation by 2 times (Fig. 2 A, B).

Collectively, after treatment with 100 mg/ml streptomycin high doses of the extracts of green, black tea and *V. vitis-ideae* demonstrated antagonistic mode, decreasing antibiotic killing rate and enhancing biofilm formation. At the same time synergism was found between streptomycin and low doses of the extracts of green tea, black tea, *A. uva-ursi*, *B. pendula* and *L. japonica* against killing mature biofilms. Apparently, high doses of the extracts were sufficient to enhance biofilm formation and consequently to block penetration of streptomycin through enlarged biofilm matrix and thus the killing rate was diminished.

CONCLUSION

Our findings revealed opposite modulation patterns of the streptomycin killing rate in the presence of low and high doses of the medicinal plant extracts. Notably, only low doses provoked synergism enhancing killing of mature biofilms by streptomycin. Higher doses of green, black tea and *V. vitis-ideae*, which are widely consumed as soft beverages or in UTIs prophylaxis aroused strong antagonistic effects decreasing killing by streptomycin. We showed that these extracts could stimulate biofilm production, which may be useful for commensal microbiota, but have clinical relevance due to a significant reduction in the lethal efficiency of streptomycin in biofilms of pathogenic strains. This highlights the need of carefulness and antibiotic prescription scheme adjustment in choosing appropriate combinations of plant extracts and antibiotics to achieve a synergistic effect. Further research is required to elucidate the complicated interaction patterns of antibiotics and medicinal plant extracts.

Funding

This work was supported by the state assignment 01201353246 and was also supported by a Program of Ural branch of Russian Academy of Sciences [Grant number AAAA-A18-118041890005-1] and by a grant from President of Russian Federation for young scientists [Grant number MK 3376.2018.4].

Conflict of interest

The authors have no conflict of interest to disclose.

REFERENCES

1. TB Alliance. Handbook of anti-tuberculosis agents. Streptomycin. *Tuberculosis*. 2008; 88(2): 162-163. doi: 10.1016/S1472-9792(08)70027-1
2. Schatz A, Bugie E, Waksman S, Hanssen A, Patel R, Osmon D. The classic: streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against gram-positive and gram-negative bacteria. *Clin Orthop Relat Res*. 2005; (437): 3-6. doi: 10.1097/01.blo.0000175887.98112.fe
3. Wojnicz D, Kucharska AZ, Sokół-Łętowska A, Kicia M, Tichaczek-Goska D. Medicinal plant extracts affect virulence factors expression and biofilm formation by the uropathogenic *Escherichia coli*. *Urol Res*. 2012; 40(6): 683-697. doi: 10.1007/s00240-012-0499-6
4. Akagawa M, Shigemitsu T, Suyama K. Production of hydrogen peroxide by polyphenols and polyphenol-rich beverages under quasi-physiological conditions. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2003; 67(12): 2632-2640. doi: 10.1271/bbb.67.2632
5. Samoilova Z, Muzyka N, Lepekhina E, Oktyabrsky O, Smirnova G. Medicinal plant extracts can variously modify biofilm formation in *Escherichia coli*. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2014; 105(4): 709-722. doi: 10.1007/s10482-014-0126-3
6. Kohanski MA, Dwyer DJ, Hayete B, Lawrence CA, Collins JJ. A common mechanism of cellular death induced by bactericidal antibiotics. *Cell*. 2007; 130(5): 797-810. doi: 10.1016/j.cell.2007.06.049
7. Belenky P, Ye JD, Porter CBM, Cohen NR, Lobritz MA, Ferrante T, et al. Bactericidal antibiotics induce toxic metabolic perturbations that lead to cellular damage. *Cell Rep*. 2015; 13(5): 968-980. doi: 10.1016/j.celrep.2015.09.059
8. Daglia M. Polyphenols as antimicrobial agents. *Curr Opin Biotechnol*. 2012; 23(2): 174-181. doi: 10.1016/j.copbio.2011.08.007
9. Monte J, Abreu AC, Borges A, Simões LC, Simões M. Antimicrobial activity of selected phytochemicals against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and their biofilms. *Pathogens*. 2014; 3(2): 473-498. doi: 10.3390/pathogens3020473
10. Goswami M, Magnoli SH, Jawali N. Effects of glutathione and ascorbic acid on streptomycin sensitivity in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007; 51(3): 1119-1122. doi: 10.1128/AAC.00779-06
11. Baba T, Ara T, Hasegawa M, Takai Y, Okumura Y, Baba M, et al. Construction of *Escherichia coli* K-12 in-frame, single-gene knockout mutants: the Keio collection. *Mol Syst Biol*. 2006; 2: 2006.0008. doi: 10.1038/msb4100050
12. Miller JH. *Experiments in molecular genetics*. Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1972.
13. Regoes RR, Wiuff C, Zappala RM, Garner KN, Baquero F, Levin BR. Pharmacodynamic functions: a multiparameter approach to the design of antibiotic treatment regimens. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004; 48(10): 3670-3676. doi: 10.1128/AAC.48.10.3670-3676.2004
14. Naves P, del Prado G, Huelves L, Gracia M, Ruiz V, Blanco J, et al. Measurement of biofilm formation by clinical isolates of *Escherichia coli* is method-dependent. *J Appl Microbiol*. 2008; 105(2): 585-590. doi: 10.1111/j.1365-2672.2008.03791.x
15. O'Toole GA, Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signaling pathways: a genetic analysis. *Mol Microbiol*. 1998; 28(3): 449-461. doi: 10.1046/j.1365-2958.1998.00797.x
16. Samoilova Z, Smirnova G, Muzyka N, Oktyabrsky O. Medicinal plant extracts variously modulate susceptibility of *Escherichia coli* to different antibiotics. *Microbiol Res*. 2014; 169(4): 307-313. doi: 10.1016/j.micres.2013.06.013

Information about the authors

Zoya Y. Samoilova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer, Laboratory of Physiology and Genetics of Microorganisms, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch of Russian Academy of Sciences, e-mail: samoilova@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8637-6484>

Galina V. Smirnova – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer, Laboratory of Physiology and Genetics of Microorganisms, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch of Russian Academy of Sciences, e-mail: smirnova@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6116-8147>

Oleg N. Oktyabrsky – Professor, Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Physiology and Genetics of Microorganisms, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Perm Federal Research Center, Ural Branch of Russian Academy of Sciences, e-mail: oktyabr@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9864-2094>

Сведения об авторах

Самойлова Зоя Юрьевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии и генетики микроорганизмов, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, ФГБУН ПФИЦ УрО РАН, e-mail: samoilova@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8637-6484>

Смирнова Галина Васильевна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии и генетики микроорганизмов, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, ФГБУН ПФИЦ УрО РАН, e-mail: smirnova@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8637-6484>

Октябрьский Олег Николаевич – профессор, доктор биологических наук, заведующий лабораторией физиологии и генетики микроорганизмов, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, ФГБУН ПФИЦ УрО РАН, e-mail: oktyabr@iegm.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9864-2094>

Received: 21.06.2019. Accepted: 23.09.2019. Published: 26.10.2019.

Статья получена: 21.06.2019. Статья принята: 23.09.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ

MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.5.9

Динамика активности МАР-киназных каскадов в процессе заживления послеоперационной кожно-мышечной раны

Шурыгина И.А.¹, Уманец В.А.¹, Шурыгин М.Г.²

¹ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия); ²АО «Фармасинтез» (664007, г. Иркутск, ул. Красногвардейская, 3, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Шурыгина Ирина Александровна, e-mail: irinashurygina@gmail.com

Резюме

Обоснование. Управление репаративным процессом – актуальная задача современной медицины. По нашему мнению, перспективна разработка патогенетически обоснованных подходов к оптимизации процесса репарации для управления взаимоотношением клеточно-стромальных элементов. Одним из перспективных направлений в этом плане является воздействие на МАРК-киназы.

Цель. Изучить экспрессию МАР-киназных механизмов в регуляции репарации на примере кожно-мышечной раны.

Методы. Линейную кожно-мышечную рану моделировали с использованием крыс линии Wistar весом 220–250 г в возрасте 9 месяцев ($n = 24$). Проводили иммунофлюоресцентное окрашивание для выявления активности p38-, JNK- и ERK МАРК-киназ каскадов с сроками от 1 до 30 суток.

Результаты. Установлено, что специфическое окрашивание в области формирования соединительной ткани при окраске на p38 МАРК и её фосфорилированную форму впервые отмечено на 3-и сутки, и на этот же срок приходилась максимальная её выраженность. На 7-е и 14-е сутки минимально окрашивались небольшие зоны в области формирования рубца. Фосфорилированная часть JNK-киназы в зоне травматического повреждения выявлялась, начиная с 1-х суток после травмы. Яркая окраска сохранялась на 3-и сутки. На 7-е сутки окраска была минимальной, а к 14-м суткам наблюдалась вторая волна экспрессии. Окрашивание на ERK отмечалось с 1-х и до 14-х суток с пиком активности на 3-и сутки

Заключение. Таким образом, нами выявлено одновременное вовлечение в регуляцию репаративного процесса в условиях кожно-мышечной раны p38-, JNK- и ERK-киназ каскадов. При этом обращает на себя внимание, что пиковая активность всех каскадов совпадает и приходится на 3-и сутки.

Ключевые слова: МАРК, репаративный процесс, спаечный процесс, p38-киназа, JNK-киназа, ERK-киназа.

Для цитирования: Шурыгина И.А., Уманец В.А., Шурыгин М.Г. Динамика активности МАР-киназных каскадов в процессе заживления послеоперационной кожно-мышечной раны. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 55-59. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.9

Dynamics of the Activity of MAP-Kinase Cascades in the Healing Process of Postoperative Musculocutaneous Wounds

Shurygina I.A.¹, Umanets V.A.¹, Shurygin M.G.²

¹ Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolutsii str. 1, 664003 Irkutsk, Russian Federation); ² AO «Farmasintez» (Krasnogvardeyskaya str. 3, 664007 Irkutsk, Russia Federation)

Corresponding author: Irina A. Shurygina, e-mail: irinashurygina@gmail.com

Abstract

Background. Management of the reparative process is an urgent task of modern medicine. In our opinion, the development of pathogenetically grounded approaches to optimizing the repair process for managing the interrelations of stromal cells is promising. One of the promising areas in this regard is the impact on the MAPK-cascades.

Aim: to study the expression of MAP-kinase mechanisms in the regulation of repair by the example of a musculocutaneous wound.

Methods. A linear muscular skin wound was modeled using Wistar rats weighing 220–250 g at the age of 9 months ($n = 24$). Immunofluorescence staining was performed to detect the activity of p38, JNK, and ERK MAPK cascades from 1 to 30 days.

Results. It was established that specific staining in the area of connective tissue formation during staining with p38 MAPK and its phosphorylated form was first observed on the 3rd day, and its maximum severity occurred at the same time. On the 7th and 14th day, small zones in the area of scar formation were minimally stained. The phosphorylated part of the JNK-cascade in the zone of traumatic injury was detected starting from the 1st day

after the injury. Bright color persisted on the 3rd day. On the 7th day, the color was minimal, and by the 14th day a second wave of expression was observed. ERK-staining was observed from the 1st to the 14th day with a peak activity on the 3rd day.

Conclusion. Thus, we revealed the simultaneous involvement of p38, JNK, and ERK-cascades in the regulation of the reparative process in the conditions of a musculoskeletal wound. At the same time, it is noteworthy that the peak activity of all cascades coincides and falls on the 3rd day.

Key words: MAPK, healing process, adhesive process, p38 cascade, JNK cascade, ERK cascade.

For citation: Shurygina I.A., Umanets V.A., Shurygin M.G. Dynamics of the Activity of MAP-Kinase Cascades in the Healing Process of Postoperative Musculocutaneous Wounds. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 55-59. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.9

ОБОСНОВАНИЕ

В последнее десятилетие в связи с бурным развитием регенеративной медицины достигнуты значимые успехи в восстановлении функции органов и структуры органов, подверженных хирургическому вмешательству. Однако при этом на второй план отходят изменения в области производимого операционного разреза. В то же время возникающие изменения кожи и подлежащих тканей в области операционной раны в последующем приводят пациентов к необходимости обращаться для коррекции послеоперационных изменений к пластическим хирургам [1]. Наиболее выражены данные проявления у лиц со склонностью к гиперпластическим процессам (образование келоидных рубцов) и в противоположной ипостаси – при замедлениях reparативного процесса и формировании несостоинственности шва [2].

При анализе патогенеза раневого процесса нами было обращено внимание на то, что практически все стимулы, инициализирующие репарацию при раневом процессе, реализуются через систему каскадов MAP-киназ (mitogen-activated protein kinase), обеспечивающих связь между стимуляцией рецепторного поля клетки и активацией экспрессии генов, запускающих процессы пролиферации, дифференцировки и синтеза внеклеточного вещества [3, 4, 5].

Одной из актуальных проблем заживления ран кожи является формирование гипертрофических кожных рубцов. Современные данные позволяют предположить, что активация MAPK (ERK1/2, p38, JNK) играет роль в патогенезе развития этого состояния [6, 7, 8, 9, 10].

По нашему мнению, перспективна разработка патогенетически обоснованных подходов к оптимизации процесса репарации в зоне повреждения для управления взаимосоотношением клеточно-стромальных элементов и созданием намеченной оптимальной жесткости формирующейся соединительной ткани с использованием MAP-киназных механизмов.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить экспрессию MAP-киназных механизмов в регуляции репарации на примере кожно-мышечной раны.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Моделирование линейной кожно-мышечной раны

Линейную кожно-мышечную рану моделировали с использованием крыс линии Wistar весом 220–250 г в возрасте 9 месяцев ($n = 24$). Эксперимент выполнялся в соответствии с нормами гуманного обращения с животными согласно протоколу, одобренному Комитетом по этике ИНЦХТ. Эксперимент подробно описан в более ранних публикациях [11, 12]. Три интактных животных служили в качестве контроля.

Фрагменты кожно-мышечной раны и сформированной на её месте соединительной ткани фиксировали раствором FineFix (Milestone, Италия) для последующего гистологического и иммуноморфологического исследования.

В качестве первичных антител применяли p38 MAPK Rabbit Monoclonal Antibody (Epitomics, Cat. N 1544-1, Lot YE-02-12-11C), p44 MAPK (Erk1) (MAPK3) Rabbit Monoclonal Antibody (Epitomics, Cat. N 3739-1, Lot YH111626), JNK1 Phospho (pT183) / JNK2 Phospho (pT183) / JNK3 Phospho (pT221) (MAPK10) Rabbit Monoclonal Antibody (Epitomics, Cat. N 3893-1, Lot YH122306C), p38 MAPK Phospho (pT180/ pY182) (MAPK14) Rabbit Monoclonal Antibody (Epitomics, Cat. N 1229-1, Lot YH080601C). Для иммунофлюоресцентных исследований применяли вторичные антитела Alexa fluor 488 goat anti-rabbit IgG (H+L) (Invitrogen, Cat. N 11034, Lot 870976), Alexa fluor 568 goat anti-rabbit IgG (H+L) (Invitrogen, Cat. N A-11036 Lot 757102). Ядра докрашивали Hoechst 33342.

Визуализацию специфического свечения флюороромных меток проводили на исследовательском микроскопе Nikon Eclipse 80i с приставкой для эпифлюоресценции DIH-M. Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «Диагностические изображения в хирургии».

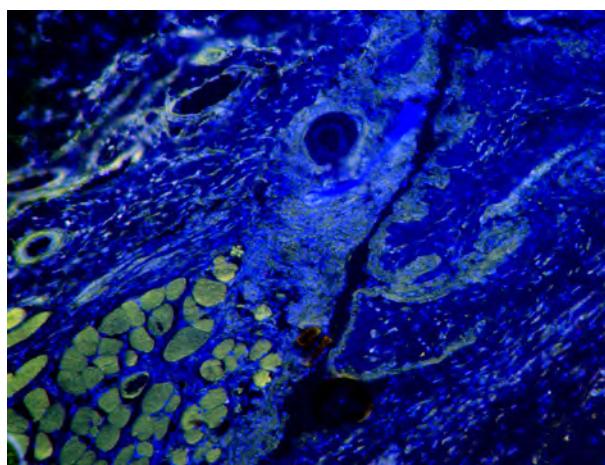
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У опытных животных процесс формирования соединительнотканного рубца на месте кожно-мышечной раны соответствовал канонам развития воспалительного ответа в условиях асептической раны. С 1-х суток начиналась нейтрофильная фаза воспаления, с 3-х суток – фибробластическая. К 14-м суткам наблюдалась полная эпителиализация раны, началось созревание соединительной ткани.

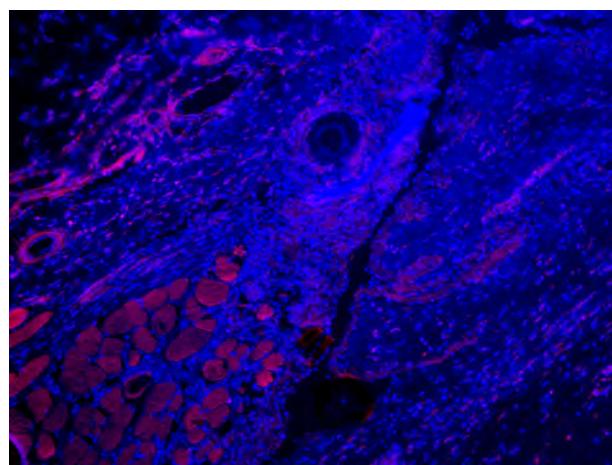
Нами изучена экспрессия активности MAP-киназных каскадов при заживлении кожно-мышечной раны. Исследованы каскады p38 (маркер – p38 MAPK) и его активная фосфорилированная часть (маркер – p38 MAPK Phospho (pT180/pY182) (MAPK14), активная фосфорилированная часть каскада JNK (маркер – NK1 Phospho (pT183) / JNK2 Phospho (pT183) / JNK3 Phospho (pT221) (MAPK10)), ERK-каскад (маркер – p44 MAPK (Erk1) (MAPK3)).

Поскольку экспрессия данных маркеров тесно связана с функциональной активностью клеток, логично ожидать её изменение в динамике reparативного процесса.

Установлено, что у опытной группы животных специфическое окрашивание в области формирования соединительной ткани при окраске на p38 MAPK впервые отмечено на 3-и сутки, и на этот же срок приходилась максимальная её выраженность. На 7-е и 14-е сутки



a



6

Рис. 1. Третья сутки эксперимента. Экспрессия p38 MAPK (а) и p38 MAPK Phospho (6) в области раны. Иммунофлюоресценция. Первичные антитела – p38 MAPK (Epitomics), вторичные антитела, меченные Alexa Fluor 488, первичные антитела – p38 MAPK Phospho (Epitomics), вторичные антитела, меченные Alexa Fluor 568, докрашивание ядер Hoechst 33342, ув. $\times 100$.

Fig. 1. The third day of the experiment. Expression of p38 MAPK (a) and p38 MAPK Phospho (6) in the wound area. Immunofluorescence. Primary antibodies – p38 MAPK (Epitomics), secondary antibodies labeled with Alexa Fluor 488, primary antibodies – p38 MAPK Phospho (Epitomics), secondary antibodies labeled with Alexa Fluor 568, nuclei counterstaining with Hoechst 33342, magnification $\times 100$.

минимально окрашивались небольшие зоны в области формирования рубца. Активная фосфорилированная часть p38 MAPK окрашивалась аналогично суммарной окраске на p38 (рис. 1).

Фосфорилированная часть JNK-каскада в зоне травматического повреждения выявлялась, начиная с 1-х суток после травмы. Яркая окраска сохранялась на 3-и сутки. На 7-е сутки окраска была минимальной, а к 14-м суткам наблюдалась вторая волна экспрессии JNK Phospho. Отсутствие окраски на 30-е сутки совпадало с морфологическим созреванием рубца в зоне повреждения (рис. 2).

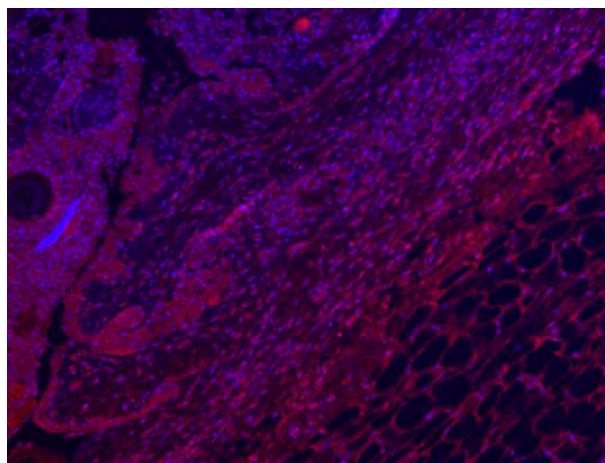


Рис. 2. Третья сутки эксперимента. Экспрессия JNK в области раны. Иммунофлюоресценция. Первичные антитела – JNK1 Phospho (pT183) / JNK2 Phospho (pT183) / JNK3 Phospho (pT221) (MAPK10) (Epitomics), вторичные антитела, меченные Alexa Fluor 568, докрашивание ядер Hoechst 33342.

Fig. 2. The third day of the experiment. JNK expression in the wound area. Immunofluorescence. Primary antibodies – JNK1 Phospho (pT183) / JNK2 Phospho (pT183) / JNK3 Phospho (pT221) (MAPK10) (Epitomics), secondary antibodies labeled with Alexa Fluor 568, nuclei counterstaining with Hoechst 33342.

Окрашивание на p44 MAPK отмечалось с 1-х и до 14-х суток с пиком активности на 3-и сутки (рис. 3).

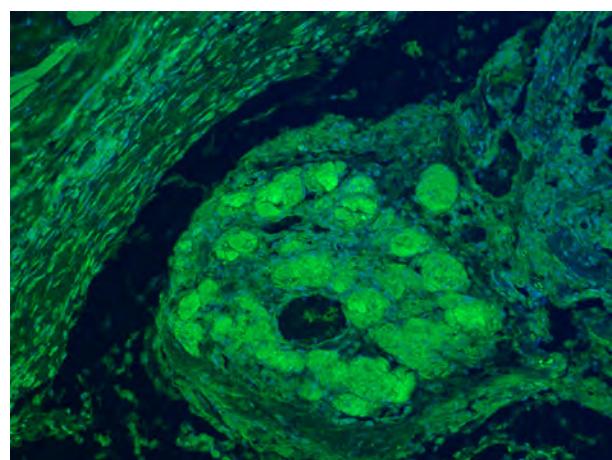


Рис. 3. Третья сутки эксперимента. Экспрессия p44 MAPK (Erk1). Иммунофлюоресценция. Первичные антитела – p44 MAPK (Erk1) (MAPK3) (Epitomics), вторичные антитела, меченные Alexa Fluor 488, докрашивание ядер Hoechst 33342.

Fig. 3. The third day of the experiment. Expression of p44 MAPK (Erk1). Immunofluorescence. Primary antibodies – p44 MAPK (Erk1) (MAPK3) (Epitomics), secondary antibodies labeled with Alexa Fluor 488, nuclei counterstaining with Hoechst 33342.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами выявлено одновременное вовлечение в регуляцию репаративного процесса в условиях кожно-мышечной раны p38-, JNK- и ERK-каскадов. При этом обращает на себя внимание, что пиковая активность всех каскадов совпадает и приходится на 3-и сутки.

Интересно, что в условиях асептической кожно-мышечной раны для p38- и ERK-каскадов характерен всего один пик активности – на 3-и сутки, в то время как для JNK-каскада наблюдалось два пика – на 3-и и 14-е сутки.

Таким образом, пик активности изученных MAPK-каскадов совпадает с началом фибробластической фазы воспаления. По-видимому, MAPK-каскады играют важную роль в дифференцировке фибробластов в зоне асептического воспаления, что согласуется с данными

об участии p38-, JNK- и ERK МАРК-каскадов в заживлении кожных ран. В частности, показано, что ингибиование p38 МАРК с помощью малых молекул было достаточным для ослабления TGF β -опосредованной активации фибробластов [13]. А ингибиование ERK1 / 2 и JNK1 / 2 приводит к значительному снижению пролиферации и миграции дермальных фибробластов человека [14].

Полученные данные по динамике активации сигнальных каскадов позволяют разрабатывать способы направленной регуляции репаративного процесса в области раны.

ЛИТЕРАТУРА

1. Peng LG, Kerolus JL. Management of Surgical Scars. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2019; 27(4): 513-517. doi: 10.1016/j.fsc.2019.07.013
2. Goutos I. Intralesional excision as a surgical strategy to manage keloid scars: what's the evidence? *Scars Burn Heal.* 2019; 5: 2059513119867297. doi: 10.1177/2059513119867297
3. Shurygin MG, Shurygina IA, Granina GB, Zelenin NV, Ayushinova NI. Using laser confocal microscopy to assess the activity of map kinase systems in the reparative process. *Bull Russ Acad Sci Phys.* 2016; 80(1): 14-16. <https://doi.org/10.3103/S1062873816010214>
4. Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Зеленин Н.В., Аюшинова Н.И. Воздействие на митогенактивируемые протеинкиназы как новое направление регуляции роста соединительной ткани. *Бюллетень сибирской медицины.* 2017; 16(4): 86-93. DOI: 10.20538/1682-0363-2017-4-86-93
5. Bhattacharya D, Tiwari R, Bhatia T, Purohit MP, Pal A, Jagdale P, et al. Accelerated and scarless wound repair by a multicomponent hydrogel through simultaneous activation of multiple pathways. *Drug Deliv Transl Res.* 2019. doi: 10.1007/s13346-019-00660-z
6. Liang CJ, Yen YH, Hung LY, Wang SH, Pu C.M., Chien HF, et al. Thalidomide inhibits fibronectin production in TGF- β 1-treated normal and keloid fibroblasts via inhibition of the p38/Smad3 pathway. *Biochem Pharmacol.* 2013; 85(11): 1594-1602. doi: 10.1016/j.bcp.2013.02.038
7. Song J, Xu H, Lu Q, Xu Z, Bian D, Xia Y, et al. Madecassoside suppresses migration of fibroblasts from keloids: involvement of p38 kinase and PI3K signaling pathways. *Burns.* 2012; 38(5): 677-684. doi: 10.1016/j.burns.2011.12.017
8. He S, Liu X, Yang Y, Huang W, Xu S, Yang S, et al. Mechanisms of transforming growth factor beta(1)/Smad signalling mediated by mitogen-activated protein kinase pathways in keloid fibroblasts. *Br J Dermatol.* 2010; 162(3): 538-546. doi: 10.1111/j.1365-2133.2009.09511.x
9. Xia W, Longaker MT, Yang GP. P38 MAP kinase mediates transforming growth factor-beta2 transcription in human keloid fibroblasts. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2006; 290(3): 501-508. DOI: 10.1152/ajpregu.00472.2005
10. Unahabokha T, Sucontphunt A, Nimmannit U, Chavornachote P, Yongsanguanchai N, Pongrakhananon V. Molecular signalling in keloid disease and current therapeutic approaches from natural based compounds. *Pharm Biol.* 2015; 53(3): 457-463. doi: 10.3109/13880209.2014.918157
11. Shurygina IA, Shurygin MG, Ayushinova NI, Granina GB, Zelenin NV. Mechanisms of connective tissue formation and blocks of mitogen activated protein kinase. *Front Chem Sci Eng.* 2012; 6(2): 232-237. DOI: 10.1007/s11705-012-1286-1
12. Shurygina IA, Shurygin MG, Granina GB, Zelenin NV. Application of mitogen-activated protein kinase inhibitor SP 600125 for wound healing control. *J Regen Med Tissue Eng.* 2013; 2: 9. DOI: 10.7243/2050-1218-2-9
13. Dolivo DM, Larson SA, Dominko T. FGF2-mediated attenuation of myofibroblast activation is modulated by distinct MAPK signaling pathways in human dermal fibroblasts. *J Dermatol Sci.* 2017; 88(3): 339-348. doi: 10.1016/j.jdermsci.2017.08.013
14. Lee BC, Song J, Lee A, Cho D, Kim TS. Visfatin promotes wound healing through the activation of ERK1/2 and JNK1/2 pathway. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(11): pii: E3642. doi: 10.3390/ijms19113642

REFERENCES

1. Peng LG, Kerolus JL. Management of Surgical Scars. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2019; 27(4): 513-517. doi: 10.1016/j.fsc.2019.07.013
2. Goutos I. Intralesional excision as a surgical strategy to manage keloid scars: what's the evidence? *Scars Burn Heal.* 2019; 5: 2059513119867297. doi: 10.1177/2059513119867297
3. Shurygin MG, Shurygina IA, Granina GB, Zelenin NV, Ayushinova NI. Using laser confocal microscopy to assess the activity of map kinase systems in the reparative process. *Bull Russ Acad Sci Phys.* 2016; 80(1): 14-16. <https://doi.org/10.3103/S1062873816010214>
4. Shurygina IA, Shurygin MG, Zelenin NV, Ayushinova NI. Influence on mitogen-activated protein kinases as a new direction of connective tissue growth regulation. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2017; 16(4): 86-93. [https://doi.org/10.20538/1682-0363-2017-4-86-93.](https://doi.org/10.20538/1682-0363-2017-4-86-93) (In Russ.)
5. Bhattacharya D, Tiwari R, Bhatia T, Purohit MP, Pal A, Jagdale P, et al. Accelerated and scarless wound repair by a multicomponent hydrogel through simultaneous activation of multiple pathways. *Drug Deliv Transl Res.* 2019. doi: 10.1007/s13346-019-00660-z
6. Liang CJ, Yen YH, Hung LY, Wang SH, Pu C.M., Chien HF, et al. Thalidomide inhibits fibronectin production in TGF- β 1-treated normal and keloid fibroblasts via inhibition of the p38/Smad3 pathway. *Biochem Pharmacol.* 2013; 85(11): 1594-1602. doi: 10.1016/j.bcp.2013.02.038
7. Song J, Xu H, Lu Q, Xu Z, Bian D, Xia Y, et al. Madecassoside suppresses migration of fibroblasts from keloids: involvement of p38 kinase and PI3K signaling pathways. *Burns.* 2012; 38(5): 677-684. doi: 10.1016/j.burns.2011.12.017
8. He S, Liu X, Yang Y, Huang W, Xu S, Yang S, et al. Mechanisms of transforming growth factor beta(1)/Smad signalling mediated by mitogen-activated protein kinase pathways in keloid fibroblasts. *Br J Dermatol.* 2010; 162(3): 538-546. doi: 10.1111/j.1365-2133.2009.09511.x
9. Xia W, Longaker MT, Yang GP. P38 MAP kinase mediates transforming growth factor-beta2 transcription in human keloid fibroblasts. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2006; 290(3): 501-508. DOI: 10.1152/ajpregu.00472.2005
10. Unahabokha T, Sucontphunt A, Nimmannit U, Chavornachote P, Yongsanguanchai N, Pongrakhananon V. Molecular signalling in keloid disease and current therapeutic approaches from natural based compounds. *Pharm Biol.* 2015; 53(3): 457-463. doi: 10.3109/13880209.2014.918157
11. Shurygina IA, Shurygin MG, Ayushinova NI, Granina GB, Zelenin NV. Mechanisms of connective tissue formation and blocks of mitogen activated protein kinase. *Front Chem Sci Eng.* 2012; 6(2): 232-237. DOI: 10.1007/s11705-012-1286-1
12. Shurygina IA, Shurygin MG, Granina GB, Zelenin NV. Application of mitogen-activated protein kinase inhibitor SP 600125 for wound healing control. *J Regen Med Tissue Eng.* 2013; 2: 9. DOI: 10.7243/2050-1218-2-9
13. Dolivo DM, Larson SA, Dominko T. FGF2-mediated attenuation of myofibroblast activation is modulated by distinct MAPK signaling pathways in human dermal fibroblasts. *J Dermatol Sci.* 2017; 88(3): 339-348. doi: 10.1016/j.jdermsci.2017.08.013
14. Lee BC, Song J, Lee A, Cho D, Kim TS. Visfatin promotes wound healing through the activation of ERK1/2 and JNK1/2 pathway. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(11): pii: E3642. doi: 10.3390/ijms19113642

Сведения об авторах

Шурыгина Ирина Александровна – доктор медицинских наук, профессор РАН, заместитель директора по науке, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: irinashurygina@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3980-050X>

Уманец Виталий Алексеевич – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий и регенеративной медицины, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: umanets_vitaly@rambler.ru

Шурыгин Михаил Геннадьевич – доктор медицинских наук, заведующий научно-лабораторным отделом, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; директор по науке и инновационной деятельности, АО «Фармасинтез», e-mail: shurygin@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5921-0318>

Information about the authors

Irina A. Shurygina – Dr. Sc. (Med.), Professor of RAS, Deputy Director for Science, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: irinashurygina@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3980-050X>

Vitaliy A. Umanets – Cand. Sc. (Chem.), Senior Research Officer, Laboratory of Cell Technologies and Regenerative Medicine, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: umanets_vitaly@rambler.ru

Mikhail G. Shurygin – Dr. Sc. (Med.), Head of the Scientific Laboratory Department, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Director for Science and Innovations, "Farmasintez", e-mail: shurygin@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5921-0318>

Статья получена: 02.09.2019. Статья принята: 26.09.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 02.09.2019. Accepted: 26.09.2019. Published: 26.10.2019.

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.5.10

Особенности пищевой гиперчувствительности у детей с расстройством аутистического спектра

Худякова М.И.¹, Черевко Н.А.¹, Скирневская А.В.¹, Розенштейн М.Ю.², Розенштейн А.З.², Кондаков С.Э.³,
Березовская К.В.⁴

¹ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (634055, г. Томск, ул. Московский тракт, 2, Россия); ²ООО «ИммуноХелс Рус» (117393, г. Москва, ул. Архитектора Власова, 18, Россия); ³ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова» (119991, г. Москва, ул. Ленинские горы, 1, Россия); ⁴Медицинское объединение ООО «Центр семейной медицины» (634050, г. Томск, ул. Трифонова, 22, Россия)

Автор, отвечающий за переписку: Худякова Мария Ивановна, e-mail: khudiakovami@mail.ru

Резюме

Согласно мировой статистике, в детской популяции продолжает нарастать частота развития расстройств аутистического спектра (68–100 случаев на 1000 рожденных) с преобладанием мальчиков над девочками. Несмотря на многочисленные исследования, посвященные этой проблеме, патогенез аутизма по-прежнему остается спорным.

Целью работы являлось оценить эффективность элиминационных диетологических подходов на динамику показателей пищевой гиперчувствительности, цитокинового баланса и психологических параметров у детей с расстройствами аутистического спектра, проживающими в г. Томске.

Для реализации поставленной цели использовали модифицированный метод ИФА для определения концентрации специфических иммуноглобулинов к 111 пищевым антигенам. Концентрацию интерлейкинов измеряли стандартным методом ИФА. Динамику психического состояния детей с аутизмом оценивали при помощи анкеты АТЕС.

В результате было отмечено, что у детей с аутизмом статистически значимо чаще наблюдается гиперчувствительность к пАГ зерновых и молочных. Получены изменения концентрации ряда интерлейкинов в сыворотке крови. Выявлена прямая корреляционная зависимость между концентрацией IgG к антигенам грибов рода *Candida*, пАГ продуктов молочного и зернового происхождения и концентрацией ИФН γ в сыворотке крови. Каждому ребёнку была назначена индивидуальная элиминационная диета. В результате проведённой коррекции получен ряд позитивных результатов. Значительно снизились диагностические значимые титры АТ к грибам рода *C. albicans*. Выявлены статистически значимые изменения результатов АТЕС-тестирования: средний балл до диеты равнялся 71 (тяжёлая степень аутизма), после диеты – 58 (средняя степень аутизма). У 30 % детей, со строгой приверженностью мам к соблюдению принципов элиминационной диеты, показатели тестов АТЕС снизились до 35 (лёгкая степень аутизма). Полученные данные раскрывают неизученные эффекты специфической пищевой гиперчувствительности на процесс инициации и поддержания хронического системного воспаления, а также на психоневрологический статус в условиях нормы и при патологических состояниях. Персонифицированная элиминационная диета позволяет повысить возможности иммунореабилитации, коммуникативных показателей и улучшить качество жизни детей с аутизмом.

Ключевые слова: расстройства аутистического спектра, пищевая гиперчувствительность, персонифицированная элиминационная диета, интерлейкины, тест АТЕС, грибы *Candida albicans*

Для цитирования: Худякова М.И., Черевко Н.А., Скирневская А.В., Розенштейн М.Ю., Розенштейн А.З., Кондаков С.Э., Березовская К.В. Особенности пищевой гиперчувствительности у детей с расстройством аутистического спектра. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 60-67. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.10

Features of Food Hypersensitivity in Children with Autism Spectrum Disorder

Khudiakova M.I.¹, Cherevko N.A.¹, Skirnevskaya A.V.¹, Khudiakova M.I.¹, Rozenshtein M.Yu.²,
Rozenshtein A.Z.³, Kondakov S.E.³, Berezovskaya K.V.⁴

¹Siberian State Medical University (Moskovskiy Tract 2, 634055 Tomsk, Russian Federation); ²OOO ImmunoHealth Rus (Arkhitektora Vlasova str. 18, 117393 Moscow, Russian Federation); ³Lomonosov Moscow State University (Leninskie Gory str. 1, 119991 Moscow, Russian Federation); ⁴Medical Association OOO "Center of Family Medicine" (Trifonova str., 22, 634050 Tomsk, Russian Federation)

Corresponding author: Mariya I. Khudiakova, e-mail: khudiakovami@mail.ru

Abstract

Currently, the incidence of autism spectrum disorders (ASD) continues to increase in the children's population. However, the pathogenesis of autism remains controversial.

*The purpose of this work is to evaluate the performance of the elimination nutritional approaches to the dynamics of indicators of food hypersensitivity, the balance of interleukins and psychophysiological parameters in children with ASD. Methods. A prospective cohort study of children aged 7 ± 2 years, healthy and diagnosed with ASD was performed. Determination of specific immunoglobulin concentrations to 111 food antigens and interleukins was measured by ELISA. Psychophysiological indicators of communicative competence in children with ASD were evaluated in the ATEC-test. Results. It was established that in children with ASD (n = 69), the frequency of occurrence of food hypersensitivity and indicators of specific IgG concentrations to food antigens of dairy and grain products are higher (p < 0.05). A direct correlation was found between the concentration of INF γ , IgG concentrations to antigens of dairy, grain products and *C. albicans*. High ratios of the INF γ /IL4 and INF γ /IL10 ratios (p < 0.05) were revealed. As a result of compliance with the elimination diet was noted significant decrease in the concentration of IgG to food antigens, IgG to *C. albicans*, changes indicators following the results of ATEC testing. The data obtained revealed the unexplored effects the influence of specific food hypersensitivity on the process of initiation and maintenance of immune inflammation, as well as on the communicative competence in pathological conditions. A personalized elimination diet can improve the immunorehabilitation and the quality of life of children with autism.*

Key words: autism spectrum disorder, food hypersensitivity, personalized elimination diet, interleukins

For citation: Khudiakova M.I., Cherevko N.A., Skirnevskaia A.V., Khudiakova M.I., Rozenshtein M.Iu., Rozenshtein A.Z., Kondakov S.E., Berezovskaia K.V. Features of Food Hypersensitivity in Children with Autism Spectrum Disorder. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 60-67. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.10

ОБОСНОВАНИЕ

Согласно мировой статистике, в детской популяции продолжает нарастиать частота развития расстройств аутистического спектра (PAC) (68–100 случаев на 1000 рождённых) с преобладанием мальчиков над девочками (6–8 : 1) [1]. Несмотря на многочисленные исследования, посвящённые этой проблеме, патогенез аутизма по-прежнему остаётся спорным. В последние годы в ряде опубликованных статей были представлены исследования о роли пищевых антигенов (пАГ) в нарушении пищевой толерантности (ПТ) и развитии патологических процессов, являющихся причинами воспалительных ответов в центральной нервной системе и иммунных дисфункций в кишечнике у пациентов с психическими расстройствами, шизофренией и PAC, описана IgG-опосредованная гиперчувствительность к пАГ растительных белков злаковых продуктов и, в частности, глютена [2, 3].

Могут ли реакции на пАГ сопровождаться системными воспалительными процессами? За исключением признания роли системных аллергических IgE-опосредованных реакций на пАГ, до сих пор остаётся спорным вопрос участия IgG-опосредованных реакций в иммунной регуляции ПТ.

На наш взгляд, процессы регуляции толерантности к пАГ формируются после рождения в локальной среде пребывания человека и связаны с эпигенетическими влияниями средовых факторов. Наиболее важные среди них – изменение характеристик современных пищевых продуктов, незрелость иммунной системы (ИС) кишечника, индивидуальные особенности состояния биоплёнки, образованной микробиотой, муцином и секреторным иммуноглобулином A (sIgA). Важно понимать, что ПТ – исключительно динамический процесс, связанный со всеми периодами дисбалансов иммунной системы у человека, отражающий возрастные, гормональные, адаптационные, инфекционные, лекарственные влияния. При этом, иммунологический контроль любых АГ связан с их распознаванием толл-подобными рецепторами (TLR), расположенными на клетках врождённого иммунитета и эпителиоцитах кишечника и/или специфическими рецепторами (TCR, BCR) на Т- и В-лимфоцитах адаптивного иммунитета, и это зависит от количественных и качественных характеристик АГ, попадающих внутрь. В целом, проявление или отсутствие клинических реакций

на пищевые АГ обеспечиваются совокупностью факторов: генетикой ферментов пищеварения, генетикой цитокинов воспаления, функциональным состоянием микробных популяций кишечника и их влиянием на иммуноциты, экспрессией TLR2, TLR4, продукцией sIgA, IgG, TGF β , IL10, функциональной активностью дендритных клеток, Treg, Th17, Th1, Th2-лимфоцитов, концентрацией в кишечнике витаминов D и A [4, 5]. Процессы изменения количественных и качественных характеристик пАГ (продуктов) на любых этапах пищеварения способны нарушить процесс распознавания АГ на уровне рецепторов иммунокомпетентных клеток и активность процессов трансцитоза пАГ в зоны изолированных лимфоидных фолликулов под эпителием кишечника. Гуморальные механизмы ответного синтеза специфических IgG к пАГ являются универсальными защитными механизмами, направленными на нейтрализацию и элиминацию причинных АГ, контроль их проникновения в кровеносное русло и ткани. При этом именно количественные показатели специфических IgG (sIgG) являются важным диагностическим критерием, так как позволяют диагностировать присутствие и выраженность гиперчувствительности к конкретному пАГ. Значение концентраций свободных sIgG является, по сути, количественной мерой контроля за АГ нагрузкой в существующих динамических условиях состояния ЖКТ и ИС. Специфические субпопуляции IgG (G1, G2, G3, G4) являются доступным критерием оценки фенотипов иммунных ответов, так как связаны с разным интерлейкин-зависимым стартом и критериями манифестионного или транзиторного нарушения ПТ. Эффекторные реакции с участием sIgG в отношении пАГ включают: формирование циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), активацию процессов фагоцитоза, антителозависимую цитотоксичность, появление сенсибилизованных лимфоцитов, активацию ретикулоэндотелиальной системы для элиминации ЦИК. Эффекторные реакции на пАГ запускаются по любому из перечисленных путей [6, 7, 8]. Снижение антигенной нагрузки при условии отмены (элиминации) поступления специфических пищевых АГ должно приводить к динамическим изменениям концентраций специфических IgG и активности эффекторных гуморальных реакций. Принимая во внимание известные данные по периоду полураспада и кatabолизма IgG, клинико-иммунологические изменения должны фиксироваться к первому месяцу в условиях элиминации

и стабильно диагностироваться в периоды, начиная с 3 до 6 месяцев.

ЦЕЛЬ

Оценить влияние элиминационных диетологических подходов на динамику показателей пищевой гиперчувствительности, баланс цитокинов и психофизиологические параметры у детей с расстройствами аутистического спектра, проживающими в г. Томске.

МЕТОДЫ

На базе поликлинического отделения ООО «Центр семейной медицины» было проведено проспективное когортное исследование 89 детей, проживающих в г. Томске, разделённых на две группы. Основная группа – 69 детей с диагностированными РАС различной степени тяжести. Группа сравнения была представлена 20 соматически здоровыми детьми. Средний возраст детей составил 7 ± 2 года.

Критерием включения в основную группу служило наличие диагностированного РАС. Критериями исключения были наличие инфекционных процессов, острых и хронических заболеваний в стадии обострения и мотивированные отказы от соблюдения диеты.

Критерии включения в группу сравнения: 1) нормальное физическое и психическое развитие; 2) отсутствие избытка или дефицита массы тела (ИМТ в пределах возрастной нормы); 3) отсутствие клинических признаков аллергии, иммунодефицитов, аутоиммунных состояний, дисфункции ЖКТ. Критерием исключения было наличие острых инфекционных процессов и хронических процессов в стадии обострения. Критерии подбора в группу сравнения обусловлены гипотезой иммунопатологического патогенеза РАС, связи нарушения ПТ и развития системного воспаления. Соответствие перечисленным критериям косвенно указывает на особое внимание на анамнез заболеваний или функциональных особенностей желудочно-кишечного тракта, начиная с младенческого возраста.

От родителей детей было получено информированное согласие на проведение комплексных исследований и обработку персональных данных. В качестве исследуемого материала использовалась кровь, взятая из подкожных вен области локтевого сгиба. Исследуемые параметры: концентрация IgG к пищевым антигенам, IL4, IL6, IL10, IFN γ , IgG и IgA к *C. albicans*. На основании полученных результатов анализов детям с РАС назначалась элиминационная диета с исключением причинных пАГ. Продолжительность соблюдения диеты составила 6 месяцев. Ежемесячно проводились консультация врача и оценка приверженности диете. По истечении 6 месяцев повторно производили забор крови и анализ исследуемых показателей.

Для оценки изменений выраженности проявлений РАС в основной группе родители на основании собственных наблюдений дважды заполняли специальную анкету – ATEC (Autism Treatment Evaluation Scale) – в начале исследования и через 6 месяцев. Тест ATEC позволяет оценить физический и психический статус по следующим четырём критериям: речевая функция и коммуникативность, способность к социальному взаимодействию, сенсорные и когнитивные способности, поведенческие паттерны. В каждом блоке вопросов определялись

баллы, которые суммировались следующим образом: 0–30 баллов – соответствие отсутствию расстройств, 31–40 баллов – соответствие лёгкой степени аутизма, 41–60 баллов – средней степени аутизма, 61–178 – тяжёлой степени аутизма. Данный тест не является диагностическим, а позволяет оценить динамику заболевания и эффективность проводимого лечения.

Результаты теста детей в группе сравнения составили 0–10 баллов.

Оценка специфической IgG-зависимой гиперчувствительности к 111 пАГ, объединённых по сходным антигенным структурам в 8 кластеров, проводилась с использованием многокомпонентного ИФА по методике Immunohealth™. Методика позволяет определить индивидуальный критерий «норма – аномалия» [9] и сформировать принципы персонифицированной элиминационной диеты с выведением из рациона пАГ, которые вызывают в физической модели аномальные отклики (концентрация IgG к данному пАГ выше показателя индивидуальной реакции, соответствующей ответу «норма»).

Оценка концентрации цитокинов в сыворотке крови (IL4, IL6, IL10, IFN γ) была произведена с применением наборов реагентов фирмы Вектор-Бест (Россия).

Статистический анализ

Анализ результатов исследования выполнен с использованием статистической программы IBM SPSS Statistics 23.0.0.0 (США). Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению, для этого использовался критерий Шапиро – Уилка (при $n < 50$) или критерий Колмогорова – Смирнова (при $n > 50$). При описании нормально распределённого количественного признака использовали среднее значение (M), стандартное отклонение (σ) или стандартную ошибку (m), 95% доверительный интервал (95% ДИ). При описании количественного признака, распределение которого отличалось от нормального, использовали медиану, значения нижнего и верхнего квартилей (равнозначно 25% и 75% перцентилям). При описании качественного признака указывали абсолютную величину для каждого значения, а также процентную долю в структуре всей совокупности. Анализ выявленных отклонений между независимыми данными проводили с использованием t-критерия Стьюдента для несвязанных совокупностей в случаях нормального распределения и U-критерия Манна – Уитни при отсутствии признаков нормального распределения. Для проверки различий между двумя сравниваемыми парными выборками при нормальном распределении использовался парный t-критерий Стьюдента, при отличном от нормального – W-критерий Уилкоксона. Качественные данные оценивали с использованием критерия Фишера и, при необходимости, критерия χ^2 Пирсона с поправкой на непрерывность Йейтса. Оценка риска (Odds Ratio) произведена по методу Д. Альтмана. Корреляционный анализ проводили с использованием критерия Спирмена. Значения коэффициента корреляции ρ интерпретировались также в соответствии со шкалой Чеддока. Различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По итогам проведённых исследований было установлено, что у детей с РАС значительно чаще выявляется IgG-опосредованная гиперчувствительность к антигенам

продуктов молочного происхождения, а именно в 60 из 69 случаев (86 %), в группе сравнения – 50 %. Различия показателей оценены с использованием критерия Фишера и статистически значимы ($p \leq 0,05$). В количественном выражении медиана уровня суммарного sIgG к молочным продуктам составила 1630,5 МЕ с интерквартильным размахом (ИКР) от 1058 до 2429 МЕ в группе с РАС до диеты и 1016 МЕ – через 6 месяцев (ИКР 647 до 1939 МЕ, критерий Уилкоксона $W = -3,674, p < 0,001$). Подробные данные об уровнях групп и частных sIgG представлены в таблице 1.

В группе детей с РАС значения изучаемого цитокинового профиля получены отличные от таковых в группе сравнения. В основной группе выявлено снижение концентраций IL4 – $15,2 \pm 1,4$ пг/мл против $16,4 \pm 1,6$ пг/мл в группе сравнения ($p < 0,005$), IL6 – $17,1 \pm 1,3$ пг/мл, и $19,7 \pm 6,3$ пг/мл соответственно ($p < 0,05$). Повышение соотношения коэффициентов IFN γ /IL4 – 0,97 (ИКР 0,87–1,07) в группе с РАС относительно 0,83 (ИКР 0,73–0,94) в группе сравнения, схожим образом повышен соотношение IFN γ /IL10 – 0,81 (ИКР 0,072–0,95) и 0,75 (ИКР 0,65–0,9). Изменения коэффициентов статистически значимы (критерий Манна – Уитни $U = 135, p = 0,001$ для IFN γ /IL4; $U = 200,5, p = 0,025$ – для IFN γ /IL10).

Обнаружена положительная взаимосвязь между концентрацией sIgG к антигенам грибов рода *C. albicans* (коэффициент корреляции Спирмена $\rho = 0,470, p = 0,032$) и продуктами молочного ($\rho = 0,399, p = 0,034$), зернового кластера ($\rho = 0,379, p = 0,044$), концентрацией IFN γ в сыворотке крови у детей с РАС.

При анализе было выявлено, что у детей с РАС множественная гиперчувствительность к пАГ зерновых встречается чаще по отношению к группе сравнения. У 45 из 69 или 65 % детей с РАС были отмечены одновременно повышенные значения sIgG к антигенным структурам трёх и более зерновых продуктов. В контрольной группе подобное явление наблюдалось в 4 из 20 случаев и составило 20 %.

Частота встречаемости диагностической гиперчувствительности в группе детей с РАС к антигенам пшеницы составила 77 %, глютена – 49 %, ржи – 48 %, перловой крупы – 48 % и овса – 44 %. Сенсибилизация кенным антигенам у детей с РАС фиксировалась значительно чаще, чем у детей группы сравнения, полученные данные значимы (во всех случаях $p < 0,05$).

При изучении особенностей гиперчувствительности к антигенам продуктов молочного происхождения у детей с РАС диагностирована сенсибилизация к следую-

Таблица 1
Описательные характеристики показателей sIgG у детей с РАС до и после элиминационной диеты и группы сравнения
Table 1
Descriptive characteristics of sIgG in children with ASD before and after elimination diet and in the comparison group

Показатель		Медиана	1 квартиль	3 квартиль	Стат. критерий
Сумма sIgG, МЕ	До	5495,5	4375	7104,7	$U = 480, p = 0,001^*$ $W = -3,505, p < 0,001^{**}$
	После	4591	3695	6085	
	Контроль	3689	2991,5	5617,7	
Сумма sIgG к АГ молочных продуктов, МЕ	До	1630,5	1058	2429	$U = 588, p = 0,006^*$ $W = -3,674, p < 0,001^{**}$
	После	1116	647,8	1939,8	
	Контроль	724	275,5	1868,5	
S IgG к АГ казеина, МЕ	До	177,7	128,4	328	$U = 193, p < 0,001^*$
	После	138	119,3	286,3	
	Контроль	146	153	281,8	
S IgG к АГ коровьего молока, МЕ	До	192,7	130,4	310,8	$U = 487, p = 0,008^*$
	После	197,5	138,5	322	
	Контроль	207	136,5	326	
S IgG к АГ сливочного масла, МЕ	До	225	158,3	327,5	$U = 302, p < 0,001^*$ $W = -2,485, p = 0,013^{**}$
	После	160,5	130	323	
	Контроль	168	127,3	359,5	
Сумма sIgG к АГ зерновых продуктов, МЕ	До	534	264,3	1027,5	$U = 665, p = 0,013^*$ $W = -3,431, p = 0,001^{**}$
	После	283	129,5	627	
	Контроль	304	165	566	
S IgG к АГ глютена, МЕ	До	220	131,8	294,8	$U = 665, p = 0,013^*$ $W = -2,134, p = 0,033^{**}$
	После	154	108,8	185,8	
	Контроль	174	148,5	228,8	
Сумма sIgG к АГ продуктов бобового кластера, МЕ	До	308	158	455	$U = 560, p = 0,003^*$ $W = -5,733, p < 0,001^{**}$
	После	226	185	320	
	Контроль	343,5	264	426	

Примечание. * – сравнение группы детей с РАС до диеты с контрольной группой; ** – сравнение группы детей с РАС до и после диеты.

щему ряду антигенов: сливочного масла – 71 % (49 из 69), в контрольной группе – 40 % (8 из 20) ($p < 0,05$); творога – 71 % (49 из 69), контроль – 30 % (6 из 20) ($p = 0,003$); цельного коровьего молока – 81 % (56 из 69), контроль – у 11 из 20 или 55 % (критерий Фишера $F = 0,035$, $p < 0,005$); казеина – 68 % (47 из 69), контроль – 25 % (5 из 20) ($p < 0,001$).

Выявлены положительная взаимосвязь между суммарной концентрацией IgG к антигенам молочных продуктов и количеством баллов ATEC (коэффициент корреляции Спирмена $\rho = 0,447$, $p < 0,001$) и взаимосвязь суммарного IgG к продуктам, относящимся к семейству бобовых ($\rho = 0,289$, $p = 0,044$).

Анкетирование ATEC показало, что дети с РАС с наиболее высокими баллами (более 100), отражающими тяжесть клинических проявлений, имели сенсибилизацию одновременно к пищевым антигенам пяти и более продуктов зернового кластера и к пяти и более продуктам молочного кластера, что встречалось в 79 % случаев.

По итогам первого этапа полученных результатов тестирования все дети получили рекомендации персонализированного питания с элиминацией причинных пАГ на 6 месяцев с посещениями врача с целью изменения тактики пищевого рациона.

Повторное исследование IgG-опосредованной гиперчувствительности к пАГ и оценка динамики заболевания с использованием теста ATEC проводились по окончанию элиминационной диеты для каждого ребёнка. Соблюдение персонализированной элиминационной диеты привело, по оценкам родителей, к улучшению клинических показаний соматического здоровья: купированию жалоб со стороны желудочно-кишечного тракта, расширению пищевого рациона, восстановлению регулярности стула, снижению частоты простудных заболеваний, реабилитации состояния кожных покровов (снижение сухости и высыпаний на коже), частоты обострений ринитов, повышению способностей к обучению, изменениям в общении с родителями и сверстниками. Значения тестов ATEC в начале исследования составляли от 31 до 145 баллов, среднее значение – $76,8 \pm 3,2$ (95% ДИ 47,5–68,4), что соответствует тяжёлой степени тяжести. После соблюдения элиминационной диеты значения составляли от 27 до 124 баллов, среднее значение – $57,9 \pm 5$ (95% ДИ 47,5–68,4), что соответствует средней степени аутизма, данные изменения статистически значимы ($p < 0,001$). Распределение детей по степеням тяжести до и после элиминационной диеты представлено в таблице 2.

Таблица 2
Распределение детей с РАС по степеням тяжести, согласно результатам теста ATEC до и после элиминационной диеты

Table 2

Distribution of children with ASD by degrees of severity, according to the results of the ATEC test before and after the elimination diet

Степень тяжести РАС	До диеты (n = 69)	После диеты (n = 67)
Здоров (0–30)	0	9 (13,4 %)
Лёгкая степень (31–40)	5 (7 %)	13 (19,4 %)
Средняя степень (41–60)	14 (20 %)	12 (18 %)
Тяжёлая степень (61–178)	50 (73 %)	33 (49,2 %)

Индивидуальное снижение количества баллов для каждого ребёнка составило от 4 до 69, среднее значение – $31 \pm 3,7$ (95% ДИ 23,6–38,6), $p = 0,001$.

Клинические улучшения совпали со статистически значимым снижением суммарной концентрации специфических иммуноглобулинов. До диеты медиана суммарного IgG составляла 5495,5 МЕ (ИКР 4375–7104,8), после диеты – 4591 (ИКР 3695–6085); в контрольной группе ранее – 3689 МЕ (ИКР 2991,5–5617,7). Разница между результатами «до» и «после», а также между группами статистически достоверна ($W = -3,505$, $p < 0,001$, $U = 480$, $p = 0,001$). Более показательно снижение индивидуального уровня IgG, выраженное в процентах. Диапазон изменений составляет от –22 % до 203 %. В среднем суммарный IgG снизился на 40,6 % (95% ДИ 21,3–60 %), $p = 0,001$.

Была выделена группа из 20 детей с РАС, мамы которых строго контролировали соблюдение принципов элиминационной диеты. В данной группе по прошествии 6 месяцев средний балл теста ATEC составил $35 \pm 3,4$ (95% ДИ 28,7–46,3) балла, что соответствовало лёгкой степени аутизма. Индивидуальное снижение количества баллов для каждого ребёнка в данной группе составляло от 6 до 69, среднее значение – $41,3 \pm 4,5$ (95% ДИ 31,7–50,9), $p < 0,001$.

Статистически значимо уменьшилась концентрация IgG к АГ *C. albicans* – с 425,5 МЕ (ИКР 282,5–568,5) до 278 МЕ (ИКР 199–515,5) мг/мл ($W = -3,481$, $p = 0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В исследовании у детей с РАС нами чаще диагностировалась IgG-опосредованная гиперчувствительность к пищевым антигенам группы продуктов молочного происхождения, группы зерновых продуктов, а также фасоли, винограда, тростникового сахара. По данным литературы, у детей с РАС чаще встречается гиперчувствительность к продуктам, содержащим глютен и казеин [2, 4, 7]. В нашем исследовании гиперчувствительность к казеину составила 68 %, а к глютену – 49 %.

У 84 % (58 из 69) детей с РАС выявлена гиперчувствительность к АГ бродильных продуктов, таких как дрожжи, сахар, солод, виноград. Это может благоприятствовать росту гриба рода *C. albicans* в кишечнике. Благодаря схожим АГ детерминантам гриба *C. albicans* и глютена, за счёт перекрёстной реакции к рецептору тканевой трансглутаминазы может повышаться иммунная агрессия на белки злаковых продуктов, провоцируя симптомы, сходные с целиакией: нарушение функции щитовидной железы, аллергии, дерматиты, кишечные синдромы и т. д. [4, 10]. В результате, вероятно формирование вторичной энтеропатии с нарушением переваривания злаковых продуктов, фруктов и овощей, усиление бродильных процессов в толстом кишечнике и нарушение расщепления клетчатки. Данный факт является благоприятным условием для дальнейшего роста гриба *C. albicans*, который через TLR2-рецепторы способен стимулировать синтез IFN γ – основного провоспалительного цитокина, который, в свою очередь, опосредует процессы повышения проницаемости стенок кишечника, трансцитоза АГ и активацию адаптивного иммунитета.

Полученные результаты показывают, что у детей с РАС концентрация IFN γ выше, а IL4 – ниже, чем у здоровых детей, что указывает на дисбаланс цитокинов и, вероятно, превалирование Th1-пути иммунного ответа с участием провоспалительного цитокина IFN γ . Имеются

факты, что провоспалительные цитокины оказывают негативное влияние на когнитивное поведение, а IL4, на-оборот, положительно влияет на когнитивные функции [11, 12, 13]. Причём введённое нами соотношение IFNy/IL4 и IFNy/IL10 отражает дисбаланс провоспалительных цитокинов над противовоспалительными. Полученные данные подтверждают наличие корреляций между лабораторными показателями и отдельными видами продуктов (злаковые, молочные, бобовые) и их вклад в развитие симптомов, связанных с характеристиками основных психофизиологических показателей у детей с РАС (показатели теста АТЕС). Согласно имеющимся исследованиям, у 80 % детей с РАС повышена концентрация аутоантител к основному белку миелина в сыворотке крови. Это может явиться причиной нарушения процессов миелинизации нервных волокон, но при этом эти АТ не приводят к развитию рассеянного склероза. Аутоиммунная реакция на этот белок может быть запущена перекрёстными антигенами, такими как глиадин, казеин, соя [14], рядом инфекционных агентов и тяжёлыми металлами [15] и приводить к образованию ЦИК и аутоантител, способных проходить через ГЭБ и вызывать демиелинизацию [14].

Выявлена положительная взаимосвязь между динамикой изменения суммарной концентрации IgG к антигенам молочных продуктов и количеством баллов АТЕС. После соблюдения персонифицированных элиминационных диет у детей с РАС отмечалось существенное снижение концентрации IgG к антигенам молочных продуктов, совпадающее со снижением баллов теста АТЕС.

Ограничения метода: зависимость эффективности методики от приверженности диете. Вопрос соблюдения персонифицированной диеты в течение продолжительного промежутка времени ложится на плечи родителей и ближайшего окружения ребёнка. Комплаенс между врачом и представителями ребёнка, дисциплинированность и волевые качества родителей являются немаловажным фактором в эффективности лечения. Данная проблема выходит на первый план в случаях РАС, сопровождающихся нарушениями пищевого поведения, особенно, склонностью к однообразию. В дизайне исследования отсутствовала группа детей с РАС, которые не придерживались элиминационной диеты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведённого комплексного иммунологического, клинического и психологического исследований получены данные, позволяющие оценить индивидуальные особенности иммунных реакций пациентов с РАС на пищевые антигены к 111 продуктам, связанные с показателями IgG-опосредованной специфической гиперчувствительности и влиянием на высшую нервную деятельность.

Результаты данной работы подтверждают взаимосвязь между потребляемыми пищевыми АГ, изменениями в цитокиновом профиле и изменениями психоэмоционального статуса детей, оценённого в баллах с помощью теста АТЕС. У детей с РАС чаще наблюдается IgG-зависимая сенсибилизация к пАГ молочных и зерновых продуктов, титры специфических иммуноглобулинов к пАГ данных

пищевых кластеров коррелируют с количеством баллов, полученных при тестировании анкетой АТЕС.

Установленные особенности пищевой гиперчувствительности у детей с РАС имеют корреляционную связь с повышением сывороточной концентраций IFNy и снижением концентраций IL4.

У детей с РАС по сравнению с группой здоровых детей выявлены статистически значимые повышения соотношений IFNy/IL4 и IFNy/IL10.

Выявлено, что диагностированная дрожжевая сенсибилизация к *C. albicans* оказывает негативное влияние на процессы специфической гиперреактивности к пищевым АГ, увеличивая спектр пАГ.

Соблюдение детьми с РАС рекомендованной персонифицированной элиминационной диеты в течение 6 месяцев приводит к улучшению показателей по всем разделам теста АТЕС.

Полученные данные позволяют дополнить имеющиеся представления о роли иммунной системы кишечника в патогенезе РАС, выявить изменения клинико-лабораторных данных, ассоциированных с нарушением пищевой толерантности к АГ пищевых белков различных продуктовых кластеров, а также оценить эффективность персонифицированной элиминационной диеты в терапии пациентов с РАС.

Результаты данного исследования представляют теоретический и практический интерес, поскольку дополняют имеющиеся представления о взаимосвязи специфической пищевой гиперчувствительности с процессами инициации и поддержания иммунного воспаления, с психофизиологическим статусом у детей с РАС. Персонифицированная элиминационная диета позволяет повысить возможности иммунореабилитации, коммуникативной компетентности и улучшить качество жизни детей с аутизмом.

Финансирование

Работа выполнена за счёт средств ООО «Центр семейной медицины» (Томск), благотворительного фонда «Созидание» (Москва), с участием АРДА «АУРА» (Томск).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Christensen DL, Baio J, Braun KV, Bilder D, Charles J, Constantino JN, et al. Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years – Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network. *Surveillance Summaries*. 2016; 65(3): 1-23. doi: 10.15585/mmwr.ss6503a1
2. de Magistris L, Picardi A, Siniscalco D, Riccio MP, Sapone A, Cariello R, et al. Antibodies against food antigens in patients with autistic spectrum disorders. *Biomed Res Int*. 2013; 2013: 729349. doi: 10.1155/2013/729349
3. Goines P, Van de Water J. The immune system's role in the biology of autism. *Curr Opin Neurol*. 2010; 23(2): 111-117. doi: 10.1097/WCO.0b013e3283373514
4. Brown AJP, Brown GD, Netea MG, Gow NA. Metabolism impacts upon *Candida* immunogenicity and pathogenicity at multiple levels. *Trends Microbiol*. 2014; 22(11): 614-622. doi: 10.1016/j.tim.2014.07.001
5. Goines PE, Ashwood P. Cytokine dysregulation in autism spectrum disorders (ASD): possible role of the environment. *Neurotoxicol Teratol*. 2013; 36: 67-81. doi: 10.1016/j.ntt.2012.07.006

6. Нетребко О.К. Аллергия или пищевая толерантность: два пути развития иммунной системы. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского*. 2010; 89(1): 122-128.
7. Carabotti M, Scirocco A, Maselli MA, Severi C. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann Gastroenterol*. 2015; 28(2): 203-209.
8. Sudo N. Role of microbiome in regulating the HPA axis and its relevance to allergy. *Chem Immunol Allergy*. 2012; 98: 163-175. doi: 10.1159/000336510
9. Розенштейн А.З., Розенштейн М.Ю., Кондаков С.Э., Черевко Н.А. Диагностика пищевой гиперчувствительности, опосредованной иммунопатологическими реакциями III типа. *Российский иммунологический журнал*. 2015; 9(18): 150-152.
10. Corouge M, Lordinat S, Fradin C, Salleron J, Damiens S, Moragues MD, et al. Humoral immunity links *Candida albicans* infection and celiac disease. *PLoS One*. 2015; 10(3): e0121776. doi: 10.1371/journal.pone.0121776
11. Walter J, Honsek SD, Illes S, Wollen JM, Hartung HP, Rose CR, et al. A new role for interferon gamma in neural stem/precursor cell dysregulation. *Mol Neurodegener*. 2011; 6: 18. doi: 10.1186/1750-1326-6-18
12. Ye L, Huang Y, Zhao L, Li Y, Sun L, Zhou Y, et al. IL-1 β and TNF- α induce neurotoxicity through glutamate production: a potential role for neuronal glutaminase. *J Neurochem*. 2013; 125(6): 897-908. doi: 10.1111/jnc.12263
13. You Z, Luo C, Zhang W, Chen Y, He J, Zhao Q, et al. Pro- and anti-inflammatory cytokines expression in rat's brain and spleen exposed to chronic mild stress: involvement in depression. *Behav Brain Res*. 2011; 225 (1): 135-141. doi: 10.1016/j.bbr.2011.07.006
14. Lionetti E, Leonardi S, Franzonello C, Mancardi M, Ruggieri M, Catassi C. Gluten psychosis: confirmation of a new clinical entity. *Nutrients*. 2015; 7(7): 5532-5539. doi: 10.3390/nu7075235
15. Лисицын А.Б., Чернуха И.М., Лунина О.И. Пищевая гиперчувствительность и продукты из сырья животного происхождения. *Теория и практика переработки мяса*. 2017; 2(2): 23-36. doi: 10.21323/2414-438X-2017-2-2-23-36

REFERENCES

- Christensen DL, Baio J, Braun KV, Bilder D, Charles J, Constantino JN, et al. Prevalence and characteristics of autism spectrum disorder among children aged 8 years – Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network. *Surveillance Summaries*. 2016; 65(3): 1-23. doi: 10.15585/mmwr.ss6503a1
- de Magistris L, Picardi A, Siniscalco D, Riccio MP, Sapone A, Cariello R, et al. Antibodies against food antigens in patients with autistic spectrum disorders. *Biomed Res Int*. 2013; 2013: 729349. doi: 10.1155/2013/729349
- Goines P, Van de Water J. The immune system's role in the biology of autism. *Curr Opin Neurol*. 2010; 23(2): 111-117. doi: 10.1097/WCO.0b013e3283373514
- Brown AJP, Brown GD, Netea MG, Gow NA. Metabolism impacts upon *Candida* immunogenicity and pathogenicity at multiple levels. *Trends Microbiol*. 2014; 22(11): 614-622. doi: 10.1016/j.tim.2014.07.001
- Goines PE, Ashwood P. Cytokine dysregulation in autism spectrum disorders (ASD): possible role of the environment. *Neurotoxicol Teratol*. 2013; 36: 67-81. doi: 10.1016/j.ntt.2012.07.006
- Netrebko OK. Allergy or food tolerance: two ways to develop the immune system. *Pediatria. Journal named after G.N. Speransky*. 2010; 89(1): 122-128. (In Russ.)
- Carabotti M, Scirocco A, Maselli MA, Severi C. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Ann Gastroenterol*. 2015; 28(2): 203-209.
- Sudo N. Role of microbiome in regulating the HPA axis and its relevance to allergy. *Chem Immunol Allergy*. 2012; 98: 163-175. doi: 10.1159/000336510
- Rozenshteyn AZ, Rozenshteyn MY, Kondakov SE, Cherevko NA. Diagnostics of food hypersensitivity mediated by immunopathological reactions of type III. *Russian Journal of Immunology*. 2015; 9(18): 150-152. (In Russ.)
- Corouge M, Lordinat S, Fradin C, Salleron J, Damiens S, Moragues MD, et al. Humoral immunity links *Candida albicans* infection and celiac disease. *PLoS One*. 2015; 10(3): e0121776. doi: 10.1371/journal.pone.0121776
- Walter J, Honsek SD, Illes S, Wollen JM, Hartung HP, Rose CR, et al. A new role for interferon gamma in neural stem/precursor cell dysregulation. *Mol Neurodegener*. 2011; 6: 18. doi: 10.1186/1750-1326-6-18
- Ye L, Huang Y, Zhao L, Li Y, Sun L, Zhou Y, et al. IL-1 β and TNF- α induce neurotoxicity through glutamate production: a potential role for neuronal glutaminase. *J Neurochem*. 2013; 125(6): 897-908. doi: 10.1111/jnc.12263
- You Z, Luo C, Zhang W, Chen Y, He J, Zhao Q, et al. Pro- and anti-inflammatory cytokines expression in rat's brain and spleen exposed to chronic mild stress: involvement in depression. *Behav Brain Res*. 2011; 225 (1): 135-141. doi: 10.1016/j.bbr.2011.07.006
- Lionetti E, Leonardi S, Franzonello C, Mancardi M, Ruggieri M, Catassi C. Gluten psychosis: confirmation of a new clinical entity. *Nutrients*. 2015; 7(7): 5532-5539. doi: 10.3390/nu7075235
- Lisitsyn AB, Chernukha IM, Lunina Ol. Food hypersensitivity and products made of raw materials of animal origin. *Theory and practice of meat processing*. 2017; 2(2): 23-36. (In Russ.) doi: 10.21323/2414-438X-2017-2-2-23-36

Сведения об авторах:

Худякова Мария Ивановна – ординатор кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: khudiakovami@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6320-5017>

Черевко Наталья Анатольевна – доктор медицинских наук, доцент кафедры аллергологии и иммунологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: chna@0370.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1023-4137>

Скирневская Александра Владимировна – аспирант кафедры патофизиологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: skirnevskaia.a@gmail.com

Кондаков Сергей Эмильевич – доктор химических наук, доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», e-mail: ksekse@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5667-8262>

Розенштейн Марина Юзефовна – кандидат медицинских наук, нутрициолог, ООО «Иммунохелс Рус», e-mail: marina.rozenshteyn@gmail.com

Розенштейн Аркадий Зильманович – доктор физико-математических наук, ООО «Иммунохелс Рус», e-mail: arkrozen@gmail.com

Березовская Ксения Валерьевна – врач общей врачебной практики, врач-педиатр, Медицинское объединение ООО «Центр семейной медицины», e-mail: bkv@0370.ru

Information about the authors:

Mariya I. Khudiakova – Attending Physician at the Department of Biochemistry and Molecular Biology, Siberian State Medical University, e-mail: khudiakovami@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6320-5017>

Natal'ya A. Cherevko – Dr. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Allergology and Immunology, Siberian State Medical University, e-mail: chna@0370.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1023-4137>

Aleksandra V. Skirnevskaya – Postgraduate at the Department of Pathophysiology, Siberian State Medical University, e-mail: skirnevskaia.a@gmail.com

Sergej E. Kondakov – Dr. Sc. (Chem., Biol.), Professor, Lomonosov Moscow State University, e-mail: kseks@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5667-8262>

Marina J. Rosenstein – Cand. Sc. (Med.), Nutrition Scientist, ImmunoHealth-RUS, e-mail: marina.rozenshteyn@gmail.com

Arkadij Z. Rosenstein – Dr. Sc. (Physics and Math.), ImmunoHealth-RUS, e-mail: arkrozen@gmail.com

Kseniya V. Berezovskaya – General Practitioner, OOO "Center of Family Medicine", e-mail: bkv@0370.ru

Вклад авторов

Худякова М.И. – анализ полученных данных, статистическая обработка результатов, написание статьи

Черевко Н.А. – проектирование, анализ полученных данных работы, набор материала, консультация пациентов, написание статьи

Скирневская А.В. – набор материала, оформление полученных первичных данных, написание статьи

Розенштейн М.Ю. – анализ полученных лабораторных данных для положений в написании статьи

Розенштейн А.З. – контроль и выполнения лабораторных исследований оценки ПГЧ, коррекция статьи

Кондаков С.Э. – исполнение исследования пищевой гиперчувствительности, обсуждение полученных данных, коррекция статьи

Березовская К.В. – консультация пациентов, клинический контроль

Статья получена: 30.10.2018. Статья принята: 21.08.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 30.10.2018. Accepted: 21.08.2019. Published: 26.10.2019.

ПСИХОЛОГИЯ И ПСИХИАТРИЯ PSYCHOLOGY AND PSYCHIATRY

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.5.11

Уровень стрессового напряжения у школьников с нарушением носового дыхания и коморбидными расстройствами

Эверт Л.С.¹, Игнатова И.А.¹, Зайцева О.И.¹, Шилов С.Н.², Лисова Н.А.²

¹НИИ медицинских проблем Севера – обособленное подразделение «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3г, Россия); ²ФГБОУ ВО «Красноярский государственный педагогический университет им. В.П. Астафьева» (660049, г. Красноярск, ул. Ады Лебедевой, 89, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Лисова Надежда Александровна, e-mail: nadia.krs@yandex.ru

Резюме

Обоснование. Прогрессивное увеличение в последние годы числа школьников с нарушением адаптации и низким уровнем здоровья определяет необходимость оценки особенностей психосоматического статуса у детей и подростков с различными видами соматической патологии, в том числе при заболеваниях ЛОР-органов, сопровождающихся нарушением носового дыхания и гипоксией. Также необходимо определение у детей степени выраженности стрессового напряжения, для своевременной профилактики и коррекции данных нарушений.

Цель: оценка уровня стрессового напряжения у школьников с нарушением носового дыхания на фоне заболеваний ЛОР-органов и сопутствующими психосоматическими расстройствами.

Методы. Обследован 481 школьник 12–17 лет (мальчики и девочки). Нарушение носового дыхания оценивалось с помощью комплексного ЛОР-обследования, включающего риноскопию, рентгенографию пазух носа, ольфактометрию. Наличие и степень выраженности стрессового напряжения определялись по отроснику «Социальные факторы и стресс».

Результаты. Показано, что высокий уровень стрессового напряжения у детей с нарушением носового дыхания на фоне ЛОР-патологии в большей степени ассоциируется с высокой частотой и степенью выраженности психосоматических симптомов: наличием дорсалгии, астенического синдрома, хронической головной болью и частыми эпизодами абдоминальных болей. Умеренно и значительно повышенный уровень стрессового напряжения сопряжён с наличием у детей артериальной гипертензии, астенического синдрома, частых болей в животе, частых болей в ШОП, паническими расстройствами.

Заключение. Таким образом, наличие определённых психосоматических жалоб у детей с нарушением носового дыхания напрямую связано с уровнем стрессового напряжения, что важно учитывать при планировании профилактических и коррекционных мероприятий, направленных на повышение адаптационных возможностей и стрессоустойчивости детей. Проведённые исследования иллюстрируют необходимость оценки психосоматического статуса и уровня стрессового напряжения у школьников с нарушением носового дыхания на фоне ЛОР-патологии с учётом имеющихся у них коморбидных расстройств психосоматического спектра.

Ключевые слова: носовое дыхание, заболевания ЛОР-органов, стрессовое напряжение, психосоматические расстройства

Для цитирования: Эверт Л.С., Игнатова И.А., Зайцева О.И., Шилов С.Н., Лисова Н.А. Уровень стрессового напряжения у школьников с нарушением носового дыхания и коморбидными расстройствами. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 68-72. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.11

Level of Stress in Students with the Disturbance of Nasal Breathing and Comorbid Disorders

Evert L.S.¹, Ignatova I.A.¹, Zaitseva O.I.¹, Shilov S.N.², Lisova N.A.²

¹ Research Institute of Medical Problems of the North – Separate Division of Federal Research Center “Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences” (Partizana Zheleznyaka str. 3g, 660022 Krasnoyarsk, Russian Federation); ² Krasnoyarsk State Pedagogical University named after V.P. Astafiev (Lebedevoy str. 89, 660049 Krasnoyarsk, Russian Federation)

Corresponding author: Nadezhda A. Lisova, e-mail: nadia.krs@yandex.ru

Abstract

Background. The progressive increase of the number of schoolchildren with adaptation disorders and low level of health in recent years determines the need to assess the characteristics of the psychosomatic status in children and

adolescents with various types of somatic pathology, including diseases of ENT organs, accompanied by nasal breathing disorders and hypoxia. It is also necessary to determine the severity of stress in children, for timely prevention and correction of these disorders.

Aim: to assess the level of stress in schoolchildren with nasal breathing disorders against the background of nasal diseases and concomitant psychosomatic disorders.

Materials and methods. 481 schoolchildren aged 12–17 (boys and girls) were examined. Nasal breathing disorders were assessed by a comprehensive ENT examination, including rhinoscopy, radiography of the sinuses, and olfactometry. The presence and severity of stress were determined by the questionnaire "Social factors and stress".

Results. We found that the high level of stress in children with nasal breathing disorders on the background of ENT pathology is more often associated with the high frequency and severity of psychosomatic symptoms: the presence of dorsalgia, asthenic syndrome, chronic headache and frequent episodes of abdominal pain. Moderately and significantly increased levels of stress associated with the presence of children with hypertension, asthenic syndrome, frequent abdominal pain, frequent pain in the cervical spine, panic disorders.

Conclusions. Thus, the presence of certain psychosomatic complaints in children with nasal breathing disorders is directly related to the level of stress, which is important to take into account when planning preventive and corrective measures aimed at increasing the adaptive capacity and stress resistance of children. The studies illustrate the need to assess the psychosomatic status and the level of stress in schoolchildren with nasal breathing disorders taking into account their existing comorbid disorders of the psychosomatic spectrum.

Key words: nasal breathing, diseases of upper respiratory tract, stress tension, psychosomatic disorders

For citation: Evert L.S., Ignatova I.A., Zaitseva O.I., Shilov S.N., Lisova N.A. Level of Stress in Students with the Disturbance of Nasal Breathing and Comorbid Disorders. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 68–72. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.11

Важное место в структуре ЛОР-патологии у детей и подростков занимают заболевания и состояния, сопровождающиеся нарушением носового дыхания: искривление перегородки носа, синуситы, аденоидиты, хронический ринит и другие. Возникающая при данных видах патологии гипоксия органов и систем организма (в том числе – ЦНС) может приводить к изменению их функционального состояния с последующим нарушением психоэмоционального статуса. Эмоциональные и другие виды стрессов способствуют нарушению нормального психологического и социального развития детей и подростков.

Психосоматические расстройства – одна из самых сложных и неоднозначных проблем современной медицины [1, 2, 3]. В условиях существующего в настоящее время постоянного психосоциального стресса, воздействующего на растущий организм, данная проблема стала ещё более острой. В развитие психосоматической патологии значительный вклад вносят как психогенные факторы, так и конституционально обусловленные патохарактерологические особенности личности индивидуума [4]. В структуру психосоматических расстройств входит достаточно большое число синдромов и состояний, в их числе – артериальная гипертензия (АГ), синдром вегетативной дисфункции (СВД), рекуррентные болевые синдромы: рецидивирующие головные боли (РГБ), рецидивирующие боли в животе (РБЖ), боли в спине (дорсалгии) (в шейном, грудном и поясничном отделах позвоночника), астенический синдром (АС), нейрогенные синкопальные состояния (СС), панические расстройства (ПР) [5–8].

Клинические проявления психосоматических расстройств отличаются значительным многообразием. Такие неспецифические симптомы, как головокружение, синкопе, астенические проявления, панические расстройства, часто ассоциируются с семейными проблемами, стрессом, школьными проблемами и депрессиями, особенно у подростков [9].

Среди внешних факторов, влияющих на появление патологии в детском возрасте, рассматривается и роль стресса как пускового механизма заболевания. Стресс – это универсальное явление в жизни современных подростков, влияющее на их здоровье и благополучие. При проведении ряда исследований было показано,

что в большей степени влияние психотравмирующей ситуации сказывается на возникновении эмоциональных расстройств у детей. В основе влияния стрессовых факторов на появление тревожно-депрессивных расстройств лежит наследственная предрасположенность индивидуальной чувствительности личности к факторам среды [10–13].

Таким образом, приведённые данные демонстрируют необходимость оценки особенностей психосоматического статуса у детей и подростков с различными видами соматической патологии, в том числе – при заболеваниях ЛОР-органов с сопутствующим нарушением носового дыхания, а также определение у них наличия и степени выраженности стрессового напряжения, для своевременной коррекции и профилактики данных нарушений.

В связи с вышесказанным, **целью данного исследования** стала оценка уровня стрессового напряжения у школьников с нарушением носового дыхания на фоне заболеваний ЛОР-органов и сопутствующими психосоматическими расстройствами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследован 481 школьник 12–17 лет (мальчики и девочки) с нарушением носового дыхания, обусловленным патологией ЛОР-органов (искривление перегородки носа, синуситы, аденоидиты, хронический ринит) и сопутствующими коморбидными психосоматическими расстройствами (АГ, АС, СС, РГБ, РБЖ, дорсалгии, ПР).

Все обследованные в возрасте 15 лет и старше (или законные представители подростков младше 15 лет) подписывали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Диагностика нарушения носового дыхания проводилась с помощью комплексного ЛОР-обследования, включающего риноскопию, рентгенографию пазух носа, ольфактометрию.

Уровень стрессового напряжения у обследованных оценивался с использованием анкеты для родителей «Социальные факторы и стресс» [14]. На основании полученной балльной оценки по шкалам опросника делался вывод об уровне стресса, который оценивался по следующим критериям: обычный (необходимый для адаптации) уровень стресса – ≤ 70 баллов, умеренно по-

высокий – 71–200 баллов, значительно повышенный – 201–300 баллов, высокий уровень стресса – > 300 баллов.

Для выявления и верификации клинических вариантов психосоматических расстройств (психосоматических синдромов) использовалась скрининговая анкета и критерии, разработанные С.Ю. Терещенко (2013). Оценивалось наличие у детей АГ, рецидивирующей цефалгии, РБЖ, болей в различных отделах позвоночника (шейном, грудном, поясничном) – дорсалгий, АС, СС и ПР. Для верификации вида цефалгии использовался диагностический алгоритм, разработанный на основе международной классификации головной боли (2005). Диагноз ГБ устанавливали согласно критериям Международной классификации головных болей [15].

Наличие астенического синдрома и панических расстройств верифицировалось после предварительной оценки (в баллах) диагностически значимых для АС и ПР признаков. Для АС максимальное количество баллов составляло 21, при сумме баллов < 10 диагноз АС исключался, при сумме баллов ≥ 10 выставлялся диагноз АС. При оценке наличия или отсутствия ПР максимальная сумма баллов составляла 13, при её величине < 4 – диагноз ПР исключался, при величине суммы баллов ≥ 4 делали заключение о наличии у обследуемого ПР.

Вид головной боли оценивался по следующим критериям: за последние 3 месяца голова болела не чаще 1 раза в месяц или не болела вообще – нет РГБ, голова болела от 1 до 15 раз в месяц – эпизодическая головная боль (ЭГБ), голова болела чаще 15 раз в месяц – хроническая головная боль (ХГБ). Частота болей в животе (РБЖ) и спине (шейном, грудном и поясничном отделе позвоночника) оценивалась по следующим критериям: в течение последних 3 месяцев боли не беспокоили – нет РБЖ и/или болей в спине, боли беспокоили 1–2 раза в месяц – редкие боли, чаще 2 раз в месяц – частые боли в животе и/или спине.

Статистическая обработка полученных данных проведена на персональном компьютере с применением пакета прикладных программ «Statistica 12.0 for Windows». Анализ статистической значимости различий качественных бинарных признаков проведён с помощью критерия χ^2 Пирсона, а для малых выборок – двусторонний точный критерий Фишера [16].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Один из видов ЛОР-патологии, сопровождающейся нарушением носового дыхания, – искривление перегородки носа, может быть обусловлен морфологической несостоинительностью соединительнотканых структур при дисплазии соединительной ткани (ДСТ), в том числе – хрящевой ткани носовой перегородки. Нами проведён сравнительный анализ уровня стрессового напряжения у пациентов, имеющих нарушение носового дыхания, с наличием и отсутствием клинических проявлений ДСТ. Установлено, что наличие соединительнотканной дисплазии у детей с нарушением носового дыхания в большей степени ассоциировалось с наличием у них высокого (28,2%) и умеренно повышенного (35,9%) уровня стрессового напряжения, аналогичные показатели в группе без ДСТ составили соответственно 20,8 и 29,2 %. Сравнительный анализ уровня стрессового напряжения в группах с дорсалгией и без таковой выявил большее число обследованных с высоким уровнем стресса в группе с дорсалгией (27,4 % против 7,1 %).

Известно, что высокие уровни стресса могут приводить к развитию дистресса и появлению соматической симптоматики, заставляющей подростка обращаться к врачу. Стресс и другие психосоциальные факторы могут вести к нарушению социально-психологической адаптации, к обострению имеющихся у ребёнка органических заболеваний. В свою очередь, подростки с органическим заболеванием могут испытывать дополнительный жизненный стресс в результате имеющейся у него соматической патологии, а сам стресс может оказывать влияние на течение соматического заболевания.

Стресс можно определить, как требование адаптации и преодоления трудностей, обычно в ответ на изменение условий жизни [17]. Если требование изменений превосходит способности и ресурсы, то проявляются негативные эффекты стресса, такие как соматические симптомы [18].

В нашем исследовании наличие артериальной гипертензии у детей с нарушенным носовым дыханием было сопряжено с умеренно и значительно повышенным уровнем стрессового напряжения (соответственно 36,7 и 16,7 % против 29,8 и 10,5 % у обследованных без АГ).

Значительно повышенный и высокий уровень стрессового напряжения чаще регистрировался у школьников с нарушением носового дыхания и астеническим синдромом (соответственно 17,1 и 28,6 % – в группе с астенией и 12,8 и 15,4 % – без астении).

Умеренно повышенный уровень стрессового напряжения был чаще характерен для школьников с умеренно выраженной астенией – у 44,4 % против 36,1 % в группе без астении. Значительно повышенный уровень стресса регистрировался у 22,2 % школьников с умеренной астенией и значительно меньше было таких лиц в группе без астении (13,9 %). Обычный уровень стресса отмечался у большего процента школьников без астении (у 36,1 %), в 3 раза меньше была доля таких школьников в группе с умеренно выраженной астенией (11,1 %).

Значительно повышенный уровень стрессового напряжения несколько чаще регистрировался у детей с синкопальными эпизодами в анамнезе (18,2 % против 12,7 %).

Головные боли – частая жалоба у детей и подростков – часто наблюдаются в ассоциации с абдоминальной болью. Наиболее частым вариантом цефалгии у детей являются головные боли мышечного напряжения, как эпизодические, так и хронические. Для детей с повторяющимися эпизодами головных болей чаще и в большей степени характерно наличие психологического дистресса, чем для детей без цефалгии. Подростки с хроническими рецидивирующими цефалгиями или мигренями в сочетании с РГБ напряжения, дают наиболее высокий уровень психологических дистрессов. Нами установлено, что высокий уровень стрессового напряжения значительно чаще регистрировался у детей с хронической ГБ (36,0 %) в сравнении с обследованными, имеющими эпизодическую ГБ (18,8 %) и не имеющими эпизодов ГБ в анамнезе (16,7 %).

Жизненный стресс может приводить не только к соматическим жалобам, но и к эмоциональным дистрессам. Например, возбуждение, тревога и депрессия часто сопутствуют психосоматическим симптомам. Подростки с рецидивирующими болями, не имеющими в качестве причины этих болей заболеваний органической или вос-

палильной природы, характеризуются повышенными уровнями возбуждения и депрессии, которые превышают таковые у их сверстников без эпизодов повторяющихся болей. Подросток, оценивающий ситуацию как угрожающую, может проявлять разнообразие реакций организма в ответ на стрессовую ситуацию. Эти реакции организма могут осознаваться и трактоваться как дискомфорт или боль [19].

Эти данные нашли своё подтверждение и в нашем исследовании. Для детей с частыми абдоминальными болями в большей степени был характерен умеренно повышенный (40,0 %) и высокий (35,0 %) уровень стрессового напряжения в сравнении с аналогичными показателями группы обследованных, отличавшихся редкими эпизодами болей в животе (соответственно 31,8 и 13,6 %).

Значительно повышенным уровнем стрессового напряжения характеризовались дети с частыми болями в ШОП (цервикалгиями) – 20,0 % против 9,4 % в группе без цервикалгий.

Значительно повышенный уровень стрессового напряжения чаще регистрировался у детей с наличием панических расстройств (27,6 %) и значительно меньше было число таких школьников в группе без данных нарушений (5,6 %).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сегодня юношество испытывает как нормальные стрессы, связанные с подростковым развитием (физиальные изменения организма), так и стрессы, обусловленные непредвиденными явлениями жизни, которые требуют адаптации и противостояния возникшим трудностям. Эмоциональные и другие виды стрессов ведут к значимым долговременным негативным последствиям и росту частоты использования различных диагностических и лечебных мероприятий у данного контингента; всё это диктует необходимость разработки мероприятий по повышению стрессоустойчивости в детском и юношеском возрасте. Важно учитывать не только уровень стрессовых воздействий, но и наличие возможных коморбидных ассоциаций у подростков с различными патологическими состояниями, в том числе – с нарушением носового дыхания на фоне ЛОР-заболеваний.

Проведённое нами исследование показало, что высокий уровень стрессового напряжения у детей с нарушением носового дыхания на фоне ЛОР-патологии ассоциируется с наличием ДСТ (у 28,2 %), дорсалгии (у 27,4 %), астенического синдрома, хронической головной боли, частых эпизодов абдоминальных болей. Умеренно и значительно повышенный уровень стрессового напряжения сопряжён с наличием у детей артериальной гипертензии, астенического синдрома, частых болей в животе, частых болей в ШОП, панических расстройств.

Таким образом, полученные нами данные демонстрируют необходимость оценки уровня стрессового напряжения и его коррекции у детей с нарушением носового дыхания, обусловленным заболеваниями ЛОР-органов, с учётом имеющихся у них коморбидных расстройств психосоматического спектра.

Финансирование

Исследование проведено при финансовой поддержке Красноярского краевого фонда науки в рамках проекта «Субъективное восприятие качества жизни и формирование форсайт-образа «качество жизни» в

представлениях жителей, населяющих сельские территории, прилегающие к формирующемуся промышленным кластерам комплексного инвестиционного проекта «Енисейская Сибирь».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абольян Л.В., Березанцев А.Ю. Психосоматическое здоровье детей и подростков как междисциплинарная проблема. *Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения*. 2012; 7(2): 652-653.
2. Brill SR, Patel DR, MacDonald E. Psychosomatic disorders in pediatrics. *The Indian Journal of Pediatrics*. 2001; 68(7): 597-603. doi: 10.1007/bf02752270
3. Goodman R, Slobodskaya H, Knyazev G. Russian child mental health a cross-sectional study of prevalence and risk factors. *European child & adolescent psychiatry*. 2005; 14(1), 28-33. doi: 10.1007/s00787-005-0420-8
4. Смулевич А.Б. *Психические расстройства в клинической практике. Психосоматические расстройства (психопатология и клиническая систематика)*. М.: МЕДпресс-Информ; 2011.
5. Анисимова С.Ю., Рачин А.П. Дорсопатии. *Неврологический вестник*. 2012; 44(2): 21-24.
6. Белоусова Т.Е., Суббота В.В. Психосоматический подход к диагностике и лечению пациентов с вертеброгенной цервикалгией. *Современные технологии в медицине*. 2009; (2): 61-66.
7. Брязгунов И.П. *Психосоматика у детей*. М.: Психотерапия; 2009.
8. Васильева Л.В., Эверт Л.С., Терещенко С.Ю., Горбачева Н.Н., Шубина М.В. Панические расстройства у школьников Сибири (на примере г. Красноярска). *Профилактическая и клиническая медицина*. 2014; 2(51): 93-96.
9. Лифинцева А.А., Холмогорова А.Б. Семейные факторы психосоматических расстройств у детей и подростков. *Консультативная психология и психотерапия*. 2015; 23(1): 70-83.
10. Рягузова А.В. Обзор ведущих исследований факторов риска развития психосоматических заболеваний. *Глобальный научный потенциал*. 2013; 9(30): 13-19.
11. Серых А., Басюк В., Лифинцева А. Особенности детских психосоматических расстройств. *Развитие личности*. 2010; (3): 59-70.
12. Эверт Л.С., Реушева С.В., Паничева Е.С., Зайцева О.И., Гришкевич Н.Ю., Бахшиева С.А., и др. Эмоционально-поведенческие расстройства у школьников южных регионов Сибири с синкопальными состояниями. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2014; 9(2): 140-144.
13. Zaitseva O, Klimatskaya L, Kolodyazhnaya T, Evert L. Features of the emotional status of schoolchildren with different profiles of lateral phenotype. *Puls Uczelnii*. 2014; 8(2): 4-8.
14. Левис Ш., Левис Ш.К. *Ребёнок и стресс*. СПб.: Питер. Пресс; 1996.
15. Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society. The International Classification of Headache Disorders 2nd Edition 1st revision (May, 2005). *Cephalgia*. 2005; (25): 460-465.
16. Реброва О.Ю. *Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ «STATISTICA»*. М.: Медиа Сфера; 2002.
17. Селье Г. *Стресс без дистресса*. М.: Прогресс; 1982.
18. Verkuil B, Brosschot JF, Meerman EE, Thayer JF. Effects of momentary assessed stressful events and worry episodes on somatic health complaints. *Health*. 2012; 27(2): 141-158. doi: 10.1080/08870441003653470
19. Lieb R, Meinschmidt G, Araya R. Epidemiology of the association between somatoform disorders and anxiety and depressive disorders: an update. *Psychosomatic Medicine*. 2007; 69(9): 860-863. doi: 10.1097/PSY.0b013e31815b0103

REFERENCES

1. Abolyan LV, Berezantsev AYu. Psychosomatic health of children and adolescents as an interdisciplinary problem. *Zdorov'e – osnova chelovecheskogo potentsiala: problemy i puti ikh resheniya*. 2012; 7(2): 652-653. (In Russ.)
2. Brill SR, Patel DR, MacDonald E. Psychosomatic disorders in pediatrics. *The Indian Journal of Pediatrics*. 2001; 68(7): 597-603. doi: 10.1007/bf02752270
3. Goodman R, Slobodskaya H, Knyazev G. Russian child mental health a cross-sectional study of prevalence and risk factors. *European child & adolescent psychiatry*. 2005; 14(1), 28-33. doi: 10.1007/s00787-005-0420-8
4. Smulevich AB. *Mental disorders in clinical practice. Psychosomatic disorders (psychopathology and clinical systematization)*. Moscow: Medpress-Inform; 2011. (In Russ.)
5. Anisimova SYu, Rachin AP. Dorsopathy. *Nevrologicheskiy vestnik*. 2012; 44(2): 21-24. (In Russ.)
6. Belousova TE, Subbotina VV. Psychosomatic approach to the diagnosis and treatment of patients with vertebrogenic cervicalgia. *Sovremennye tekhnologii v meditsine*. 2009; (2): 61-66. (In Russ.)
7. Bryazgunov IP. *Psychosomatics in children*. Moscow: Psychotherapy; 2009. (In Russ.)
8. Vasilyeva LV, Evert LS, Tereshchenko SYu, Gorbachev NN, Shubina MV. Panic disorders in schoolchildren of Siberia (on the example of Krasnoyarsk). *Profilakticheskaya i klinicheskaya meditsina*. 2014; 2(51): 93-96. (In Russ.)
9. Lifintseva AA, Kholmogorova AB. Family factors of psychosomatic disorders in children and adolescents. *Counseling Psychology and Psychotherapy*. 2015; 23(1): 70-83. (In Russ.)
10. Ryaguzova AV. Review of the leading studies of risk factors for the development of psychosomatic diseases. *Global'nyy nauchnyy potentsial*. 2013; 9(30):13-19. (In Russ.)
11. Serykh A, Basyuk V, Lifintseva A. Features of children's psychosomatic disorders. *Razvitiye lichnosti*. 2010; (3): 59-70. (In Russ.)
12. Evert LS, Ruseva SV, Panicheva ES, Zaitseva Ol, Grishkevich NYu, Bakhshiyeva SA, et al. Emotional-behavioral disorders in schoolchildren in the southern regions of Siberia with syncope. *International journal of applied and fundamental research*. 2014; 9(2): 140-144. (In Russ.)
13. Zaitseva O, Klimatskaya L, Kolodyazhnaya T, Evert L. Features of the emotional status of schoolchildren with different profiles of lateral phenotype. *Puls Uczelni*. 2014; 8(2): 4-8
14. Lewis Sh, Lewis ShK. *Child and stress*. Saint-Petersburg: Peter. Press; 1996. (In Russ.)
15. Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society. The International Classification of Headache Disorders 2nd Edition 1st revision (May, 2005). *Cephalgia*. 2005; (25): 460-465.
16. Rebrova OYu. *Statistical analysis of medical data. The application of the package of applied programs "STATISTICA"*. M.: Media Sphera; 2002. (In Russ.)
17. Selye H. *Stress without distress*. M.: Progress, 1982. (In Russ.)
18. Verkuil B, Brosschot JF, Meerman EE, Thayer JF. Effects of momentary assessed stressful events and worry episodes on somatic health complaints. *Health*. 2012; 27(2): 141-158. doi: 10.1080/08870441003653470
19. Lieb R, Mehlischmidt G, Araya R. Epidemiology of the association between somatoform disorders and anxiety and depressive disorders: an update. *Psychosomatic Medicine*. 2007; 69(9): 860-863. doi: 10.1097/PSY.0b013e31815b0103

Сведения об авторах

Эверт Лидия Семёновна – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник клинического отделения соматического и психического здоровья детей, НИИ медицинских проблем Севера – обособленное подразделение «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», e-mail: lidiya_evert@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0665-7428>

Игнатова Ирина Акимовна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии, НИИ медицинских проблем Севера – обособленное подразделение «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук»; профессор кафедры оториноларингологии, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, e-mail: ignatovai@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3327-7631>

Зайцева Ольга Исаевна – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии, НИИ медицинских проблем Севера – обособленное подразделение «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», профессор кафедры патофизиологии, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России, e-mail: 1081959@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7199-2308>

Шилов Сергей Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой специальной психологии, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный педагогический университет им. В.П. Астафьева», e-mail: shiloff.serg@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9132-6652>

Лисова Надежда Александровна – старший преподаватель, аспирант кафедры специальной психологии, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный педагогический университет им. В.П. Астафьева», e-mail: nadia.krs@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6923-8039>

Information about the authors

Lydia S. Evert – Dr. Sc. (Med.), Chief Research Officer, Clinical Department for Physical and Mental Health of Children; Research Institute of Medical Problems of the North – Separate Division of Federal Research Center "Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences", e-mail: lidiya_evert@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0665-7428>

Irina A. Ignatova – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Laboratory of Clinical Pathophysiology, Research Institute of Medical Problems of the North – Separate Division of Federal Research Center "Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences"; Professor of the Department of Otolaryngology, Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voyno-Yasenetsky, e-mail: ignatovai@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3327-7631>

Olga I. Zaitseva – Dr. Sc. (Med.), Chief Research Officer at the Laboratory of Clinical Pathophysiology, Research Institute of Medical Problems of the North – Separate Division of Federal Research Center "Krasnoyarsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences"; Professor of the Department of Pathophysiology, Krasnoyarsk State Medical University named after Professor V.F. Voyno-Yasenetsky, e-mail: 1081959@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7199-2308>

Sergey N. Shilov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of Department of Special Psychology, Krasnoyarsk State Pedagogical University named after V.P. Astafiev, e-mail: shiloff.serg@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9132-6652>

Nadezhda A. Lisova – Senior Lecturer, Postgraduate at the Department of Special Psychology, Krasnoyarsk State Pedagogical University named after V.P. Astafiev, e-mail: nadia.krs@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6923-8039>

Статья получена: 05.07.2019. Статья принята: 23.09.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 05.07.2019. Accepted: 23.09.2019. Published: 26.10.2019.

ФТИЗИАТРИЯ

РHTHSIOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.5.12

Особенности эпидемического процесса туберкулёза на территории с высокой распространённостью ВИЧ-инфекции

Шугаева С.Н.^{1,4}, Савилов Е.Д.^{1,2}, Кошкина О.Г.³, Сузdalnytskiy A.E.^{3,4}, Чемезова Н.Н.^{1,2}

¹ Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия); ² ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия); ³ ОГБУЗ «Иркутская областная клиническая туберкулёзная больница» (664039, г. Иркутск, ул. Терешковой, 59, Россия); ⁴ ФГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Чемезова Наталья Николаевна, e-mail: chemezova_nataly@mail.ru

Резюме

Масштабы эпидемического процесса ВИЧ-ассоциированного туберкулёза особенно заметны в регионах с высокой распространённостью ВИЧ-инфекции и туберкулёза. Ярким примером этого положения является Иркутская область – территория с самой высокой в РФ поражённостью ВИЧ-инфекцией и одна из наиболее неблагополучных по туберкулёзу – в 2010 г. стала российским «лидером» и по распространённости ВИЧ-ассоциированного туберкулёза (70,5% ^{ооооо}), сохраняя до настоящего времени позицию в первой пятёрке. Понятно, что всё это не может не сказаться и на негативных проявлениях двух рассматриваемых эпидемических процессов при их одновременном развитии на одной территории. Вышеизложенные факты предопределили проведение в Иркутской области – территории высокого риска ВИЧ-инфекции – ретроспективного эпидемиологического анализа распространения туберкулёза среди совокупного населения. Цель работы: оценка особенностей распространения туберкулёза на территории крупного очага ВИЧ-инфекции (Иркутская область).

Материалы и методы. Проведено ретроспективное эпидемиологическое исследование за 20-летний период (1995–2014 гг.) в сопоставлении с общероссийскими данными. Изучены основные эпидемиологические показатели по ВИЧ-инфекции и туберкулёзу: заболеваемость, распространённость, смертность.

Результаты. Установлено выраженное негативное влияние ВИЧ-инфекции на эпидемический процесс туберкулёза в изучаемом регионе, проявляющееся в разнонаправленности трендов и более высоких уровнях эпидемиологических показателей в сопоставлении с общероссийскими данными.

Заключение. В результате исследования установлен разнонаправленный с общероссийскими показателями тренд региональной заболеваемости туберкулёзом с момента эпидемического распространения ВИЧ-инфекции, что свидетельствует об интеграции эпидемических процессов изучаемых инфекций. Даже при условии регресса эпидемического процесса туберкулёза в конце анализируемого периода, сопровождающегося снижением заболеваемости всего населения, ВИЧ-инфекция оказывает значимое влияние на его напряжённость, что, безусловно, требует усиленных мер эпидемиологического контроля за этими социально-значимыми инфекциями.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, туберкулёз, заболеваемость, распространённость, смертность

Для цитирования: Шугаева С.Н., Савилов Е.Д., Кошкина О.Г., Суздалницкий А.Е., Чемезова Н.Н. Особенности эпидемического процесса туберкулёза на территории с высокой распространённостью ВИЧ-инфекции. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 73–78. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.12

Features of Epidemic Process of Tuberculosis in the Territory with High Prevalence of HIV Infection

Shugaeva S.N.^{1,4}, Savilov E.D.^{1,2}, Koshkina O.G.³, Suzdalnytskiy A.E.^{3,4}, Chemezova N.N.^{1,2}

¹ Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation); ² Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazev str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation); ³ Irkutsk Regional Clinical Tuberculosis Hospital (Tereshkova str. 59, Irkutsk 664039, Russian Federation); ⁴ Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Natalia N. Chemezova, e-mail: chemezova_nataly@mail.ru

Abstract

Scales of epidemic process of HIV-associated of tuberculosis are especially noticeable in regions with high prevalence of HIV infection and tuberculosis. A striking example of this situation is the Irkutsk region – the territory with the

highest prevalence of HIV infection in the Russian Federation and one of the most unsuccessful one on tuberculosis – in 2010 became Russian “leader” and in prevalence of the HIV-associated tuberculosis, keeping a position “in the first five” so far. It is clear, that all this cannot but imply negative manifestations of two considered epidemic processes at their simultaneous development in one territory. The above-said facts predetermined carrying out the retrospective epidemiological analysis of spread of tuberculosis among the cumulative population in the Irkutsk region, a territory of high risk of HIV infection.

The purpose of the work was to assess features of spread of tuberculosis in the territory of the large center of HIV infection (Irkutsk region).

Results. The expressed negative impact of HIV infection on epidemic process of tuberculosis in the studied region, shown in divergence of trends and higher levels of epidemiological indicators in comparison to the all-Russian data is established.

Conclusion. As a result of a research the trend of regional incidence of tuberculosis, multidirectional with the all-Russian indicators, is established from the moment of epidemic spread of HIV infection that demonstrates integration of epidemic processes of the studied infections. Even on condition of regress of epidemic process of tuberculosis at the end of the analyzed period which is followed by decrease in incidence of all population, HIV infection has a significant impact on his tension that, certainly, demands the strengthened measures of epidemiological control of these socially important infections.

Key words: HIV infection, tuberculosis, incidence, prevalence, mortality

For citation: Shugaeva S.N., Savilov E.D., Koshkina O.G., Suzdalnitskiy A.E., Chemezova N.N. Features of Epidemic Process of Tuberculosis in the Territory with High Prevalence of HIV Infection. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 73-78. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.12

Напряжённость эпидемического процесса (ЭП) туберкулёза (ТБ) в отдельных субъектах Российской Федерации имеет существенные различия. Наиболее неблагоприятная эпидемиологическая ситуация по этой инфекции сложилась в Дальневосточном и Сибирском федеральных округах (ФО) [1, 2].

На территории Сибирского ФО в течение многих лет регистрируются высокие показатели заболеваемости туберкулёзом, стабильно превышающие общероссийский уровень в 1,5–1,7 раза. Несмотря на снижение инцидентности этой инфекции как в целом по стране, так и в Сибирском ФО, напряжённость эпидемического процесса туберкулёза в значительной мере поддерживается распространённостью ВИЧ-инфекции (ВИЧи) в отдельных субъектах РФ [1, 3, 4, 5].

Распространение ВИЧ-инфекции зарегистрировано на всех территориях страны с максимальной поражённостью населения в Сибирском и Уральском ФО. Кооперация рассматриваемых инфекций привела к возникновению и дальнейшей прогрессии инцидентности ВИЧ-ассоциированного туберкулёза. Следует отметить, что в Сибири зарегистрировано наиболее значимое влияние ВИЧ и на эпидемический процесс туберкулёза [3, 5].

Масштабы ЭП ВИЧ-ассоциированного туберкулёза особенно заметны в регионах с высокой распространённостью ВИЧ-инфекции и туберкулёза. Ярким примером этого положения является Иркутская область – территория с самой высокой в РФ поражённостью ВИЧи и одна из наиболее неблагополучных по туберкулёзу, которая в 2010 г. стала российским «лидером» и по распространённости ВИЧ-ассоциированного туберкулёза (70,5 %₀₀₀₀), сохранив до настоящего времени позицию в первой пятерке [1, 5]. Понятно, что всё это не может не сказаться и на негативных проявлениях двух рассматриваемых эпидемических процессов при их одновременном развитии на одной территории. Такие примеры хорошо известны при совместном инфицировании на организменном уровне [6, 7], однако в популяционных исследованиях это научное направление стало активно разрабатываться лишь в последние годы [8].

Вышеизложенные факты предопределили проведение в Иркутской области – территории высокого риска ВИЧ-инфекции – ретроспективного эпидемиоло-

гического анализа распространения туберкулёза среди совокупного населения.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить особенности распространения туберкулёза на территории крупного очага ВИЧ-инфекции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы: формы федерального статистического наблюдения № 8 «Сведения о заболеваниях активным туберкулёзом», № 33 «Сведения о больных туберкулёзом», № 61 «Сведения о контингентах больных ВИЧ-инфекцией» по Иркутской области; материалы статистических отчётов Иркутской областной клинической туберкулёзной больницы; статистические данные Федерального научно-методического центра по профилактике и борьбе со СПИДом и Центрального научно-исследовательского института организации и информатизации здравоохранения Минздрава России.

Ретроспективный эпидемиологический анализ эпидемического процесса туберкулёза на территории Иркутской области проведён за 20-летний период (1995–2016 гг.) в сопоставлении с общероссийскими данными. Оценка эпидемиологической ситуации включала данные по её основным показателям: заболеваемость, распространённость и смертность. Средние значения этих показателей рассчитаны по медиане с доверительными интервалами к ней (Ме [ДИ_{0,95}]).

Для оценки статистических закономерностей применены непараметрические методы, уровень значимости при проверке статистических гипотез (р) принят равным 0,05. Темп прироста показателей при оценке линейной тенденции рассчитан по выровненным данным с использованием метода наименьших квадратов. Проверка трендовых моделей на соответствие исходным данным проведена вычислением коэффициента достоверности аппроксимации (R^2), при его значениях в диапазоне 0,7–1,0 степень соответствия модели расценена как приемлемая.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение многолетней динамики заболеваемости ВИЧ-инфекцией в Российской Федерации и в Иркутской области выявило совпадение трендов их движения с

незначительным запаздыванием региональной инцидентности ВИЧ-инфекции (1 год). Выделено два периода линейной динамики показателей: период интенсивного спада (за счёт насыщения группы риска) и следующий за ним период постепенного роста, характеризующийся вовлечением общей популяции населения в ЭП ВИЧи. Существенные различия выявлены при оценке уровней инцидентности во втором периоде – периоде эпидемического распространения этой инфекции. На территории Иркутской области величина среднего показателя заболеваемости ВИЧи в 2,6 раза превышала аналогичный уровень общероссийского показателя.

Такие же тенденции выявлены при анализе поражённости ВИЧ-инфекцией: восходящий линейный тренд показателя с сопоставимыми темпами его прироста на анализируемых территориях и статистически значимое трёхкратное превалирование распространённости ВИЧи в Иркутской области (табл. 1).

Анализ многолетней динамики заболеваемости туберкулёзом выявил незначительные расхождения показателей регионального и федерального уровней в начале и весьма существенное, двукратное, превышение региональной заболеваемости в конце изучаемого вре-

менного отрезка (соответственно, 108,4 % и 53,3 % в 2016 г.; $p = 0,0001$). Максимальная заболеваемость туберкулёзом в Российской Федерации зафиксирована в 2000 г. (90,7 %). В Иркутской области пиковое значение показателя зарегистрировано спустя 11 лет – в 2011 г. (150,1 %).

В динамике общероссийского показателя заболеваемости туберкулёзом отчётливо прослеживаются четыре периода: интенсивный рост (1995–2000 гг.); постепенный спад (2000–2003 гг.), стабилизация (2003–2007 гг.); выраженное снижение (2008–2016 гг.).

Многолетняя динамика заболеваемости в Иркутской области характеризуется следующими периодами: интенсивный рост (1997–2001 гг.); относительная стабилизация (2002–2005 гг.); интенсивный рост (2006–2011 гг.); снижение (2011–2016 гг.). При оценке динамики областных показателей не учтены данные 1995 и 1996 гг., изменение которых служит отражением тенденции более раннего, не анализируемого в настоящем исследовании, периода. Данные многолетней заболеваемости, согласно выделенным периодам, приведены в таблице 2.

Согласно представленным данным, в Иркутской области до 2001 г. отмечались согласующиеся с обще-

Таблица 1
Многолетняя динамика заболеваемости и поражённости ВИЧ-инфекцией в Российской Федерации и Иркутской области
Table 1
Long-term dynamics of incidence and prevalence of HIV infection in the Russian Federation and the Irkutsk Region

ВИЧ-инфекция	Период	Показатель, % ₀₀₀₀ (Ме [ДИ _{0,95}])	Уравнение регрессии/R ²	Темп прироста, %
Заболеваемость	2001–2004	29,6 [23,3–55,3]	$-10,54x + 60,8 / 0,95$	-28,2
		44,0 [27,8–58,4]	$3,71x + 19,12 / 0,98$	9,4
	2001–2016	93,7 [62,3–130,7]	$-34,2x + 163,97 / 1,0$	-31,0*
		112,3 [87,3–148,9]	$7,03x + 60,15 / 0,97$	6,8
Поражённость	2001–2016	305,1 [201,4–479,0]	$28,96x + 83,32 / 0,99$	11,1
		911,4 [647,4–1290,7]	$74,22x + 347,67 / 0,99$	9,0
	2001–2016			

Примечание. Полужирный шрифт – статистическая значимость различий показателей; * – расчёт по фактическим данным.

Таблица 2
Многолетняя динамика заболеваемости туберкулёзом в Российской Федерации и Иркутской области
Table 2
Long-term dynamics of incidence of tuberculosis in the Russian Federation and the Irkutsk region

Период	Заболеваемость, % ₀₀₀₀ (Ме [ДИ _{0,95}])	Уравнение регрессии / R ²	Среднегодовой темп прироста, %
Российская Федерация	Российская Федерация		
1995–2000	75,0 [57,8–90,7]	$6,277x + 53,213 / 0,98$	8,8
2000–2003	87,2 [82,7–90,7]	$-2,61x + 93,45 / 0,99$	-3,0
2003–2007	82,7 [82,4–83,8]	$-0,11x + 83,29 / 0,09$	0,03
2008–2016	73,0 [59,5–85,1]	$-4,461x + 90,5 / 0,99$	-6,0
Иркутская область	Иркутская область		
1997–2001	123,0 [54,3–142,6]	$21,79x + 43,31 / 0,92$	23,7
2002–2005	122,2 [120,6–122,4]	$0,29x + 121,1 / 0,20$	0,3
2006–2011	139,7 [125,0–150,1]	$4,42x + 124,43 / 0,72$	3,2
2011–2016	129,9 [108,4–152,4]	$-8,37x + 159,06 / 0,95$	-6,3

Примечание. [ДИ] – доверительные интервалы для медианы распределения рассчитаны по ранговой таблице при $n < 6$ [Min–Max].

российским трендом изменения заболеваемости туберкулёзом со среднегодовым темпом прироста, в 2,7 раза превышающим федеральный уровень. В дальнейшем на фоне снижения общероссийских показателей в изучаемом регионе до 2006 г. регистрируется стагнация заболеваемости на высоком уровне. Затем на протяжении пяти лет следует период роста, противоположный общероссийской тенденции.

Подобная ситуация в отдельном субъекте ФО возможна при воздействии на эпидемический процесс мощных негативных факторов, среди которых на территории области можно выделить лишь один – широкое распространение ВИЧ-инфекции.

Региональные особенности заболеваемости туберкулёзом отразились и на другом параметре оценки эпидемического процесса – показателе распространённости (табл. 3). В отличие от изменения общероссийского показателя, демонстрирующего два разнонаправленных периода (интенсивный рост в 1995–2002 гг. и длительный спад в 2002–2016 гг.), в многолетней динамике региональной распространённости туберкулёза выделяются следующие периоды: интенсивный рост (1995–2002 гг.), кратковременный спад (2002–2005 гг.), постепенный рост (2005–2011 гг.) и снижение (2011–2016 гг.).

Табличные данные подтверждают совпадение направления движения распространённости туберкулёза по федеральным и региональным показателям до 2005 г. и демонстрируют отчётливую разнонаправленность тенденции в период 2005–2011 гг.

Динамика показателя смертности от туберкулёза на территории Иркутской области существенно превы-

шает общероссийский уровень с 1998 г. и до настоящего времени (табл. 4).

Тенденция федерального уровня смертности от туберкулёза, как и распространённости, имеет два разнонаправленных периода: постепенного роста (1995–2005 гг.) и медленного снижения (2006–2016 гг.) с самым низким значением показателя в финальной временной точке наблюдения (7,8 % в 2016 г.).

Особенностью динамики областных показателей смертности является как возрастающая тенденция в целом за весь период наблюдения (16,5 % – в 1995 г., 20,4 % – в 2016 г.), так и наличие не совпадающих с федеральными данными разнонаправленных эпидемических периодов: интенсивного роста (1995–1999 гг.), относительной стабилизации на высоком уровне (2000–2009 гг.), кратковременный подъём в 2010–2011 гг. с последующим снижением в 2012–2016 гг.

Следует отметить, что областные показатели в 2010–2011 гг. следует отнести к ошибочным, так как они обусловлены выявленными случаями некорректной регистрации смертности от туберкулёза (в основном при кокиинфекции ВИЧ), что послужило основанием для распоряжения Министерства здравоохранения Иркутской области от 21 марта 2012 г. № 305/1-мр «О мониторинге смертности от туберкулёза» с чётко сформулированными правилами оформления посмертных диагнозов. Исполнение этого нормативного документа привело к статистическому снижению этого показателя в последние годы. Тем не менее, к окончанию исследования уровень смертности в Иркутской области превышал российский показатель в 2,6 раза, что, несомненно, свидетельствует

Многолетняя динамика распространённости туберкулёза в Российской Федерации и в Иркутской области

Long-term dynamics of prevalence of tuberculosis in the Russian Federation and the Irkutsk region

Таблица 3

Table 3

Период	Распространённость, % ₀₀₀₀ (Ме [ДИ _{0,95}])	Уравнение регрессии / R ²	Среднегодовой темп прироста, %
Российская Федерация			
1995–2002	231,8 [176,8–272,8]	15,877x + 156,44 / 0,95	7,4
2002–2016	185,1 [147,5–209,1]	−9,116x + 254,44 / 0,95	−5,2
Иркутская область			
1995–2002	347,1 [263,9–446,3]	27,04 + 225,62 / 0,98	8,3
2002–2005	379,1 [354,7–446,3]	−32,18x + 470,25 / 0,90	−8,0
2005–2011	373,9 [354,7–420,8]	9,7x + 341,11 / 0,85	2,6
2011–2016	345,2 [261,9–420,8]	−32,31x + 456,93 / 0,99	−8,6

Многолетняя динамика смертности от туберкулёза в Российской Федерации и в Иркутской области

Long-term dynamics of mortality from tuberculosis in the Russian Federation and the Irkutsk Region

Таблица 4

Table 4

Период.	Смертность, % ₀₀₀₀ (Ме [ДИ _{0,95}])	Уравнение регрессии / R ²	Среднегодовой темп прироста, %
Российская Федерация			
1995–2005	20,2 [16,7–21,9]	0,741x + 14,909 / 0,83	4,0
2006–2016	14,2 [9,2–18,4]	−1,249 + 21,358 / 0,99	−8,1
Иркутская область			
1995–1999	17,0 [16,1–36,4]	4,64x + 7,82 / 0,72	25,6
2000–2009	35,5 [34,8–35,8]	0,243x + 33,733 / 0,1	0,7

Примечание. Из оценочных данных исключены значения областных показателей после 2009 г. по причине некорректного формирования показателя в 2010–2011 гг. и невозможности определения тенденции в последние годы.

о напряжённости эпидемического процесса туберкулёза в регионе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На территории Иркутской области к концу рассматриваемого периода сложилась крайне неблагоприятная эпидемиологическая ситуация по туберкулёзу. Динамика эпидемического процесса туберкулёза в регионе демонстрирует отличные от федеральной тенденции черты, совпадающие по времени с широким распространением ВИЧ-инфекции.

В результате исследования установлен разнонаправленный с общероссийскими показателями тренд региональной заболеваемости туберкулёзом с момента эпидемического распространения ВИЧ-инфекции, что свидетельствует об интеграции эпидемических процессов изучаемых инфекций. Даже при условии регресса эпидемического процесса ТБ в конце анализируемого периода, сопровождающего снижением заболеваемости всего населения, ВИЧ-инфекция оказывает значимое влияние на его напряжённость, что, безусловно, требует усиленных мер эпидемиологического контроля за этими социально-значимыми инфекциями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Колесников С.И., Савилов Е.Д., Савченков М.Ф., Лещенко Я.А., Малов И.В., Анганова Е.В., и др. Санитарно-эпидемиологическое благополучие населения Сибири (медико-демографическая и эпидемиологическая характеристика). *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2016; 71(6): 472-481. doi: 10.15690/vramn640
2. Пузырева Л.В., Мордыш А.В., Руднева С.Н., Татаринцева М.П. Эпидемиологическая ситуация по туберкулезу в Западной Сибири. *Национальные приоритеты России*. 2017; (3): 72-79.
3. Нечаева О.Б. Эпидемическая ситуация по туберкулезу среди лиц с ВИЧ-инфекцией в Российской Федерации. *Туберкулез и болезни легких*. 2017; 95(3): 13-19. doi: 10.21292/2075-1230-2017-95-3-13-19
4. Пузырева Л.В., Мордыш А.В., Татаринцева М.П., Руднева С.Н. Вклад ВИЧ-инфекции в развитие эпидемической ситуации по туберкулезу на территории региона Западной Сибири. *Дальневосточный медицинский журнал*. 2017; (4): 36-40.
5. Шугаева С.Н., Савилов Е.Д., Кошкина О.Г., Зарбуев А.Н., Уттанова Л.С. Влияние ВИЧ-инфекции на напряженность эпидемического процесса туберкулеза на территории высокого риска обеих инфекций. *Туберкулез и болезни легких*. 2018; 96(2): 5-10. doi: 10.21292/2075-1230-2018-96-2-5-10
6. Méndez-Samperio P. Diagnosis of Tuberculosis in HIV Co-infected Individuals: Current status, challenges and opportunities for the future. *Scand J Immunol*. 2017; 86(2): 76-82. doi: 10.1111/sji.12567
7. Tornheim JA, Dooley KE. Challenges of TB and HIV co-treatment: updates and insights. *Current Opinion in HIV and AIDS*. 2018; 13(6): 486-491. doi: 10.1097/COH.0000000000000495
8. Савилов Е.Д., Колесников С.И., Брико Н.И. Коморбидность в эпидемиологии - новый тренд в исследованиях общественного здоровья. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2016; (4): 66-75.

REFERENCES

1. Kolesnikov SI, Savilov ED, Savchenkov MF, Leshchenko YaA, Malov IV, Anganova EV, et al. Sanitary-epidemiological status of Siberian population (medico-demographical and epidemiological characteristics). *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2016; 71(6): 472-481. doi: 10.15690/vramn640. (In Russ.)
2. Puzuryova LV, Mordyk AV, Rudneva SN, Tatarintseva MP. An epidemiological situation of tuberculosis in the Western Siberia. *Natsional'nye priorityty Rossii*. 2017; (3): 72-79. (In Russ.)
3. Nechaeva OB. Tuberculosis epidemic situation among HIV positive people in the Russian Federation. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2017; 95(3): 13-19. doi: 10.21292/2075-1230-2017-95-3-13-19. (In Russ.)
4. Puzyryova LV, Mordyk AV, Tatarintseva LS, Rudneva SN. HIV infection contribution to the development of an epidemic situation in tuberculosis in Western Siberia. *Dal'nevostochnyy meditsinskij zhurnal*. 2017; (4): 36-40. (In Russ.)
5. Shugaeva SN, Savilov ED, Koshkina OG, Zarbuyev AN, Utanova LS. Impact of HIV infection on the intensity of tuberculosis epidemics on the territories of high risks for both infections. *Tuberculosis and Lung Diseases*. 2018; 96(2): 5-10. doi: 10.21292/2075-1230-2018-96-2-5-10. (In Russ.)
6. Méndez-Samperio P. Diagnosis of Tuberculosis in HIV Co-infected Individuals: Current status, challenges and opportunities for the future. *Scand J Immunol*. 2017; 86(2): 76-82. doi: 10.1111/sji.12567
7. Tornheim JA, Dooley KE. Challenges of TB and HIV co-treatment: updates and insights. *Current Opinion in HIV and AIDS*. 2018; 13(6): 486-491. doi: 10.1097/COH.0000000000000495
8. Savilov ED, Kolesnikov SI, Briko NI. Comorbidity in epidemiology – a new trend in researches of public health. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2016; (4): 66-75. (In Russ.)

Сведения об авторах

Шугаева Светлана Николаевна – доктор медицинских наук, профессор кафедры туберкулёза и инфекционных болезней, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; заведующая кафедрой фтизиопульмонологии, ФГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: shugaeva_s@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-3660-9278

Савилов Евгений Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эпидемиологии и микробиологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; главный научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: savilov47@gmail.com, http://orcid.org/0000-0002-9217-6876

Кошкина Ольга Геннадьевна – заместитель главного врача по амбулаторно-поликлинической работе, ОГБУЗ «Иркутская областная клиническая туберкулёзная больница», e-mail: guzioptd@gmail.com

Суздалницикий Алексей Евгеньевич – заведующий лёгочно-хирургическим отделением, ОГБУЗ «Иркутская областная клиническая туберкулёзная больница»; ассистент кафедры фтизиопульмонологии, ФГБОУ ВПО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: guzioptd@gmail.com

Чемезова Наталья Николаевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры эпидемиологии и микробиологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: chemezova_nataly@mail.ru, http://orcid.org/0000-0001-5375-7785

Information about the authors

Svetlana N. Shugaeva – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Tuberculosis and Infectious Diseases, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Head of the Department of Phthisiopulmonology, Irkutsk State Medical University; e-mail: shugaeva_s@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-3660-9278

Evgeny D. Savilov – Dr. 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 Significant Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: savilov47@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-9217-6876>

Olga G. Koshkina – Deputy Chief Physician for Polyclinic Work, Irkutsk Regional Clinical Tuberculosis Hospital, e-mail: guzioptd@gmail.com

Alexey E. Suzdalnitskiy – Head of the Department of Pulmonary Surgery, Irkutsk Regional Clinical Tuberculosis Hospital; Teaching Assistant at the Department of Phthisiopulmonology, Irkutsk State Medical University, e-mail: guzioptd@gmail.com

Natalia N. Chemezova – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Tuberculosis and Infectious Diseases, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Significant Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: chemezova_nataly@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5375-7785>

Статья получена: 25.06.2019. Статья принята: 02.10.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 25.06.2019. Accepted: 02.10.2019. Published: 26.10.2019.

ХИРУРГИЯ

SURGERY

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.5.13

Динамика матриксных металлопротеиназ при местной холодовой травме

Михайличенко М.И., Шаповалов К.Г., Мудров В.А., Груздева О.С.

ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (672000, г. Чита, ул. Горького 38а, Россия)

Автор, отвечающий за переписку: Михайличенко Максим Игоревич, e-mail: angelo999@yandex.ru

Резюме

Актуальность местной холодовой травмы в России обусловлена её большим удельным весом в структуре травматизма, сложностями комплексной терапии, неудовлетворительными результатами лечения. В патогенезе местной холодовой травмы ведущая роль принадлежит дисфункции эндотелия, который выделяет огромное количество биологически активных веществ, в том числе и матриксные металлопротеиназы. В литературе постоянно обсуждается их двойственная роль в течение воспаления.

Цель исследования: установить динамику содержания матриксных металлопротеиназ (МПП) второго подсемейства (MMP-2, MMP-9) в сыворотке крови у пациентов с местной холодовой травмой.

Материалы и методы исследования. В исследование включено 80 пациентов (60 мужчин и 20 женщин) с отморожениями III-IV степени стопы до уровня нижней трети голени в позднем реактивном периоде и периоде грануляции и эпителизации.

Полученные результаты. В позднем реактивном периоде у пациентов с криоповреждением уровень MMP-2 в 3,4 раза выше относительно контроля ($p = 0,011$), на 30-е сутки – значения MMP-2 не отличаются от контрольных показателей ($p = 0,103$). Уровень коллагеназы B (MMP-9) у пострадавших с местной холодовой травмой на 5-е сутки в 14,5 раза выше показателей контроля ($p = 0,002$), на 30-е сутки – в 12,5 раза выше относительно группы контроля ($p = 0,000094$).

Заключение. В ходе анализа и обсуждения полученных данных можно думать о двойственной природе коллагеназ в течение воспаления. В ситуации дистресса коллагеназы препятствуют дисфункции эндотелия путём устранения клеточных структур самого эндотелия для обеспечения адекватного обмена веществ в тканях. Однако не исключено их значение и как маркеров срыва адекватного течения reparативных процессов.

Ключевые слова: местная холодовая травма, дисфункция эндотелия, матриксные металлопротеиназы

Для цитирования: Михайличенко М.И., Шаповалов К.Г., Мудров В.А., Груздева О.С. Динамика матриксных металлопротеиназ при местной холодовой травме. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 79-83. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.13

Dynamics of Matrix Metalloproteinases in Local Cold Injury

Mikhailichenko M.I., Shapovalov K.G., Mudrov V.A., Gruzdeva O.S.

Chita State Medical Academy (Gorky str. 39a, 672000 Chita, Russian Federation)

Corresponding author: Maxim I. Mikhailichenko, e-mail: angelo999@yandex.ru

Abstract

The relevance of cold injury is due to its high specific weight in the structure of injuries, complexities of complex therapy, and unsatisfactory results of treatment. It is known that in the pathogenesis of local cold injury, the leading role belongs to endothelial dysfunction, which secretes a huge amount of biologically active substances, including matrix metalloproteinases.

Aim: to determine the dynamics of the content of matrix metalloproteinases of the second subfamily (MMP-2, MMP-9) in the serum of patients with local cold injury.

Materials and methods. The study included 80 patients (60 men, 20 women) with frostbite of the III-IV degree of the foot to the level of the lower third of the leg in the late reactive period and the period of granulation and epithelialization.

Results. In the late reactive period in patients with cryopreservation, the level of MMP-2 was 3.4 times higher relative to the control ($p = 0.011$), on day 30 MMP-2 values did not differ from the control parameters ($p = 0.103$). The level of collagenase B (MMP-9) in patients with local cold injury on day 5 was 14.5 times higher than the control parameters ($p = 0.002$), on day 30 – 12.5 times higher compared to the control group ($p = 0.000094$).

Conclusion. During the analysis of the data obtained, we can think about the dual nature of collagenases during the processes of inflammation. In a situation of distress, collagenases prevent endothelial dysfunction by eliminating the cellular structures of the endothelium to ensure adequate metabolism in tissues. Their importance as markers of failure of adequate flow of reparative processes is not excluded.

Key words: local cold injury, endothelial dysfunction, matrix metalloproteinases

For citation: Mikhailichenko M.I., Shapovalov K.G., Mudrov V.A., Gruzdeva O.S. Dynamics of Matrix Metalloproteinases in Local Cold Injury. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 79-83. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.13

Актуальность местной холодовой травмы (МХТ) в России обусловлена её относительно большим удельным весом в структуре общего травматизма, сложностями комплексной терапии, неудовлетворительными результатами лечения [1, 2]. Частая утрата трудоспособности и высокий уровень инвалидизации требуют дальнейших исследований локальных патогенетических механизмов. Выявление новых маркеров криоповреждения способствует более ранней диагностике глубины поражения тканей, созданию новых подходов к хирургическому лечению глубоких отморожений конечностей и ускоренной реабилитации пострадавших [3, 4].

Последние годы отмечены углублением исследований отечественных и зарубежных авторов по вопросам патогенеза холодовой травмы, ранней диагностике глубины поражения тканей, способов хирургического лечения глубоких отморожений конечностей и реабилитации [1, 4].

Известно, что в патогенезе местной холодовой травмы ведущая роль принадлежит дисфункции эндотелия [2, 4, 5, 6]. Повреждённые холодом и вторичными альтеративными процессами эндотелиоциты, а также привлечённые в очаг воспаления иммунокомпетентные клетки выделяют множество биологически активных веществ, в том числе и матрикные металлопротеиназы (ММП). Данные ферменты относятся к Zn^{2+} и Ca^{2+} зависимым эндопептидазам, участвующим в ремоделировании тканей, путём разрушения её органических компонентов, а также с обменом белков межклеточного матрикса [7, 8]. Секреция ММП происходит под действием цитокинов, выделяемых эндотелиоцитами, макрофагами, тромбоцитами, фибробластами [2, 5, 7]. Особую роль представляют ММП второго подсемейства матриксов. К ним относятся коллагеназы IV типа – желатиназа А (ММР-2) и желатиназа В (ММР-9). Данная группа ММР гидролизует нативный коллаген, меняя его конформацию, что делает невозможным миграцию клеток в ткани для реализации пролиферативных процессов. В связи с этим, исследование динамики уровня ММР у пациентов с МХТ является важным моментом изучения патогенеза криоповреждения.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установить динамику содержания матрикных металлопротеиназ второго подсемейства (ММР-2, ММР-9) в сыворотке крови у пациентов с местной холодовой травмой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включено 80 пациентов (60 мужчин и 20 женщин) с отморожениями III–IV степени стопы до уровня нижней трети голени в позднем реактивном периоде и периоде гранулирования и эпителизации. Средний возраст пациентов составил 43 ± 7 лет. Измерение уровня ММР-2 и ММР-9 выполнялось на 5-е и 30-е сутки с момента получения травмы у одних и тех же пациентов с помощью мультиплексного анализа сыворотки крови набором реагентов фирмы Biomedical. Все пострадавшие находились на стационарном лечении в краевом центре термической травмы на базе городской больницы № 1 г. Читы с местной холодовой травмой дистальных сегментов стоп в период с 2017 по 2018 г.

Контрольную группу составили относительно здоровые люди в возрасте от 27 ± 10 лет ($n = 28$).

Все пациенты и добровольцы, участвовавшие в исследовании, дали на это письменное добровольное информированное согласие; исследование выполнено в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (в ред. 2013 г.)

Из исследования были исключены пациенты с тяжёлой соматической патологией: неспецифическими воспалительными процессами различной локализации, облитерирующими заболеваниями сосудов, поражениями нервов конечностей, сахарным диабетом, гипертонической болезнью, алиментарным истощением, лица с физической алкогольной зависимостью.

Статистический анализ

Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics Version 25.0. Полученные данные представлены в виде медианы, средней величины и доверительного интервала. Учитывая численность контрольной группы менее 50 человек, оценка нормальности распределения признаков проводилась с помощью критерия Шапиро – Уилка. Оценка статистической значимости различий показателей проводилась за счёт сравнения рассчитанного и критического значений критерия Краскела – Уоллиса с последующим определением уровня значимости p . Учитывая выявление различий при сравнении всех исследуемых групп с помощью критерия Краскела – Уоллиса для более точного описания наблюдаемых тенденций использован критерий Манна – Уитни, позволяющий оценить различия показателей при сравнении групп попарно, с применением поправки Бонферрони при оценке значения p .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе полученных данных обращает на себя внимание значительное повышение уровня ММР-2 и ММР-9 у пациентов с МХТ относительно группы контроля в ранние сроки криоповреждения. Необходимо отметить, что уровень ММР-2 снизился до значений контрольной группы, а показатели ММР-9 остались значительно выше нормы в поздние сроки с момента травмы. Этот факт патогенетически обосновывает большое количество поздних осложнений у пациентов с МХТ.

В позднем реактивном периоде у пациентов с криоповреждением уровень ММР-2 в 3,4 раза выше относительно контроля ($p = 0,011$), на 30-е сутки значения ММР-2 не отличаются от контрольных показателей ($p = 0,103$) (табл. 1). Уровень коллагеназы В (ММР-9) у пострадавших с местной холодовой травмой на 5-е сутки в 14,5 раза выше показателей контроля ($p = 0,002$), на 30-е сутки – в 12,5 раза выше относительно группы контроля ($p = 0,000094$) (табл. 1).

Выявленные изменения указывают на резкое повышение содержания коллагеназ второго подсемейства у пациентов с местной холодовой травмой. Обращает на себя внимание тот факт, что статистически значимого снижение ММР-9 не происходит даже в отдалённые сроки с момента травмы. Происходит значительный сбой в ремоделировании клеточного матрикса, репарации тканей и ангиогенезе, хотя не исключается и нетипичное, затяжное течение репаративных процессов.

Ранее проведённые научные исследования у пациентов с деформирующим артрозом (ДОА), направленные на выявления матрикных металлопротеиназ, также

Содержание коллагеназ в крови пациентов с местной холодовой травмой

Table 1

Content of collagenases in blood of patients with local cold trauma

Группа	MMP-2 (нг/мл)	MMP-9 (нг/мл)
Контроль (<i>n</i> = 28)	2,35 ± 0,48 (75% ДИ 2,10–2,64)	31,96 ± 11,40 (75% ДИ 20,95–38,96)
Пострадавшие с МХТ (5-е сутки) (<i>n</i> = 80)	8,10 ± 2,19 (75% ДИ 7,11–8,98) (<i>p</i> = 0,011)	449,63 ± 129,57 (75% ДИ 369,50–483,17) (<i>p</i> = 0,002)
Пострадавшие с МХТ (30-е сутки) (<i>n</i> = 80)	4,60 ± 1,28 (75% ДИ 3,85–4,81) (<i>p</i> = 0,103; <i>p</i> ₁ = 0,169)	338,62 ± 72,66 (75% ДИ 301,00–385,06) (<i>p</i> = 0,000094; <i>p</i> ₁ = 0,456)

Примечание. *p* – статистическая значимость разницы показателей относительно контроля; *p*₁ – статистическая значимость разницы показателей относительно больных с отморожениями в ПРП.

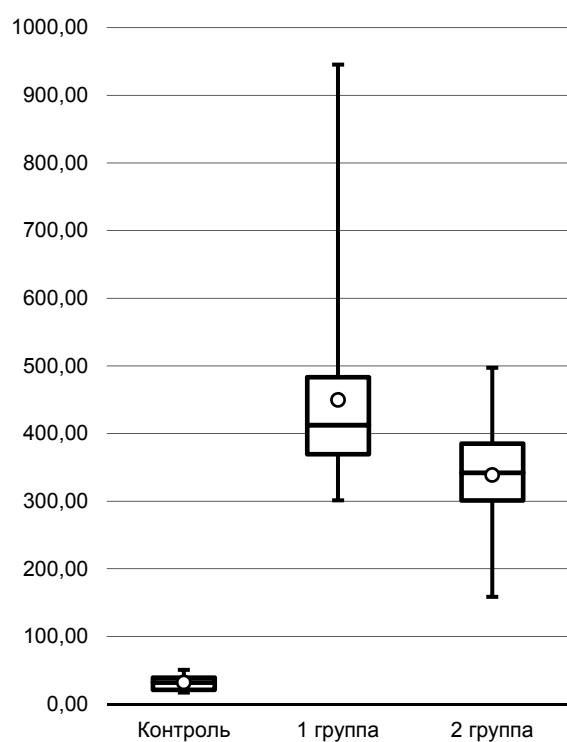


Рис. 1. Значение MMP-9 (нг/мл) в исследуемых группах.

Fig. 1. Value of MMP-9 (ng/ml) in the studied groups.

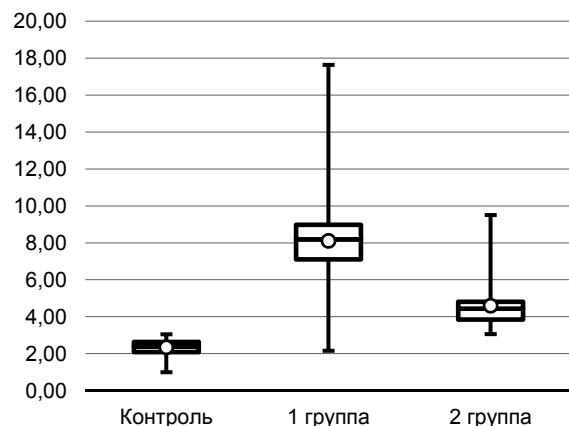


Рис. 2. Значение MMP-2 (нг/мл) в исследуемых группах.

Fig. 2. Value of MMP-2 (ng/ml) in the studied groups.

выявили значительное повышение уровня исследуемых маркеров в сыворотке больных. Учёные пришли к выводу, что коллагеназы – одна из причин затяжного и хронического течения заболевания [9, 10]. Не исключено, что предиктором «хронизации» процессов альтерации у пациентов с МХТ являются именно коллагеназы. Это подтверждает и значительное количество неблагоприятных исходов травмы у пострадавших. По мнению многих авторов, осложнения наблюдаются у большинства больных с местной холодовой травмой [1, 6, 7].

Кроме того, MMP-2 наряду с некоторыми другими MMPs, могут ингибировать ангиогенез. Это связывают с их способностью образовывать антиангиогенные полипептиды путём превращения плазминогена в ангиостатин, который угнетает пролиферацию и усиливает апоптоз клеток эндотелия [10, 11]. Факт угнетения микроциркуляции подтверждён нашими более ранними исследованиями у пациентов с МХТ [4, 6, 7]. Установлено, что MMP-2 имеет значительный ингибиторный эффект в отношении воспаления путём процессинга большинства хемокинов, в частности, провоспалительных интерлейкинов. Возможно, ингибирующее действие MMP-2 связано с нарастающей дисфункцией эндотелия и формированием значительного количества неблагоприятных цепных реакций, формируется своего рода защитная реакция организма на нарастающее перифокальное воспаление [7].

Известно, что уровень IL-1, IL-8, IL-12 и TNF α повышен во все периоды МХТ [5, 6]. Однако в поздние периоды местной холодовой травмы уровень провоспалительных цитокинов снижается, но по-прежнему остаётся статистически значимо выше нормальных значений. При этом уровень MMP-9 остаётся стабильно высоким у пациентов даже в отдалённые периоды криоповреждения. Синтез этой коллагеназы происходит в основном в макрофагах и тромбоцитах, реализующих свои функции в интерстициальном пространстве [10, 12]. При этом одной из особенностей MMP-9 является хемотаксис фибробластов в межклеточное пространство для реализации процессов репарации [13, 14, 15]. С другой стороны, MMP-9 провоцирует десмоплазию коллагена [16, 17]. Ремоделирование коллагена в очаге поражения способствует дискоординации пролиферации и, как следствие, затяжному и неблагоприятному течению раневого процесса.

Также сравнительно недавно Lopez-Rivera E. et al. указали, что некоторые виды MMP располагаются на плазматической мемbrane эндотелиальных клеток, а оксид азота (NO) способствует их высвобождению с по-

следующим ремоделированием соединительной ткани [10]. Известно, что уровень NO понижен во все периоды местной холодовой травмы [7]. В настоящее время NO позиционируется как важнейший эндотелиальный вазодилататор и признан компенсаторным механизмом патологической вазоконстрикции у пациентов с местной холодовой травмой [4]. Биологические эффекты нитроксида азота связаны с вазодилатацией, супрессией агрегации тромбоцитов, и провоспалительной активности некоторых клеток [8, 18]. Возможно, в ситуации дистресса коллагеназы препятствуют дисфункции эндотелия путём устранения клеточных структур самого эндотелия для обеспечения адекватного обмена веществ в тканях. Однако не исключено их значение и как маркеров срыва адекватного течения reparативных процессов

ВЫВОДЫ

1. Выявлено, что при глубоких отморожениях конечностей в крови пациентов возрастает уровень матриксных металлопротеиназ.
2. Установлено, что у пострадавших с местной холодовой травмой в позднем реактивном периоде (5-е сутки) уровень MMP-2 в 3,4 раза выше, MMP-9 – в 14,5 раза выше относительно контрольной группы.
3. Выявлено, что на 30-е сутки с момента криотравмы концентрация в крови MMP-2 не отличается от значений контроля, а уровень MMP-9 остаётся повышенным.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Николаев В.М., Алексеев Р.З., Федорова С.А. Интенсивность свободнорадикального окисления липидов в организме больных холодовой травмой. *Якутский медицинский журнал*. 2018; (2): 34-38. doi: 10.25789/ YMJ.2018.62.11
2. Целуйко С.С., Заболотских Т.В., Дудариков С.А., Красавина Н.П., Корнеева Л.С. Действие холода на организм. Криопротекторы и средства противоишемической защиты тканей. *Якутский медицинский журнал*. 2018; (2): 48-55. doi: 10.25789/ YMJ.2018.62.15
3. Васина Л.В., Власов Т.Д., Петрищев Н.Н. Функциональная гетерогенность эндотелия (обзор). *Артериальная гипертензия*. 2017; 23(2): 88-102. doi: 10.18705/1607-419X-2017-23-2-88-102
4. Шаповалов К.Г., Сизоненко В.А., Бурдинский Е.Н. Изменения компонентов сосудистого тонуса и показателей микроциркуляции при отморожении нижних конечностей. *Вестник хирургии им. И.И. Грекова*. 2008; 167(3): 67-68.
5. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Патогенетическое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии. *Медицинская иммунология*. 2006; 8(5-6): 745-753. doi: 10.15789/1563-0625-2006-5-6-745-753
6. Шаповалов К.Г., Томина Е.А., Михайличенко М.И., Иванов В.А., Витковский Ю.А. Содержание цитокинов в крови больных при местной холодовой травме. *Медицинская иммунология*. 2008; 10(1): 89-92. doi: 10.15789/1563-0625-2008-1-89-92
7. Шаповалов К.Г., Сизоненко В.А., Томина Е.А., Витковский Ю.А. Эндотелиальная секреция вазоактивных молекул при холодовой травме конечностей. *Травматология и ортопедия России*. 2008; (2): 53-56.
8. Xue M, March L, Sambrook PN, Jackson CJ. Differential regulation of matrix metalloproteinase 2 and matrix metalloproteinase 9 by activated protein C relevance to inflammation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatism*. 2007; 56(9): 2864-2874. doi: 10.1002/art.22844
9. Kingma CF, Hofman II, Daanen HAM. Relation between finger cold-induced vasodilation and rewarming speed after cold exposure. *Eur J Appl Physiol*. 2019; 119(1): 171-180. doi: 10.1007/s00421-018-4012-y
10. López-Rivera E, Lizarbe TR, Martínez-Moreno M, López-Novoa JM, Rodríguez-Barbero A, Rodrigo J, et al. Matrix metalloproteinase 13 mediates nitric oxide activation of endothelial cell migration. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; 102(10): 3685-3690. doi: 10.1073/pnas.0408217102
11. Pino M, Galleguillos C, Torres M, Sovino H, Fuentes A, Boeric MA, et al. Association between MMP1 and MMP9 activities and ICAM1 cleavage induced by tumor necrosis factor in stromal cell cultures from eutopic endometria of women with endometriosis. *Reproduction*. 2009; 138(5): 837-847. doi: 10.1530/REP-09-0196
12. Pan Y, Thapa D, Baldissera LJr, Argunhan F, Aubdool AA, Brain SD. Relevance of TRPA1 and TRPM8 channels as vascular sensors of cold in the cutaneous microvasculature. *Pflugers Arch*. 2018; 470(5): 779-786. doi: 10.1007/s00424-017-2085-9
13. Gilabert-Estellés J, Ramón LA, España F, Gilabert J, Vila V, Réganón E, et al. Expression of angiogenic factors in endometriosis: relationship to fibrinolytic and metalloproteinase systems. *Human Reproduction*. 2007; 22(8): 2120-2127. doi: 10.1093/humrep/dem149
14. Miao MS, Xiang LL, Bai M, Cao LH. Frostbite animal model preparation specification (draft). *Zhongguo ZhongYao ZaZhi*. 2018; 43(2): 410-414. doi: 10.19540/j.cnki.cjcm.20171027.010
15. Rajendran P, Rengarajan I, Thangavel J, Nishigaki Y, Sakthisekaran D, Sethi G, Nishigaki I. The vascular endothelium and human diseases. *Int J Biol Sci*. 2013; 9(10): 1057-1069. doi: 10.7150/ijbs.7502
16. Zhang H, Chang M, Hansen CN, Basso DM, Noble-Haeuslein LJ. Role of matrix metalloproteinases and therapeutic benefits of their inhibition in spinal cord injury. *Neurotherapeutics*. 2011; 8(2): 206-220. doi: 10.1007/s13311-011-0038-0
17. Franko OL, Stern PJ. Use and effectiveness of ethyl chloride for hand injections. *J Hand Surg Am*. 2017; 42(3): 175-181.e1. doi: 10.1016/j.jhsa.2016.12.013.
18. Cauchy E, Davis CB, Pasquier M, Meyer EF, Hackett PH. A new proposal for management of severe frostbite in the austere environment. *Wilderness Environ Med*. 2016; 27(1): 92-99. doi: 10.1016/j.wem.2015.11.014

REFERENCES

1. Nikolaev VM, Alekseev RZ, Fedorova SA. Intensity of free radical oxidation of lipids in the body of patients with cold trauma. *Yakut Medical Journal*. 2018; (2): 34-38. doi 10.25789/ YMJ.2018.62.11. (In Russ.)
2. Tselyukov SS, Zabolotskikh TV, Dudarikov SA, Krasavina NP, Korneeva LS. The effect of cold on the body. Cryoprotectants and means of anti-ischemic protection of fabrics. *Yakut medical journal*. 2018; (2): 48-55. doi: 10.25789/ YMJ.2018.62.15. (In Russ.)
3. Vasina LV, Vlasov TD, Petrishchev NN. Functional heterogeneity of the endothelium (review). *Arterial'naya gipertensiya*. 2017; 23(2): 88-102. doi: 10.18705/1607-419X-2017-23-2-88-102. (In Russ.)
4. Shapovalov KG, Sizonenko VA, Burdinskiy EN. Changes in components of the vascular tone and microcirculation indices in frostbites of lower extremities. *Vestnik khirurgii im. I.I. Grekova*. 2008; 167(3): 67-68. (In Russ.)
5. Vitkovskiy YuA, Kuznik BI, Solpov AV. Pathogenetic significance of lymphocyte-platelet adhesion. *Meditinskaya immunologiya*. 2006; 8(5-6): 745-753. doi: 10.15789/1563-0625-2006-5-6-745-753 (In Russ.)
6. Shapovalov KG, Tomina EA, Mikhailichenko MI, Ivanov VA, Vitkovskiy YuA. Content of cytokines in blood of the patients with local cold injury. *Meditinskaya immunologiya*. 2008; 10(1): 89-92. (In Russ.)
7. Shapovalov KG, Sizonenko VA, Tomina EA, Vitkovskiy YuA. Endothelial secretion of vasoactive molecules in cold extremity injury. *Travmatologiya i ortopediya Rossii*. 2008; (2): 53-56. (In Russ.)
8. Xue M, March L, Sambrook PN, Jackson CJ. Differential regulation of matrix metalloproteinase 2 and matrix metallo-

- proteinase 9 by activated protein C relevance to inflammation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheumatism*. 2007; 56(9): 2864-2874. doi: 10.1002/art.22844
9. Kingma CF, Hofman II, Daanen HAM. Relation between finger cold-induced vasodilation and rewarming speed after cold exposure. *Eur J Appl Physiol*. 2019; 119(1): 171-180. doi: 10.1007/s00421-018-4012-y
10. López-Rivera E, Lizarbe TR, Martínez-Moreno M, López-Novoa JM, Rodríguez-Barbero A, Rodrigo J, et al. Matrix metalloproteinase 13 mediates nitric oxide activation of endothelial cell migration. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; 102(10): 3685-3690. doi: 10.1073/pnas.0408217102
11. Pino M, Galleguillos C, Torres M, Sovino H, Fuentes A, Boric MA, et al. Association between MMP1 and MMP9 activities and ICAM1 cleavage induced by tumor necrosis factor in stromal cell cultures from eutopic endometria of women with endometriosis. *Reproduction*. 2009; 138(5): 837-847. doi: 10.1530/REP-09-0196
12. Pan Y, Thapa D, Baldissera LJr, Argunhan F, Aubdool AA, Brain SD. Relevance of TRPA1 and TRPM8 channels as vascular sensors of cold in the cutaneous microvasculature. *Pflugers Arch*. 2018; 470(5): 779-786. doi: 10.1007/s00424-017-2085-9
13. Gilabert-Estellés J, Ramón LA, España F, Gilabert J, Vila V, Réganon E, et al. Expression of angiogenic factors in endometriosis: relationship to fibrinolytic and metalloproteinase systems. *Human Reproduction*. 2007; 22(8): 2120-2127. doi: 10.1093/humrep/dem149
14. Miao MS, Xiang LL, Bai M, Cao LH. Frostbite animal model preparation specification (draft). *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2018; 43(2): 410-414. doi: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20171027.010
15. Rajendran P, Rengarajan I, Thangavel J, Nishigaki Y, Sakthisekaran D, Sethi G, Nishigaki I. The vascular endothelium and human diseases. *Int J Biol Sci*. 2013; 9(10): 1057-1069. doi: 10.7150/ijbs.7502
16. Zhang H, Chang M, Hansen CN, Basso DM, Noble-Haeuslein LJ. Role of matrix metalloproteinases and therapeutic benefits of their inhibition in spinal cord injury. *Neurotherapeutics*. 2011; 8(2): 206-220. doi: 10.1007/s13311-011-0038-0
17. Franko Ol, Stern PJ. Use and effectiveness of ethyl chloride for hand injections. *J Hand Surg Am*. 2017; 42(3): 175-181.e1. doi: 10.1016/j.jhsa.2016.12.013.
18. Cauchy E, Davis CB, Pasquier M, Meyer EF, Hackett PH. A new proposal for management of severe frostbite in the austere environment. *Wilderness Environ Med*. 2016; 27(1): 92-99. doi: 10.1016/j.wem.2015.11.014

Сведения об авторах

- Михайличенко Максим Игоревич** – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры факультетской хирургии с курсом урологии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: angel0999@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8660-2982>
- Шаповалов Константин Геннадьевич** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: shkg26@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3485-5176>
- Мудров Виктор Андреевич** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии лечебного и стоматологического факультета, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: mudrov_viktor@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5961-5400>
- Груздева Ольга Сергеевна** – ассистент кафедры патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: lolgas18@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1738-0850>

Information about the authors

- Maxim I. Mikhailichenko** – Cand. Sc. (Med.), Teaching Assistant at the Department of Departmental Surgery with the Course of Urology, Chita State Medical Academy, e-mail: angel0999@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8660-2982>
- Konstantin G. Shapovalov** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Anesthesiology and Intensive Care, Chita State Medical Academy, e-mail: shkg26@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3485-5176>
- Viktor A. Mudrov** – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology, Chita State Medical Academy, e-mail: mudrov_viktor@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5961-5400>
- Olga S. Gruzdeva** – Teaching Assistant at the Department of Pathological Anatomy, Chita State Medical Academy, e-mail: lolgas18@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1738-0850>

Статья получена: 09.04.2019. Статья принята: 24.06.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 09.04.2019. Accepted: 24.06.2019. Published: 26.10.2019.

Оценка состояния клеточных мембран на фоне длительного применения антицитокиновой терапии у пациентов с язвенным колитом

Чашкова Е.Ю.^{1,2}, Коротаева Н.С.^{1,2}, Кузнецова Э.Э.¹, Горохова В.Г.¹, Соболева Э.В.²

¹ ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия);

² ГБУЗ Иркутская ордена «Знак Почёта» областная клиническая больница (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Чашкова Елена Юрьевна, e-mail: elenachash1027@yandex.ru

Резюме

Биологическая терапия в лечении иммуноопосредованных состояний изменила их течение, качество жизни пациентов и прогноз заболеваний. Накопленный человечеством 20-летний опыт применения генетически-инженерных препаратов привёл к возникновению ряда вопросов, касающихся, в том числе, безопасности при длительном назначении биологической терапии. У пациентов, страдающих язвенным колитом, выявлены изменения клеточных мембран, отражающих их структурные и энергетические характеристики. Долгосрочное назначение инфликсимаба приводит к стабилизации энергетических процессов в мембране эритроцитов и улучшает гомеостатическую функцию почек.

Цель исследования: оценить влияние длительного применения блокаторов TNF- α (инфликсимаб) на структурно-функциональные характеристики клеточных мембран и функциональное состояние почек у пациентов со среднетяжёлым и тяжёлым течением язвенного колита.

Материалы и методы. Обследовано 103 пациента со среднетяжёлым и тяжёлым течением язвенного колита в период острой атаки и ремиссии, из них 28 пациентов получали базисную терапию с применением препарата инфликсимаб (IFX) в течение 10 лет, 75 пациентов получали стандартное базисное лечение. Пациенты группы биологической терапии принимали оригинальный препарат инфликсимаба – ремикейд. Группа сравнения состояла из 30 здоровых волонтёров, сопоставимых по полу и возрасту.

Анализ состояния мембран эритроцитарного звена проводили с использованием комплекса физико-химических методов: УФ-спектроскопии (спектрофотометр СФ-46м), высокоэффективной тонкослойной реакционной бумажной хроматографии, мембранный ультрафильтрации, ЯМР-спектроскопии эритроцитов на фосфорных (^{31}P) и протонных (1H) ядрах. Функциональное состояние почек оценивали с помощью динамического сцинтиграфического исследования (с технегамом $-Tc-99m$).

Результаты. Длительное применение антицитокиновой терапии препаратом инфликсимаб в течение 10 лет у пациентов с язвенным колитом при достижении глубокой ремиссии способствует улучшению показателей эндогенной интоксикации, восстановлению структурно-функциональных характеристик клеточных мембран, нормализации энергообмена клетки и не имеет отрицательного влияния на функциональное состояние почек.

Ключевые слова: язвенный колит, антицитокиновая терапия, блокаторы TNF- α , клеточные мембранны

Для цитирования: Чашкова Е.Ю., Коротаева Н.С., Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г., Соболева Э.В. Оценка состояния клеточных мембран на фоне длительного применения антицитокиновой терапии у пациентов с язвенным колитом. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 84-90. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.14

Assessment of the State of Cell Membranes against the Background of Prolonged Use of Anticytokine Therapy in Patients with Ulcerative Colitis

Chashkova E.Yu.^{1,2}, Korotayeva N.S.^{1,2}, Kuznetsova E.E.¹, Gorokhova V.G.¹, Soboleva E.V.²

¹ Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, 664003 Irkutsk, Russian Federation); ² Irkutsk

Regional Clinical Hospital (Yubileyniy 100, 664049 Irkutsk, Russian Federation)

Corresponding author: Elena Yu. Chashkova, e-mail: elenachash1027@yandex.ru

Abstract

Biological therapy in the treatment of immune-mediated conditions has changed their course, the quality of life of patients and the prognosis of diseases. The accumulated by mankind 20 years of experience with the use of genetically engineered drugs has led to a number of questions regarding, among other issues, safety in the long-term administration of biological therapy. Patients suffering from ulcerative colitis revealed changes in cell membranes, reflecting their structural and energy characteristics. Long-term administration of Infliximab leads to the stabilization of energy processes in the erythrocyte membrane and improves homeostatic function of the kidneys.

The aim of the study was to evaluate the effect of long-term use of TNF- α blockers (Infliximab) on the structural and functional characteristics of cell membranes and the functional state of the kidneys in patients with moderate to severe ulcerative colitis.

Materials and methods. We examined 103 patients with moderate to severe ulcerative colitis during the period of acute attack and remission, of which 28 patients received basic therapy using the drug Infliximab (IFX) for 10 years, 75 patients received standard basic treatment. The patients of the biological therapy group took the original drug Infliximab – Remicade. The comparison group consisted of 30 healthy volunteers, comparable by sex and age.

The analysis of the state of erythrocyte membranes was carried out using a set of physicochemical methods: UV spectroscopy (SF-46m spectrophotometer), high-performance thin-layer reaction paper chromatography, membrane

ultrafiltration, erythrocyte NMR spectroscopy on phosphoric (^{31}P) and proton (1H) nuclei. The functional state of the kidneys was evaluated using a dynamic scintigraphic study (with the technemage -Tc-99m).

Results. Prolonged use of anticytokine therapy with Infliximab for 10 years in patients with ulcerative colitis, upon reaching deep remission, improves endogenous intoxication, restores the structural and functional characteristics of cell membranes, normalizes cell energy metabolism and does not negatively affect the functional state of the kidneys.

Key words: ulcerative colitis, anticytokine therapy, TNF- α blockers, cell membranes

For citation: Chashkova E.Yu., Korotayeva N.S., Kuznetsova E.E., Gorokhova V.G., Soboleva E.V. Assessment of the State of Cell Membranes against the Background of Prolonged Use of Anticytokine Therapy in Patients with Ulcerative Colitis. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 84-90. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.14

ВВЕДЕНИЕ

Язвенный колит (ЯК) – хроническое иммунное заболевание толстой кишки, сопровождающееся деструктивными изменениями её слизистой оболочки, развитием внекишечных и системных проявлений. Сложный каскад иммунновоспалительных реакций обуславливает повреждение клеточных мембран с развитием синдрома эндогенной интоксикации и нарушением функции печени и почек [1]. С внедрением новых медицинских технологий, в частности применение генно-инженерных биологических препаратов, оказывающих действие на определённые провоспалительные цитокины, появилась возможность изменять поведение болезни [2]. На сегодняшний день данные по безопасности длительного применения биологических агентов единичны и противоречивы, не определены возможные максимальные сроки лечения биологическими препаратами. Имеющиеся работы посвящены оценке длительности безрецидивного течения язвенного колита после отмены антицитокиновой терапии и выявлению предикторов рецидива заболевания [3–7]. Одной из нерешённых проблем применения блокаторов TNF- α остаётся вопрос безопасности их длительного назначения.

В России биологические препараты зарегистрированы с 2001 г., первыми пациентами оказались больные ревматологического профиля, лечение пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника начато с 2006 г. Один из первых центров антицитокиновой терапии (АЦТ) воспалительных заболеваний кишечника открыли в г. Иркутске, 26 марта 2006 г. провели инфузию инфликсимаба 22-летней пациентке с болезнью Крона.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить влияние долгосрочного применения блокаторов TNF- α (инфликсимаб) на структурно-функциональные характеристики клеточных мембран и функциональное состояние почек у пациентов со среднетяжёлым и тяжёлым течением язвенного колита.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 103 пациента со среднетяжёлым и тяжёлым течением язвенного колита: Группа пациентов биологической терапии составила 28 человек; пациентов, получающих только стандартное базисное лечение (5-АСК, месалазины, глюкокортикоидные гормоны, иммунодепрессанты) – 75 чел. Инфузии IFX проводили стандартно, согласно утверждённой инструкции, дозу рассчитывали 5 мг на килограмм веса пациента, с индукционным курсом 0–2–6-я неделя и далее каждые 8 недель, специально подготовленным персоналом в оснащённом для АЦТ кабинете. Среднее количество инфузий – $26 \pm 5,4$ (мин – 8 инфузий – 1 год лечения; max – 45 инфузий – более 8 лет). Соотношение мужчин и жен-

щин – 1 : 1,9, средний возраст – $34,5 \pm 1,3$ года (18–75 лет). Группа сравнения составила 30 здоровых волонтёров.

Состояние эритроцитарного звена оценивали с использованием комплекса физико-химических методов: УФ-спектроскопии крови (спектрофотометр СФ-46м), высокоэффективной тонкослойной реакционной бумажной хроматографии, мембранный ультрафильтрации [8]. ЯМР-спектроскопию эритроцитов на фосфорных (^{31}P) и протонных (1H) ядрах (DRX-500, Bruker), позволяющих идентифицировать конкретные области повреждения мембраны. Основные фосфорные ядра: неорганический фосфат (НФ), монофосфат (МФ), 2,3-дифосфоглицерат (2,3-ДФГ), α -, β - и γ -аденозинтрифосфаты (α -АТФ, β -АТФ, γ -АТФ) характеризуют метаболические и энергетические процессы в клетке [9]. Для оценки функционального состояния почек проводилось динамическое сцинтиграфическое исследование (с технемагом Tc-99m), с определением эффективного почечного плазмотока [10].

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью программы Statistica for Windows 10.0. Использовали непараметрические критерии Манна – Уитни (p_u) и Вилкоксона (p_w). Полученные данные представлены в виде медианы с нижним и верхним квартилями (25-й и 75-й процентили). Для корреляционной оценки использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведён сравнительный анализ показателей эндогенной интоксикации у пациентов с ЯК, получающих антицитокиновую терапию, и пациентов, получающих стандартное лечение, до начала терапии и в процессе лечения. В обеих группах до начала проведения лечения отмечается статистически значимое повышение уровня катаболического пула плазмы крови и индекса эндогенной интоксикации, но уровень общего метаболического пула плазмы крови не превышал значения группы сравнения (табл. 1).

Уровень суммарного метаболического пула в суспензии эритроцитов (табл. 2), до начала и на фоне проводимой терапии, статистически значимо превышал таковой в группе сравнения, в отличие от общего метаболического пула плазмы, что свидетельствует о перераспределении веществ средней и низкой молекулярной массы между плазмой и эритроцитами с преимущественным накоплением их на цитоплазматической мемbrane эритроцитов.

Повышенный уровень окисленных форм адениловых нуклеотидов в крови характеризует нарушение процессов окислительного фосфорилирования в клетках, возможно, как результат резорбции этих соединений из поражённой кишки и накоплении окисленных продуктов на мембране эритроцитов [11].

Таблица 1
Показатели общего метаболического пула плазмы крови пациентов в группе АЦТ и группе стандартной терапии
Table 1
Indicators of the total metabolic pool of blood plasma of patients in the ACT group and the standard therapy group

Показатели синдрома эндогенной интоксикации	Группа антицитокиновой терапии (n = 28)			Группа стандартной терапии (n = 75)		Группа сравнения (n = 30)
	До лечения	АЦТ, индукционный курс	АЦТ (8–10 лет)	До лечения	На фоне лечения	
Общий метаболический пул (у. е.)	6,86 (5,83–8,32)	6,86 (5,41–10,11)	6,57 (4,96–8,97)	8,02 (6,03–9,98)	7,64 (5,75–9,48)	6,91 (6,06–8,03)
Катаболический пул (у. е.)	2,40 (1,69–2,55) *	1,85 (1,54–2,26) #	1,29 (0,80–2,05) #	2,48 (2,06–3,40) *	2,37 (1,86–3,03)	1,8 (1,52–2,23)
Индекс интоксикации (%)	29,82 (25,01–39,37) *	28,97 (24,21–33,32) *	21,91 (16,91–24,17) #	33,52 (27,65–38,99) *	31,15 (27,52–38,44)	25,81 (23,94–27,89)

Примечание. * – p < 0,05 при сравнении групп пациентов с группой сравнения по критерию Манна – Уитни; # – p < 0,05 при сравнении групп пациентов до лечения и в процессе лечения по критерию Вилкоксона.

Таблица 2
Показатели метаболического пула суспензии эритроцитов пациентов в группе АЦТ и группе стандартной терапии
Table 2
Indicators of the metabolic pool of a suspension of red blood cells of patients in the ACT group and the standard therapy group

Показатель синдрома эндогенной интоксикации	Группа антицитокиновой терапии (n = 28)			Группа стандартной терапии (n = 75)		Группа сравнения (n = 30)
	До лечения	АЦТ, индукционный курс	АЦТ 8–10 лет	До лечения	На фоне лечения	
Суммарный метаболический пул (у. е.)	5,00 (4,47–6,26)*	4,64 (3,67–5,89)*	2,79 (2,04–4,69) #	5,28 (3,66–6,72) *	5,10 (2,86–5,89)*	1,52 (0,93–4,56)
Окисленные адениловые нуклеотиды (у. е.)	0,248 (0,085–0,402)*	0,396 (0,248–0,537)	0,043 (0,010–0,071) #	0,176 (0,083–0,348)*	0,170 (0,059–0,312)*	0,053 (0,027–0,139)

Примечание. * – p < 0,05 при сравнении групп пациентов с группой сравнения по критерию Манна – Уитни; # – p < 0,05 при сравнении групп пациентов.

На фоне проведения стандартного лечения и терапии инфликсимабом после индукционного курса отмечается снижение показателей эндогенной интоксикации, но статистически значимое снижение отмечено только на фоне длительного применения поддерживающего курса АЦТ (табл. 1, 2).

Функциональная активность белковой части мембраны зависит от того, в какой форме организации находится липиды. Бислой не является единственной возможной организацией липидов в мембранах. В биологических мембранах могут присутствовать участки небислойной структуры подобно типам внутримембранных частиц «липидной природы», оказывающие влияние на функциональную активность мембран. Многие основные фосфолипиды мембранны могут образовывать агрегаты не только ламеллярной (бислойной) структуры, но и гексагональной с многослойными включениями. Присутствие в мембране локальных участков гексагональной фазы оказывает заметный эффект на процессы слияния мембранны, трансбислойное движение фосфолипидов, эндо- и экзоцитоз [12, 13].

Проведя анализ полученных данных (¹Н) ЯМР-спектрограмм на водородных ядрах, спектры распределили по молекулярной организации липидного бислоя на 4 типа: с преобладанием ламеллярной фазы, с преобладанием гексагональной фазы, с 50–60%-м содержанием фосфотидилхолина от общего содержания липидов, с содержанием фосфотидилхолина до 90%.

В период активного воспаления в обеих группах пациентов (как в группе АЦТ, так и группе стандартного

лечения) отмечалось преобладание гексагональной фазы организации клеточных мембран – 67,5 и 72,4 % (против 0 % в группе сравнения) и значимое снижение процентного соотношения в этих группах ламеллярной фазы организации – 12,5 и 6,9 % (против 58,3 % в группе сравнения), что свидетельствует о деструктивных изменениях в мембране эритроцита (рис. 1).

На фоне проводимого лечения в группе АЦТ по сравнению с группой стандартной терапии отмечено статистически значимое восстановление ламеллярной составляющей организации мембран – с 12,5 до 50 % и статистически значимое снижение процентного соотношения гексагональной фазы – с 67,5 до 25 %. Увеличение процентного содержания фосфотидилхолина в мембранах эритроцитов (с 5 до 15 %) у пациентов, получающих АЦТ, свидетельствует о процессах восстановления липидной компоненты клеточной мембраны и их функциональной активности на фоне применения биологической терапии.

Одним из основных условий нормальной жизнедеятельности эритроцита является поддержание и стабилизация внутриклеточного уровня макроэргов [14]. Значимые различия энергетического состояния клетки получены при оценке ЯМР-спектроскопии эритроцитов на фосфорных (³¹P) ядрах (табл. 3).

У пациентов в обеих группах по данным ³¹P ЯМР-спектроскопии выявлено статистически значимое снижение уровня α-АТФ (АТФ), β-АТФ (АДФ), γ-АТФ (АМФ) и суммарного АТФ (Σ АТФ) по сравнению с группой практически здоровых волонтёров. Изменение

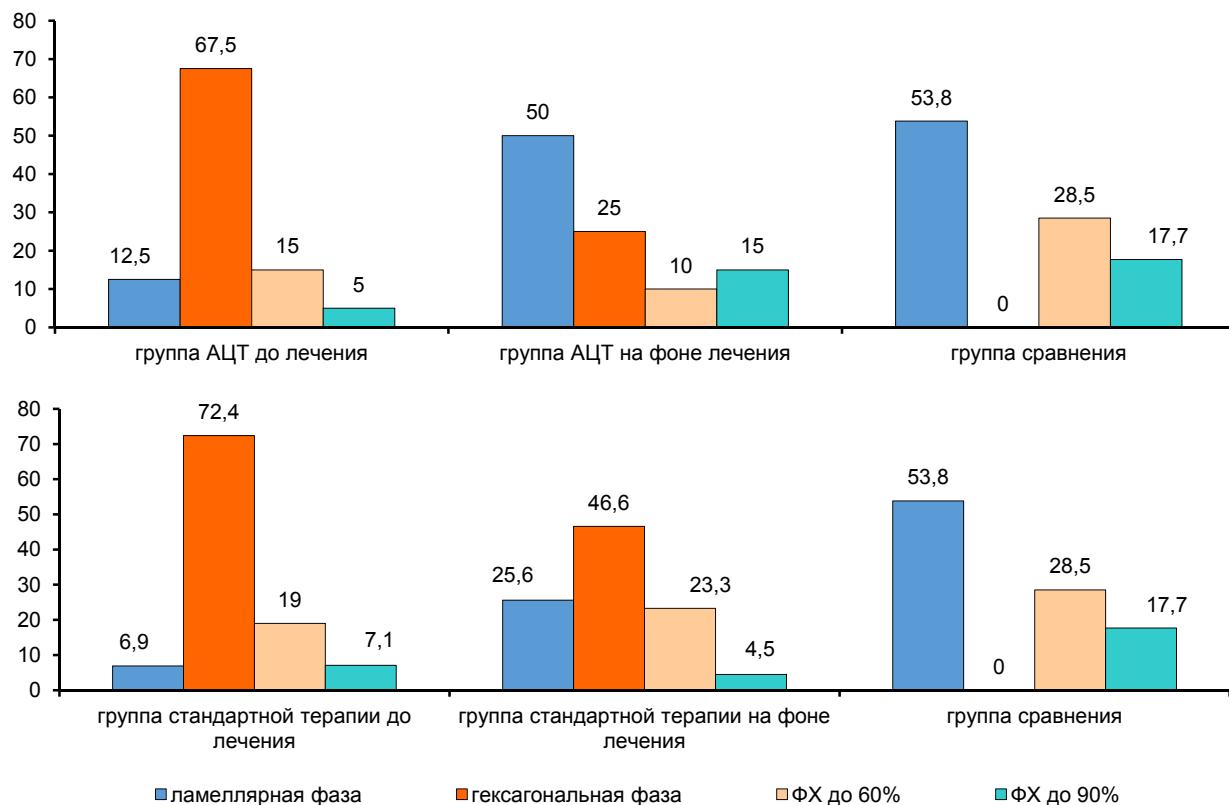


Рис. 1. Распределение типов водородного спектра эритроцитов в группах пациентов и группе сравнения.

Fig. 1. Distribution of types of the red spectrum of the red blood cells in the patient groups and the comparison group.

Показатели ^{31}P ЯМР-спектра эритроцитов у пациентов и группы сравнения

Indicators of ^{31}P NMR spectrum of red blood cells in patients and comparison groups

Таблица 3

Table 3

Показатели макроэргов клетки	Группа антицитокиновой терапии (n = 28)		Группа стандартной терапии (n = 75)		Группа сравнения (n = 30)
	До лечения	На фоне инфузий	До лечения	На фоне лечения	
НФ (%)	14,81 (11,00–17,54)*	12,65 (11,13–13,89)*	13,37 (10,72–16,76)	14,04 (11,08–15,79)*	12,31 (11,00–12,76)
2,3-ДФГ (%)	53,86 (50,61–55,37)*	57,79 (53,65–59,13)*	55,05 (50,47–59,13)	54,57 (49,27–58,61)	55,00 (54,35–56,64)
МФ (%)	2,65 (2,18–3,02)	2,59 (2,29–2,90)	2,36 (1,90–2,81)	2,35 (2,02–2,93)	2,36 (2,15–2,57)
α -АТФ (АТФ) (%)	13,08 (12,88–13,76)*	14,28 (13,76–14,51)*	13,54 (12,38–14,87)	13,96 (12,33–15,48)	14,09 (13,79–14,51)
β -АТФ (АДФ) (%)	4,62 (3,30–5,32)*	4,78 (3,68–6,04)*	5,39 (4,44–6,40)*	5,58 (4,83–6,36)*	6,00 (5,68–6,21)
γ -АТФ (АМФ) (%)	8,82 (8,18–9,12)*	8,56 (7,47–9,79)*	9,26 (8,17–10,13)*	9,25 (8,29–10,66)*	9,70 (9,40–10,69)
Σ АТФ (%)	26,91 (23,81–29,05)*	29,99 (26,67–30,57)*	28,71 (25,58–31,19)*	29,37 (26,24–32,59)	30,00 (29,64–31,72)
Энергетический заряд (е)	0,586 (0,574–0,598)*	0,594 (0,582–0,605)*	0,579 (0,568–0,588)	0,573 (0,568–0,582)*	0,572 (0,556–0,584)

Примечание. *—p < 0,05 при сравнении групп пациентов с группой сравнения по критерию Манна – Уитни; ■—p < 0,05 при сравнении групп пациентов между собой по критерию Манна – Уитни; ▲—p < 0,05 при сравнении групп пациентов до лечения и в процессе лечения по критерию Вилкоксона.

содержания пула аденилатов свидетельствует о дисбалансе окислительно-восстановительных процессов в клетке и, как следствие, изменении энергетического заряда эритроцита. По данным Ф.И. Атауллаханова, варьирование и разброс концентраций АТФ и связанное с ним изменение пула аденилатов в клетке возникает не случайно, а вследствие дополнительной регуляции ионных насосов, направленных на стабилизацию кле-

точного объёма (т. к. окислительный стресс приводит к росту проницаемости клеточной мембраны эритроцита) [15, 16].

При оценке показателей энергетического обмена клетки у пациентов с тяжёлым течением ЯК на фоне применения инфликсимаба отмечена тенденция к восстановлению показателей энергообмена в мемbrane эритроцита (статистически значимое снижение уровня

Таблица 4
Результаты динамической гамма-сцинтиграфии почек в группе АЦТ до начала проведения инфузий инфликсимаба и на фоне инфузий

Table 4
Results of dynamic gamma-scintigraphy of kidneys in the ACT group before infliximab infusions and during infusions

	Левая почка				Правая почка			
	Экскрет. функция до АЦТ (n = 28)	Экскрет. функция на фоне АЦТ (n = 28)	Секрет. функция до АЦТ (n = 28)	Секрет. функция на фоне АЦТ (n = 28)	Экскрет. функция до АЦТ (n = 28)	Экскрет. функция на фоне АЦТ (n = 28)	Секрет. функция до АЦТ (n = 28)	Секрет. функция на фоне АЦТ (n = 28)
Нарушений не выявлено	10,7 % (3)	41,4 % (12)	35,7 % (10)	62,1 % (18)	17,9 % (5)	34,5 % (10)	34,5 % (10)	48,3 % (14)
Незначительные нарушения	0 % (0)	6,9 % (2)	0 % (0)	17,2 % (5)	17,9 % (5)	6,9 % (2)	6,9 % (2)	20,7 % (6)
Умеренно выраженные нарушения	25 % (7)	41,4 % (12)	28,6 % (8)	20,7 % (6)	10,7 % (3)	44,8 % (13)	44,8 % (13)	20,7 % (6)
Выраженные нарушения	35,7 % (10)	10,3 % (3)	7,1 % (2)	0 % (0)	28,6 % (8)	13,8 % (4)	13,8 % (4)	10,3 % (3)
Резко выраженные нарушения	28,6 % (8)	0 % (0)	28,6 % (8)	0 % (0)	25 % (7)	0 % (0)	0 % (0)	0 % (0)

Таблица 5
Показатели динамической гамма-сцинтиграфии почек

Table 5
Indicators of dynamic gamma scintigraphy of the kidneys

Анализируемые группы	T _{max} левой почки	T _{max} правой почки	T _{1/2} левой почки	T _{1/2} правой почки	Эффективный плазмоток левой почки	Эффективный плазмоток правой почки
Группа АЦТ до инфузий инфликсимаба (n = 28)	8,9 (4,7–12,5)*	9,65 (5,9–17,4)*	13,0 (10,8–18,0)*	15,4 (10,3–16,1)*	115,4 (85,3–180,4)*	149,3 (118,0–205,1)*
Группа АЦТ на фоне инфузий инфликсимаба (n = 28)	6,0 (5,0–7,0)*	8,0 (5,0–10,0)*	9,6 (6,9–10,2)*#	8,9 (5,8–13,8)*#	196,4 (170,5–259,2)**	182,7 (135,6–219,3)**
Группа сравнения (n = 10)	4,0 (4,0–4,3)	4,0 (4,0–5,0)	7,1 (6,3–8,0)	6,2 (5,5–8,2)	219,8 (194,3–272,9)	244,5 (205,2–301,5)

Примечание. * – p < 0,05 при сравнении групп пациентов с группой сравнения по критерию Манна – Уитни; # – p < 0,05 при сравнении групп пациентов до лечения и в процессе лечения по критерию Вилкоксона.

неорганического фосфата, повышение содержания 2,3-дифосфоглицерата, увеличение уровня АТФ.

Снижение уровня АТФ обусловливает увеличение жесткости клеточной мембранны, при этом нарушается деформируемость эритроцита, т. е. снижается его способность изменять свою конфигурацию [12, 15, 16].

Выявлена значимая обратная корреляционная зависимость ($r = -0,49$; $p < 0,01$) между уровнем суммарного АТФ и имеющим место у пациентов анизоцитозом (в группе антицитокиновой терапии ЯК, до лечения 15,1 % (13,7–17,9 %) против 12,9 % (12,6–13,1 %) в группе сравнения ($p < 0,001$). Значимое снижение уровня анизоцитоза у пациентов группы АЦТ отмечается после 9–13 инфузий ремикейда 13,8 % (13,5–14,4 %), в этот же период наблюдается достижение показателей общего анализа крови до референсных значений.

Одним из основных органов детоксикации и поддержания гомеостаза являются почки, в основе функций которых лежат процессы жизнеобеспечения макроорганизма: ультрафильтрация жидкости в почечных клубочках, реабсорбция и секреция различных веществ клетками почечных канальцев, избирательное удаление различных соединений с целью поддержания относительного постоянства состава плазмы крови и внеклеточной жидкости.

Известно, что нефроны способны накапливать и секретировать в просвет канальцев не свойственные соединения токсического характера (не подвергшиеся

биотрансформации в соответствующий органах и системах). Длительное увеличение пула среднемолекулярных веществ способствует повреждающему действию аккумулированных токсичных соединений на клетки канальцев и может приводить к их гибели. Полученные ранее данные УФ-спектроскопии мочи у наших пациентов свидетельствуют о функциональной несостоятельности почек, проявляющейся в нарушении их экскреторной функции [17].

Для подтверждения субклинического раннего нарушения функционального состояния почек проведена динамическая гамма-сцинтиграфия с оценкой эффективного почечного плазмотока до лечения и на фоне длительного применения АЦТ.

Согласно полученным результатам исследования, нарушения экскреторной и секреторной функций почек разной степени выраженности отмечались в половине случаев.

Обращает внимание более высокий процент выраженных и резко выраженных нарушений секреторной и экскреторной функции почек у пациентов группы АЦТ до лечения, возможно, это обусловлено более тяжелыми, резистентными формами заболевания у пациентов этой группы. На фоне проведения инфузий инфликсимаба процент резко выраженных изменений секреторной и экскреторной функции значительно снижается (табл. 4).

При статистической обработке основных показателей, используемых для оценки секреторной (T_{max}) и экскреторной

креторной функции почек ($T_{1/2}$), получены статистически значимые изменения в группе АЦТ до лечения (T_{max} и $T_{1/2}$), что характеризует нарушение секреторной и экскреторной функции почек и статистически значимое снижение эффективного плазмокона. На фоне проведений инфузий инфликсимаба отмечается статистически значимое улучшение показателей секреторной и экскреторной функций почек (снижение показателей T_{max} , $T_{1/2}$) и увеличение эффективного почечного плазмокона (табл. 5).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Долгосрочное применение блокаторов TNF- α препаратом инфликсимаб у пациентов с резистентными к стандартной терапии тяжёлыми и среднетяжёлыми формами язвенного колита способствует нормализации показателей эндогенной интоксикации, стабилизации энергообмена клетки, с восстановлением ламеллярной организации билипидного слоя клеточных мембран и улучшению показателей функционального состояния почек. Выявленные метаболические процессы в мемbrane клеток ведут, вероятно, к пониманию патогенеза язвенного колита, что, несомненно, требует дальнейшего изучения и осмысления. Полученные результаты свидетельствуют о возможности длительного, безопасного и эффективного применения инфликсимаба у этой категории пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

- Чашкова Е.Ю., Коротаева Н.С., Горохова В.Г., Кузнецова Э.Э., Пак В.Е., Григорьев Е.Г. Повреждение клеточных мембран у пациентов с язвенным колитом. *Колопроктология*. 2010; 2(32): 30-35.
- Billiet T, Rutgeerts P, Ferrante M, Assche GV, Vermeire S. Targeting TNF- α for the treatment of inflammatory bowel disease. *Expert Opin Biol Ther*. 2014; 14(1): 75-101. doi: 10.1517/14712598.2014.858695
- Bortlik M, Duricova D, Machkova N, Hruba V, Lukas M, et al. Discontinuation of anti-tumor necrosis factor therapy in inflammatory bowel disease patients: a prospective observation. *Scand J Gastroenterol*. 2016; 51(2): 196-202. doi: 10.3109/00365521.2015.1079924
- Bots SJ, Kuin S, Ponsioen CY, Gecse KB, Duijvestein M, D'Haens GR, Löwenberg M. Relapse rates and predictors for relapse in a real-life cohort of IBD patients after discontinuation of anti-TNF therapy. *Scand J Gastroenterol*. 2019; 54(3): 281-288. doi: 10.1080/00365521.2019.1582693
- Gisbert JP, Marín AC, Chaparro M. The risk of relapse after anti-TNF discontinuation in inflammatory bowel disease: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2016; 111(5): 632-47. doi: 10.1038/ajg.2016.54
- Molander P, Färkkilä M, Kemppainen H, Blomster T, Jussila A, Mustonen H, Sipponen T. Long-term outcome of inflammatory bowel disease patients with deep remission after discontinuation of TNF α -blocking agents. *Scand J Gastroenterol*. 2017; 52(3): 284-290. doi: 10.1080/00365521.2016.1250942
- Ricciuto A, Dhaliwal J, Walters TD, Griffiths AM, Church PC. Clinical outcomes with therapeutic drug monitoring in inflammatory bowel disease: a systematic review with meta-analysis. *J Crohns Colitis*. 2018; 12(11). doi: 10.1093/ecco-jcc/jjy109
- Малахова М.Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме. *Эфферентная терапия*. 2000; 6(4): 3-4.
- Кручинина М.В., Курилович С.А., Паруликова М.В. и др. ЯМР-спектроскопия эритроцитов у больных с патологией печени. *Эксперим. и клин. гастроэнтерология, приложение «Гепатология»*. 2003; (2): 28-33.
- Лишманова Ю.Б., Чернова В.И. Радионуклидная диагностика для практических врачей. Томск, 2004.
- Коротаева Н.С. Выбор лечебной тактики при тяжёлом течении язвенного колита с учётом закономерностей развития синдрома эндогенной интоксикации: Дисс. кан. мед. наук: 14.00.27, 14.00.16. Иркутск, 2009; 149 с.
- Мухомедзянова С.В., Пивоваров Ю.И., Богданова О.В., Дмитриева Л.А., Шулунов А.А. Липиды биологических мембран в норме и патологии (обзор литературы). *Acta Biomedica Scientifica*. 2017; 2(5)-1.
- Фаллер Д.М., Шилдс Д. Молекулярная биология клетки/пер. с англ. М.: Бином-Пресс, 2006; 256 с.
- Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степанова Е.А. и др. Молекулярные нарушения мембранных эритроцитов при патологии разного генеза являются типовой реакцией организма; контуры проблемы. *Бюллетень сибирской медицины*. 2006; (2): 62-70.
- Атауллахманов Ф.И., Бутылин А.А., Витвицкий В.М., Лисовская И.Л., Мартынов М.В. и др. Физическая биохимия крови: от описания к пониманию. *Гематология и трансфузиология*. 2008; 53(5): 42-49.
- Arashiki N, Takakuwa Y. Maintenance and regulation of asymmetric phospholipid distribution in human erythrocyte membranes: implications for erythrocyte functions. *Curr Opin Hematol*. 2017; 24(3): 167-172. doi: 10.1097/MOH.0000000000000326
- Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г., Чашкова Е.Ю., Коротаева Н.С., Богородская С.Л. Способ оценки функционального состояния почек при аутоиммунных заболеваниях. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61(5): 286-288.

REFERENCES

- Chashkova EYu, Korotayeva NS, Goropanova VG, Kusnetsova EE, Pak VE, Grigoryev EG. Cell membrane damage in patients with ulcerative colitis. *Koloproktologiya*. 2010; 2(32): 30-35. (In Russ.)
- Billiet T, Rutgeerts P, Ferrante M, Assche GV, Vermeire S. Targeting TNF- α for the treatment of inflammatory bowel disease. *Expert Opin Biol Ther*. 2014; 14(1): 75-101. doi: 10.1517/14712598.2014.858695
- Bortlik M, Duricova D, Machkova N, Hruba V, Lukas M, et al. Discontinuation of anti-tumor necrosis factor therapy in inflammatory bowel disease patients: a prospective observation. *Scand J Gastroenterol*. 2016; 51(2): 196-202. doi: 10.3109/00365521.2015.1079924
- Bots SJ, Kuin S, Ponsioen CY, Gecse KB, Duijvestein M, D'Haens GR, Löwenberg M. Relapse rates and predictors for relapse in a real-life cohort of IBD patients after discontinuation of anti-TNF therapy. *Scand J Gastroenterol*. 2019; 54(3): 281-288. doi: 10.1080/00365521.2019.1582693
- Gisbert JP, Marín AC, Chaparro M. The risk of relapse after anti-TNF discontinuation in inflammatory bowel disease: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2016; 111(5): 632-47. doi: 10.1038/ajg.2016.54
- Molander P, Färkkilä M, Kemppainen H, Blomster T, Jussila A, Mustonen H, Sipponen T. Long-term outcome of inflammatory bowel disease patients with deep remission after discontinuation of TNF α -blocking agents. *Scand J Gastroenterol*. 2017; 52(3): 284-290. doi: 10.1080/00365521.2016.1250942
- Ricciuto A, Dhaliwal J, Walters TD, Griffiths AM, Church PC. Clinical outcomes with therapeutic drug monitoring in inflammatory bowel disease: a systematic review with meta-analysis. *J Crohns Colitis*. 2018; 12(11). doi: 10.1093/ecco-jcc/jjy109
- Malakhova MYa. Endogenous intoxication as a reflection of the compensatory restructuring of metabolic processes in the body. *Efferentnaya terapiya*. 2000; 6(4): 3-4. (In Russ.)
- Kruchinina MV, Kurilovich SA, Parulikova MV, et al. Erythrocyte NMR spectroscopy in patients with liver disease. *Eksperim. i klin. gastroenterologiya, prilozhenie «Gepatologiya»*. 2003; (2): 28-33. (In Russ.)
- Lishmanova YuB, Chernova VI. *Radionuclide diagnostics for practitioners*. Tomsk, 2004. (In Russ.)
- Korotayeva NS. The choice of therapeutic tactics for severe ulcerative colitis, taking into account the patterns of development of endogenous intoxication syndrome: Dissertation

- thesis of Candidate of Medical Sciences. Irkutsk, 2009; 149 p. (In Russ.)
12. Mukhomedzyanova SV, Pivovarov Yul, Bogdanova OV, Dmitrieva LA, Shulunov AA. Lipids of biological membranes in norm and pathology (literature review). *Acta Biomedica Scientifica*. 2017; 2(5)-1. (In Russ.)
13. Faller DM, Shilds D. *Molecular cell biology*. Moscow: Binom-Press, 2006; 256 p. (In Russ.)
14. Novitskiy VV, Ryazantseva NV, Stepanova EA, et al. Molecular abnormalities of the erythrocyte membrane in pathologies of different genesis are a typical reaction of the body; contours of the problem. *Bulleten' sibirskoj mediciny*. 2006; (2): 62-70. (In Russ.)
15. Ataullakhmanov FI, Butylin AA, Vitvitskiy VM, Lisovska-ya IL, Martynov MV, et al. Physical biochemistry of blood: from description to understanding. *Gematologija i transfuziologija*. 2008; 53(5): 42-49. (In Russ.)
16. Arashiki N, Takakuwa Y. Maintenance and regulation of asymmetric phospholipid distribution in human erythrocyte membranes: implications for erythrocyte functions. *Curr Opin Hematol*. 2017; 24(3): 167-172. doi: 10.1097/MOH.0000000000000326
17. Kuznetsova EE, Gorokhova VG, Chashkova EYu, Korotayeva NS, Bogorodskaya SL. A method for assessing the functional state of the kidneys in autoimmune diseases. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2016; 61(5): 286-288. (In Russ.)

Сведения об авторах

Чашкова Елена Юрьевна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник научного отдела клинической хирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; врач-колопротолог, ГБУЗ Иркутская ордена «Знак Почёта» областная клиническая больница, e-mail: elenachash1027@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7953-6523>

Коротаева Наталья Сергеевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник научного отдела клинической хирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; врач-колопротолог, ГБУЗ Иркутская ордена «Знак Почёта» областная клиническая больница, <http://orcid.org/0000-0002-0880-9897>

Кузнецова Эмма Эфраимовна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», <http://orcid.org/0000-0001-8619-179X>

Горокхова Виктория Григорьевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», <http://orcid.org/0000-0001-6319-1615>

Соболева Эльвира Валерьевна – врач-радиолог лаборатории радиоизотопной диагностики, ГБУЗ Иркутская ордена «Знак Почёта» областная клиническая больница

Information about the authors

Elena Yu. Chashkova – Cand. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Scientific Department of Clinical Surgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Coloproctologist, Irkutsk Regional Clinical Hospital, e-mail: elenachash1027@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7953-6523>

Natalia S. Korotayeva – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Scientific Department of Clinical Surgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Coloproctologist, Irkutsk Regional Clinical Hospital, <http://orcid.org/0000-0002-0880-9897>

Emma E. Kunetsova – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, <http://orcid.org/0000-0001-8619-179X>

Viktoria G. Gorokhova – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, <http://orcid.org/0000-0001-6319-1615>

Elvira V. Soboleva – Radiologist at the Laboratory of Radionuclear Diagnostics, Irkutsk Regional Clinical Hospital

Статья получена: 17.07.2019. Статья принята: 3.09.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 17.07.2019. Accepted: 3.09.2019. Published: 26.10.2019.

Послеоперационные кардиальные ишемические осложнения у больных раком лёгкого

Большедворская О.А.¹, Протасов К.В.², Батороев Ю.К.^{1,2}, Улыбин П.С.¹, Дворниченко В.В.^{1,2}

¹ ГБУЗ «Областной онкологический диспансер» (664035, г. Иркутск, ул. Фрунзе, 32, 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: Большедворская Ольга Александровна, e-mail: olbo17@yandex.ru

Резюме

Обоснование. Периоперационная ишемия миокарда нередко осложняет вненаружные хирургические вмешательства. Не решены проблемы её прогнозирования, диагностики, лечения и профилактики. Частота, структура и клинические особенности кардиальных ишемических осложнений хирургического лечения рака лёгкого изучены недостаточно.

Цель исследования: изучить частоту послеоперационного инфаркта миокарда и ишемии миокарда при хирургическом лечении больных немелкоклеточным раком лёгкого.

Методы. Рассчитывалась частота обнаружения (%) инфаркта миокарда (ИМ) с подъёмом и без подъёма сегмента ST электрокардиограммы, острой ишемии миокарда в сплошной выборке пациентов онкологического стационара ($n = 2051$), подвергшихся хирургическому лечению по поводу немелкоклеточного рака лёгкого. Путём сравнительного анализа и вычисления отношения шансов (ОШ) изучались взаимосвязи кардиальных ишемических событий с возрастом, типом операции, распространённостью и локализацией опухоли. Проанализированы клинические и патоморфологические проявления послеоперационного инфаркта миокарда.

Результаты. Кардиальные ишемические осложнения торакотомий по поводу рака лёгкого встречались в 2,73 % (95% ДИ 1,98–3,48) случаев. Инфаркт миокарда с подъёмом сегмента ST зафиксирован у 1,07 % (95% ДИ 0,58–1,57) пациентов, ИМ без подъёма сегмента ST – у 0,54 % (95% ДИ 0,17–0,9), ишемия миокарда – у 1,12 % (95% ДИ 0,62–1,63). Отмечено увеличение частоты ишемических событий после пневмонэктомий, по сравнению с лобэктомиями (ОШ 6,5, 95% ДИ 3,5–12,2) и после правосторонних пневмонэктомий, по сравнению с левосторонними (ОШ 3,2, 95% ДИ 1,6–6,3), а также в возрасте старше 70 лет. Госпитальная летальность от ИМ составила 39,3 %. По данным аутопсий пациентов, умерших от ИМ, коронарный атеротромбоз обнаружен в 2 из 22 случаев.

Заключение. При хирургическом лечении немелкоклеточного рака лёгкого кардиальные ишемические события развиваются у 2,73 % пациентов. Наибольший риск ассоциирован с правосторонними пневмонэктомиями.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак лёгкого, торакотомия, пневмонэктомия, послеоперационный инфаркт миокарда

Для цитирования: Большедворская О.А., Протасов К.В., Батороев Ю.К., Улыбин П.С., Дворниченко В.В. Послеоперационные кардиальные ишемические осложнения у больных раком лёгкого. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 91–97. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.15

Postoperative Cardiac Ischemic Complications in Lung Cancer Patients

Bolshedvorskaya O.A.¹, Protasov K.V.², Batoroyev Yu.K.^{1,2}, Ulybin P. S.¹, Dvornichenko V.V.^{1,2}

¹ Regional Oncology Center (Frunze str. 32, 664035 Irkutsk, Russian Federation); ² Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileyniy 100, 664049 Irkutsk, Russian Federation)

Corresponding author: Olga A. Bolshedvorskaya, e-mail: olbo17@yandex.ru

Abstract

Background. Perioperative myocardial ischemia often complicates extracardiac surgery. The problems of its prediction, diagnostics, treatment and prevention are not solved. Frequency, structure and clinical features of cardiac ischemic complications of surgical treatment of lung cancer are not well understood.

The **aim** of the study was to investigate the frequency of postoperative myocardial infarction and myocardial ischemia in the surgical treatment of patients with non-small cell lung cancer.

Methods. The frequency (%) of myocardial infarction (MI) with and without ST segment elevation of electrocardiogram, acute myocardial ischemia in a complete sample of cancer patients ($n = 2051$) who underwent treatment for non-small cell lung cancer for the last 10 years was calculated. By comparing the relative indicators and calculating the Odds Ratio (OR), we studied the relationship between the cardiac ischemic events with age, type of surgery, prevalence and localization of the tumour. The clinical manifestations and pathomorphology of postoperative myocardial infarction were analysed.

Results. Cardiac ischemic complications of thoracotomy for lung cancer occurred in 2.73 % (95% CI 1.98–3.48) cases. Myocardial infarction with ST segment elevation was recorded in 1.07 % (95% CI 0.58–1.57) patients, MI without ST segment elevation – in 0.54 % (95% CI 0.17–0.9), myocardial ischemia – in 1.12 % (95% CI 0.62–1.63). An increase in the frequency of ischemic events after pneumonectomy was observed compared with lobectomy (OR 6.5, 95% CI 3.5–12.2) and after right-sided pneumonectomy compared with left-sided one (OR 3.2, 95% CI 1.6–6.3), and also the

age over 70. Hospital mortality from MI was 39.3 %. According to autopsies of patients who died of MI, coronary atherothrombosis was detected in 2 of 22 cases.

Conclusion. In the surgical treatment of non-small cell lung cancer, cardiac ischemic events develop in 2.73 % of patients. The greatest risk is associated with right-sided pneumonectomy.

Key words: non-small cell lung cancer, thoracotomy, pneumonectomy, postoperative myocardial infarction

For citation: Bolshedvorskaya O.A., Protasov K. V., Batoroyev Yu.K., Ulybin P. S., Dvornichenko V.V. Postoperative Cardiac Ischemic Complications in Lung Cancer Patients. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 91-97. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.15

ВВЕДЕНИЕ

Ежегодно в мире проводится около 300 млн внебольничных хирургических операций, и это число постоянно растёт [1]. Несмотря на проведённые в последние годы крупные наблюдательные и интервенционные исследования, выпуск соответствующих клинических рекомендаций, создание систем прогнозирования и оценки риска кардиальных осложнений внебольничных вмешательств [2, 3], их количество остаётся высоким и составляет от 3,0 до 3,9 % [4, 5]. В России точные данные о кардиальных осложнениях внебольничных операций отсутствуют. Проблема усугубляется сложностями диагностики ишемических осложнений в силу атипичности их клиники. Не разработаны научно обоснованные методы профилактики и лечения таких осложнений, в частности самого грозного из них – послеоперационного инфаркта миокарда (ИМ).

Сердечно-сосудистые события в торакальной хирургии встречаются ещё чаще – от 10–15 % случаев до 54,9 % [6, 7]. Торакальные операции признаны третьими по частоте развития ИМ после ангиохирургических и трансплантации органов [1]. Это объясняется теснейшей функциональной и анатомической взаимосвязью сердца с лёгкими и органами средостения, подвергающимися вмешательству, а также большими объёмами операции. Рак лёгкого занимает первое место по заболеваемости злокачественными новообразованиями среди мужчин [8]. Основной метод лечения немелкоклеточного рака лёгкого – хирургический. Частота, структура, тяжесть и клинические особенности кардиальных осложнений хирургического лечения рака лёгкого описаны в единичных исследованиях [7, 9, 10].

Всё это и определило **цель исследования:** изучить частоту послеоперационного инфаркта миокарда и ишемии миокарда при хирургическом лечении больных немелкоклеточным раком лёгкого.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведён ретроспективный анализ 2051 истории болезни пациентов Иркутского областного онкологического диспансера, подвергшихся хирургическому лечению по поводу рака лёгкого за 10-летний период с 2009 по 2018 гг. Протокол исследования одобрен комитетом по этике ИГМАПО – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. В анализ включены все пациенты, соответствующие критериям включения (операбельный немелкоклеточный рак лёгкого, возраст старше 18 лет). При анализе учитывались возраст и пол пациентов, стадия заболевания, локализация опухоли и объём операции. Из 2051 человек мужчин было 1373 (66,9 %), женщин – 678. Средний возраст пациентов составил 65,5 (56–65) года. Плоскоклеточный рак лёгкого был у 948 (46,2 %), adenокарцинома – у 880 (42,9 %), другие типы немелкоклеточного рака – 223 (10,9 %). Пневмонэктомия проведена у 714 человек, лобэктомия – у 1132, право-

сторонняя билобэктомия – у 87, атипичная резекция – у 118. В дальнейшем при анализе результатов пациенты с лобэктомией, билобэктомией и атипичной резекцией были объединены в группу лобэктомий ($n = 1337$). С I или II стадией рака прооперированы 872 пациента, с III или IV стадией – 1179.

При анализе историй болезни учитывали следующие послеоперационные сердечно-сосудистые события: инфаркт миокарда с подъёмом сегмента ST (ИМпST), инфаркт миокарда без подъёма ST (ИМбпST) электрокардиограммы (ЭКГ) и ишемию миокарда. Инфаркт миокарда диагностировали при появлении симптомов острой ишемии миокарда, повышению сердечного тропонина T до уровня > 99 -го перцентиля нормального референсного предела и последующему закономерному его снижению и вновь возникшим изменениям ЭКГ в виде признаков ишемического повреждения согласно критериям Четвёртого универсального определения инфаркта миокарда [11]. Концентрацию тропонина I определяли на иммунохимическом анализаторе AQT90 FLEX («Радиометр Медикал АпС», Дания). Ишемию миокарда диагностировали при появлении симптомов острой ишемии миокарда и/или депрессии сегмента ST или изменений зубца T в отсутствие повышения сердечного тропонина T. Диагноз ИМ умерших пациентов подтверждался на аутопсии [12, 13].

Рассчитывали частоту послеоперационных сердечно-сосудистых осложнений в процентах с указанием 95%-ного доверительного интервала (95% ДИ). Влияние признака (фактора риска) на развитие события оценивали по отношению шансов (ОШ) и ДИ. Анализировали сроки развития осложнения, зависимость частоты событий от возраста и пола пациентов, типа операции, локализации опухоли, стадии заболевания. Рассчитывали летальность от острого ИМ.

Использовали пакет программ Statistica 10.0 for Windows («StatSoft», США). Средние значения представляли в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала (ИИ). Значимость различий относительных показателей оценивали по критерию χ^2 .

РЕЗУЛЬТАТЫ

Среди включённых в исследование 2051 пациента у 60 обнаружены признаки послеоперационных ИМ или острой ишемии миокарда. В четырёх случаях выставленный клинически ИМ не был подтверждён на аутопсии, поэтому они были исключены из дальнейшего анализа. Таким образом, нами выявлено 56 пациентов с послеоперационными кардиальными осложнениями ишемического генеза.

Частота послеоперационных ИМ и острой ишемии миокарда при хирургическом лечении рака лёгкого составила 2,73 % (95% ДИ 1,98–3,48). Инфаркт миокарда с подъёмом сегмента ST развился у 22 пациентов (1,07 %, 95% ДИ 0,58–1,57), ИМбпST – у 11 (0,54 %, 95% ДИ 0,17–0,9),

ишемия миокарда – у 23 (1,12 %, 95% ДИ 0,62–1,63). Структура осложнений представлена на рис. 1.

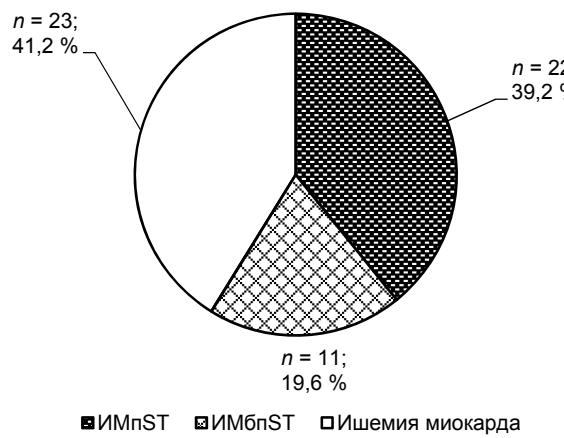


Рис. 1. Структура кардиальных ишемических осложнений при хирургическом лечении рака лёгкого.

Fig. 1. Cardiac ischemic complications structure of the lung cancer surgical treatment.

Мужчин ($n = 52$, 92,8 %) было больше, чем женщин ($n = 4$, 7,2 %; $p < 0,001$). Средний возраст пациентов с ишемическими событиями составил 67,5 (62–70) года. Частота кардиальных осложнений в различных возрастных подгруппах представлена в табл. 1.

Таблица 1
Частота кардиальных ишемических осложнений
в зависимости от возраста

Table 1
Frequency of cardiac ischemic complications depending on age

Возрастные подгруппы	Частота кардиальных ишемических осложнений	
	n	%
Менее 60 лет ($n = 160$)	10	6,25*
60–69 лет ($n = 1745$)	29	1,66
70 лет и старше ($n = 146$)	16	10,96*

Примечание. * – $p < 0,001$ при сравнении с подгруппой 60–69 лет.

Как видно из таблицы, максимальная частота событий отмечается в возрастной подгруппе старше 70 лет.

Среди пациентов с кардиальными ишемическими осложнениями 54 человека (96,4 %) курили, у 29 (51,8 %) была артериальная гипертензия, у 39 (69,6 %) – ишемическая болезнь сердца, из них у 9 (16,1 %) – ИМ в анамнезе, у 24 (42,9 %) – хроническая обструктивная болезнь лёгких.

В первые сутки от момента операции осложнения развились у 5 человек (8,9 %), на вторые – у 16 (28,6 %), на трети – у 25 (44,6 %), в более позднем периоде – у 10 (17,9 %). Медиана времени развития осложнения составила 3,0 (2–3) суток. На появление типичных ангинозных болей или дискомфорта за грудиной пожаловались 2 (3,6 %) человека, одышку – 9 (16,0 %). Артериальная гипотензия или шок как первый признак острой ишемии выявлена у 12 (21,4 %), фибрилляция предсердий – у 10 (17,9 %). В остальных случаях признаки ишемии или ИМ выявлены во время мониторинга ЭКГ.

Пневмонэктомии осложнялись статистически значимо чаще, чем лобэктомии (43 из 714, 6,02 % и 13 из 1337,

0,97 %, $p < 0,001$; ОШ 6,5, 95% ДИ 3,5–12,2). Правосторонние пневмонэктомии достоверно чаще сопровождались острыми ишемическими событиями, по сравнению с левосторонними (30 из 311, 9,65 % и 13 из 403, 3,23 % соответственно; $p < 0,001$; ОШ 3,2, 95% ДИ 1,6–6,3). В структуре хирургических вмешательств, осложнившихся ИМ или ишемией миокарда, также преобладали правосторонние пневмонэктомии (рис. 2).

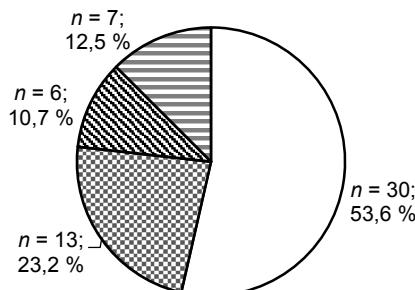


Рис. 2. Типы хирургических операций с кардиальными ишемическими осложнениями. ППЭ – пневмонэктомия, ЛЛЭ – лобэктомия.

Fig. 2. Types of surgeries with cardiac ischemic complications. ППЭ – pneumonectomy, ЛЛЭ – lobectomy.

Для лобэктомий таких различий не выявлено (6 из 727, 0,83 % и 7 из 610, 1,15 % соответственно; $p > 0,05$).

В табл. 2 представлены данные о тяжести осложнений в зависимости от объёма операции.

Таблица 2
Объём операций и кардиальные ишемические осложнения

Table 2

Extent of operation and cardiac ischemic complications

Ишемическое событие	Подгруппа 1		Подгруппа 2	
	Пневмонэктомия (n = 714)	%	Лобэктомия (n = 1337)	%
ИМпСТ	20	2,8*	2	0,15
ИМбпСТ	8	1,12*	3	0,22
Ишемия миокарда	15	2,1*	8	0,6

Примечание. * – $p < 0,001$ при сравнении частоты в подгруппах.

Как видно, сердечно-сосудистые события ишемического генеза чаще встречаются при проведении пневмонэктомии, по сравнению с меньшим объёмом операции. Среди осложнений пневмонэктомий преобладает ИМпСТ (44,4 %), тогда как при лобэктомиях – ишемия миокарда (54,5 %).

Частота событий при 1–2-й стадии заболевания составила 2,52 % (22 из 872 операций при 1–2 стадии рака лёгкого), при 3–4-й стадии – 2,88 % (34 из 1179; $p = 0,72$). При этом частота ИМпСТ при 1–2-й стадии заболевания составила 0,46 % (4 из 872), тогда как при 3–4-й стадии – 1,53 % (18 из 1179; $p = 0,034$).

Анализ внутригоспитальной летальности показал, что среди 56 пациентов умерло 22 (39,3 %), из них четыре человека с ишемическими изменениями на ЭКГ скончались внезапно. При этом смертность от ИМпСТ составила 86,4 % (19 из 22 пациентов), при ИМбпСТ – 27,3 % (3 из 11; $p < 0,001$). Все пациенты с ишемией миокарда выжили.

Смертность от всех кардиальных осложнений после пневмонэктомий составила 46,7 % (21 из 45), после лобэктомий – 9,1 % (1 из 11; $p = 0,04$).

Мы проанализировали 22 протокола аутопсии пациентов, умерших от ИМ. Внутрикоронарный атеротромбоз инфарктсвязанной артерии был обнаружен только у двух человек. В остальных случаях ИМ был верифицирован по признакам повреждения и некроза миокарда (неравномерное кровенаполнение интрамуральных сосудов, стирание поперечной исчерченности в мышечных волокнах, лейкоцитарные стазы, положительная макроскопическая проба с нитросиним тетразолием).

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты работы показали, что хирургическое лечение рака лёгкого в 1,6 % осложняется ИМ и в 1,1 % – острой ишемией миокарда. Полученные нами данные, в целом, соответствуют литературным сведениям, согласно которым частота периоперационного ИМ варьировала в широких пределах от 0,09 % до 7,0 % [1, 14, 15, 16]. Однако указанная выше распространённость была рассчитана для всех вненердечных операций, включая малые операции и пациентов низкого сердечно-сосудистого риска.

После торакальных операций частота ИМ составляла 1,5 %, тогда как в целом для всех хирургических больных она равнялась 0,88 % (увеличение относительного риска в 1,63 раза) [1]. Как видно, при торакальных операциях частота периоперационных кардиоваскулярных осложнений увеличивается. Именно поэтому пневмонэктомии отнесены к категории вмешательств, ассоциированных с высоким (> 5 %) хирургическим риском сердечно-сосудистых осложнений [17].

Данные об ишемических осложнениях торакотомий по поводу рака лёгкого немногочисленны и противоречивы. В одной из первых работ на эту тему ИМ выявлен у 1,2 % из 598 пациентов, тогда как транзиторная ишемия – в 3,8 % [9]. По другим данным, распространённость ИМ у больных раком лёгкого после торакотомии была существенно меньше – 0,2–0,7 % [18, 19, 20]. Напротив, по результатам М.И. Давыдова (2012) частота ИМ достигла 9,8 %. Однако в анализ были включены только тяжёлые пациенты, подвергшиеся симультанным или последовательным операциям по удалению опухоли и коронарного шунтирования [7]. Наиболее близкие к полученным нами значения (частота ИМ 2,0 %) получены А.Ж. Ploeg (2003) [10].

Анализ результатов работы показал, что шанс развития кардиальных ишемических осложнений пневмонэктомий в 6,5 раза выше, чем при лобэктомиях и билобэктомиях. Эти данные косвенно подтверждают сведения о двукратном увеличении летальности после пневмонэктомий, по сравнению с операциями меньшего объёма (7–15 % и 4–8 % соответственно) [10]. Эти вполне ожидаемые факты можно объяснить большим объёмом вмешательства при пневмонэктомии. По-видимому, вышеприведённые различия в частоте ИМ отчасти связаны с разным соотношением пневмонэктомий и лобэктомий в выборках. В изученной нами группе доля пневмонэктомий была существенной (34,8 %).

Нами впервые обнаружено, что правосторонние пневмонэктомии в три раза чаще сопровождались ишемическими событиями по сравнению с левосторонними. В ранее опубликованных работах также отмечено

двух-трёхкратное увеличение летальности после правосторонних пневмонэктомий [19, 21, 22]. Однако в данных публикациях отсутствовали сведения о раздельном анализе причин смерти, в том числе от ишемических событий, в зависимости от стороны вмешательства. Причины такой закономерности остаются неясными и требуют дальнейшего изучения. Предполагается, что при правосторонней пневмонэктомии удаляется больший объём лёгочной паренхимы, что вызывает более выраженную дыхательную недостаточность и гипоксию. Повышается нагрузка на правый желудочек, обеспечивающий весь сердечный выброс через меньшее левое лёгкое. Чаще развивается несостоительность культи правого бронха вследствие различий в кровоснабжении бронхов [21, 23].

Таким образом, частота ишемических кардиальных осложнений (2,73 %) в изученной нами выборке оказалась относительно высокой, что обусловлено наличием рака лёгкого, характером вмешательства – торакотомией и его объёмом (большой долей пневмонэктомий). Наибольший риск (9,6 % ишемических событий) ассоциирован с правосторонними пневмонэктомиями.

В работе предпринята попытка выявить особенности клинической и патоморфологической картины послеоперационных ишемических событий у больных немелкоклеточным раком лёгкого. В структуре ишемических событий чаще обнаруживалась транзиторная ишемия миокарда, что соответствует данным [9]. ИМпST встречались в два раза чаще, чем ИМбпST. Однако при раздельном анализе ишемических событий в зависимости от объёма операции оказалось, что при лобэктомии ИМпST развивался реже других осложнений. Кроме того, ИМпST в три раза чаще встречался при 3–4-й стадии рака. Имеющиеся данные позволяют предполагать, что ИМпST, означающий обширное трансмуральное поражение миокарда, ассоциирован с большим объёмом хирургического вмешательства и большей распространённостью опухоли. При меньшем хирургическом риске и в отсутствие онкологического заболевания, напротив, отмечено преобладание послеоперационных ИМбпST [14]. Мы не обнаружили ранее опубликованных данных о соотношении вариантов ИМ при хирургическом лечении рака лёгкого.

Изученная нами группа пациентов с ишемическими событиями имеет ряд особенностей: преобладание мужчин, высокая частота курения, преимущественно пожилой и старческий возраст, коморбидность с ИБС, артериальной гипертензией, хронической обструктивной болезнью лёгких. Налицо атипичность клинической картины: боли/дискомфорт за грудиной отметили всего два человека из 56 (3,6 %). Ранее этот факт отмечен и другими исследователями [14]. Вероятно, эти особенности и явились причиной крайне высокой госпитальной летальности от ИМ (86,4 % от ИМпST и 27,3 % от ИМбпST). По данным других исследователей смертность от послеоперационного ИМ составляла от 15,5 до 29,6 % [1, 16]. При раке лёгкого и после пневмонэктомий, как показывают единичные работы, она существенно выше – от 57,1 до 66,7 %, что соответствует нашим данным [9, 24]. Одной из возможных причин столь высокой смертности является тот факт, что таким пациентам редко проводится экстренная реваскуляризация миокарда согласно современным стандартам лечения ИМ. Это ещё раз подчёркивает актуальность и сложность проблемы послеоперационного ИМ.

Большинство авторов сходятся во мнении о высокой частоте 2-го типа ИМ после внесердечных операций, вызванных несоответствием доставки и потребности миокарда в кислороде в условиях хирургического стресса [25, 26]. В пользу этого предположения свидетельствуют наши данные о редком обнаружении (в 2 из 22 случаев) коронарного атеротромбоза – типичного признака ИМ 1-го типа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Частота послеоперационных кардиальных ишемических осложнений при хирургическом лечении пациентов с немелкоклеточным раком лёгкого составляет 2,73 %. Инфаркт миокарда с подъёмом сегмента ST электрокардиограммы встречается в 1,07 %, инфаркт миокарда без подъёма сегмента ST – в 0,54 %, острая ишемия миокарда – в 1,12 % случаев.

Правосторонние пневмонэктомии ассоциированы с максимальным риском кардиальных ишемических осложнений.

Клиническими особенностями послеоперационного ИМ у больных немелкоклеточным раком лёгкого являются атипичность проявлений, очень высокий уровень госпитальной летальности и редкость выявления коронарного атеротромбоза как критерия ИМ 1-го типа.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Smilowitz NR, Gupta N, Guo Y, Berger JS, Bangalore S. Perioperative acute myocardial infarction associated with non-cardiac surgery. *Eur Heart J.* 2017; 38(31): 2409-2417. doi: 10.1093/eurheartj/ehx313
2. Bilmoria KY, Liu Y, Paruch JL, Zhou L, Kmiecik TE, Ko CY, et al. Development and evaluation of the universal ACS NSQIP surgical risk calculator: a decision aid and informed consent tool for patients and surgeons. *J Am Coll Surg.* 2013; 217(5): 833-842. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2013.07.385
3. Kristensen SD, Knuuti J, Saraste A, Anker S, Bøtker HE, De Hert S, et al. 2014 ESC/ESA Guidelines on non-cardiac surgery: cardiovascular assessment and management. The Joint Task Force on non-cardiac surgery vascular assessment and management of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Anaesthesiology (ESA). *Eur Heart J.* 2014; 35(35): 2383-2431. doi: 10.1093/eurheartj/ehu282
4. Devereaux PJ, Goldman L, Cook DJ, Gilbert K, Leslie K, Guyatt GH, et al. Perioperative cardiac events in patients undergoing noncardiac surgery: a review of the magnitude of the problem, the pathophysiology of the events and methods to estimate and communicate risk. *CMAJ.* 2005; 173(6): 627-634. doi: 10.1503/cmaj.050011
5. Smilowitz NR, Gupta N, Ramakrishna H, Guo Y, Berger JS, Bangalore S. Trends in Perioperative Major Adverse Cardiovascular and Cerebrovascular Events associated with Non-Cardiac Surgery. *JAMA Cardiol.* 2017; 2(2): 181-187. doi: 10.1001/jamacardio.2016.4792
6. Ferguson MK, Saha-Chaudhuri P, Mitchell JD, Varela G, Brunelli A. Prediction of major cardiovascular events after lung resection using a modified scoring system. *Ann Thorac Surg.* 2014; 97(4): 1135-1140. doi: 10.1016/j.athoracsur.2013.12.032
7. Давыдов М.И., Акубин Р.С., Герасимов С.С., Бранд Я.Б., Долгов И.М. Хирургическое лечение больных раком лёгкого с тяжёлыми сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова.* 2012; (7): 18-26.
8. Петрова Г.В., Старинский В.В., Грецова О.П., Шахзадова А.О., Самсонов Ю.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2017 г. по данным федерального статистического наблюдения. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена.* 2019; 8(1): 32-40. doi: 10.17116/onkolog2019801132
9. von Knorring J, Lepäntalo M, Lindgren L, Lindfors O. Cardiac arrhythmias and myocardial ischemia after thoracotomy for lung cancer. *Ann Thorac Surg.* 1992; 53(4): 642-647. doi 10.1016/0003-4975(92)90325-x
10. Ploeg AJ, Kappetein AP, van Tongeren RB, Pahlplatz PV, Kastelein GW, Breslau PJ. Factors associated with perioperative complications and long-term results after pulmonary resection for primary carcinoma of the lung. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2003; 23(1): 26-29. doi: 10.1016/s1010-7940(02)00655-3
11. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, et al. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). *Eur Heart J.* 2019; 40(3): 237-269. doi: 10.1093/eurheartj/ehy462
12. Зайратьянц О.В., Мишнев О.Д., Кактурский Л.В. Инфаркт миокарда и острый коронарный синдром: дефиниции, классификация и критерии диагностики. *Архив патологии.* 2014; (6): 3-11. doi: 10.17116/patol20147663-11
13. Франк Г.А., Зайратьянц О.В., Шпектор А.В., Кактурский Л.В., Мишнев О.Д., Рыбакова М.Г. и др. Формулировка патологоанатомического диагноза при ишемической болезни сердца (класс IX «Болезни системы кровообращения» МКБ-10). Клинические рекомендации. М.; 2015.
14. Котвицкая З.Т., Колотова Г.Б., Руднов В.А., Багин В.А. Интраоперационные факторы риска развития инфаркта миокарда при некардиохирургических вмешательствах. *Вестник анестезиологии и реаниматологии.* 2018; 15(2): 32-37. doi: 10.21292/2078-5658-2018-15-2-32-37
15. Devereaux PJ, Biccard BM, Sigamani A, Xavier D, Chan MTV, Srinathan SK, et al. Association of Postoperative High-Sensitivity Troponin Levels With Myocardial Injury and 30-Day Mortality Among Patients Undergoing Noncardiac Surgery. *JAMA.* 2017; 317(16): 1642-1651. doi: 10.1001/jama.2017.4360
16. Ollila A, Viikatmaa L, Virolainen J, Viikatmaa P, Leppäniemi A, Albäck A, et al. Perioperative Myocardial Infarction in Non-Cardiac Surgery Patients: A Prospective Observational Study. *Scand J Surg.* 2017; 106(2): 180-186. doi: 10.1177/1457496916673585
17. Glance LG, Lustik SJ, Hannan EL, Osler TM, Mukamel DB, Qian F, et al. The Surgical Mortality Probability Model: derivation and validation of a simple risk prediction rule for noncardiac surgery. *Ann Surg.* 2012; 255: 696-702. doi: 10.1097/SLA.0b013e-31824b45af
18. Yano T, Yokoyama H, Fukuyama Y, Takai E, Mizutani K, Ichinose Y. The current status of postoperative complications and risk factors after a pulmonary resection for primary lung cancer. A multivariate analysis. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1997; 11(3): 445-449. doi: 10.1016/s1010-7940(96)01097-4
19. Martin J, Ginsberg RJ, Abolhoda A, Bains MS, Downey RJ, Korst RJ, et al. Morbidity and mortality after neoadjuvant therapy for lung cancer: the risks of right pneumonectomy. *Ann Thorac Surg.* 2001; 72(4): 1149-1154. doi: 10.1016/s0003-4975(01)02995-2
20. Brunelli A, Cassivi SD, Fibla J, Halgren LA, Wigle DA, Allen MS, et al. External validation of the recalibrated thoracic revised cardiac risk index for predicting the risk of major cardiac complications after lung resection. *Ann Thorac Surg.* 2011; 92(2): 445-448. doi: 10.1016/j.athoracsur.2011.03.095
21. Yang CJ, Shah SA, Lin BK, Van Dusen KW, Chan DY, Tan WD, et al. Right-Sided Versus Left-Sided Pneumonectomy After Induction Therapy for Non-Small Cell Lung Cancer. *Ann Thorac Surg.* 2019; 107(4): 1074-1081. doi: 10.1016/j.athoracsur.2018.10.009
22. Pricopi C, Mordant P, Rivera C, Arame A, Foucault C, Dujon A, et al. Postoperative morbidity and mortality after pneumonectomy: a 30-year experience of 2064 consecutive patients. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2015; 20(3): 316-321. doi: 10.1093/icvts/ivu417

23. Rodríguez M, Gómez MT, Jiménez MF, Aranda JL, Novoa N, Varela G. The risk of death due to cardiorespiratory causes increases with time after right pneumonectomy: a propensity score-matched analysis. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2013; 44(1): 93-97. doi: 10.1093/ejcts/ezs620
24. Gaißert HA, Keum DY, Wright CD, Ancukiewicz M, Monroe E, Donahue DM, et al. POINT: Operative risk of pneumonectomy - influence of preoperative induction therapy. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2009; 138(2): 289-94. doi: 10.1016/j.jtcvs.2008.11.069
25. Puelacher C, Lurati-Buse G, Singeisen H, Dang M, Cuculi F, Müller C. Perioperative myocardial infarction/injury after noncardiac surgery. *Swiss Med Wkly.* 2015; 145: w14219. doi: 10.4414/smw.2015.14219
26. Фроловичева И.С., Полтавская М.Г., Сыркин А.Л. Сравнительное клинико-патологическое исследованиеperi-операционного и обычного фатального инфаркта миокарда. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия.* 2016; (5): 23-28. doi: 10.17116/kardio20169523-28
- REFERENCES**
1. Smilowitz NR, Gupta N, Guo Y, Berger JS, Bangalore S. Perioperative acute myocardial infarction associated with non-cardiac surgery. *Eur Heart J.* 2017; 38(31): 2409-2417. doi: 10.1093/eurheartj/ehx313
 2. Bilmoria KY, Liu Y, Paruch JL, Zhou L, Kmiecik TE, Ko CY, et al. Development and evaluation of the universal ACS NSQIP surgical risk calculator: a decision aid and informed consent tool for patients and surgeons. *J Am Coll Surg.* 2013; 217(5): 833-842. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2013.07.385
 3. Kristensen SD, Knuuti J, Saraste A, Anker S, Bøtker HE, De Hert S, et al. 2014 ESC/ESA Guidelines on non-cardiac surgery: cardiovascular assessment and management. The Joint Task Force on non-cardiac surgery vascular assessment and management of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Anaesthesiology (ESA). *Eur Heart J.* 2014; 35(35): 2383-2431. doi: 10.1093/eurheartj/ehu282
 4. Devereaux PJ, Goldman L, Cook DJ, Gilbert K, Leslie K, Guyatt GH, et al. Perioperative cardiac events in patients undergoing noncardiac surgery: a review of the magnitude of the problem, the pathophysiology of the events and methods to estimate and communicate risk. *CMAJ.* 2005; 173(6): 627-634. doi: 10.1503/cmaj.050011
 5. Smilowitz NR, Gupta N, Ramakrishna H, Guo Y, Berger JS, Bangalore S. Trends in Perioperative Major Adverse Cardiovascular and Cerebrovascular Events associated with Non-Cardiac Surgery. *JAMA Cardiol.* 2017; 2(2): 181-187. doi: 10.1001/jamacardio.2016.4792
 6. Ferguson MK, Saha-Chaudhuri P, Mitchell JD, Varela G, Brunelli A. Prediction of major cardiovascular events after lung resection using a modified scoring system. *Ann Thorac Surg.* 2014; 97(4): 1135-1140. doi: 10.1016/j.athoracsur.2013.12.032
 7. Davydov MI, Akchurin RS, Gerasimov SS, Brand YaB, Dolgov IM. The surgical treatment of patients with lung cancer with severe concomitant cardiovascular diseases. *Pirogov Rus J Surg.* 2012; (7): 18-26 (In Russ.).
 8. Petrova GV, Starinsky VV, Gretsova OP, Shakhzadova AO, Samsonov Yu.V. The state of oncological assistance to the population of Russia in 2017 according to the data of federal statistical observation. *P.A. Herzen Journal of Oncology.* 2019; 8(1): 32-40. doi: 10.17116/onkolog2019801132 (In Russ.).
 9. von Knorring J, Lepäntalo M, Lindgren L, Lindfors O. Cardiac arrhythmias and myocardial ischemia after thoracotomy for lung cancer. *Ann Thorac Surg.* 1992; 53(4): 642-647. doi 10.1016/0003-4975(92)90325-x
 10. Ploeg AJ, Kappetein AP, van Tongeren RB, Pahlplatz PV, Kastelein GW, Breslau PJ. Factors associated with perioperative complications and long-term results after pulmonary resection for primary carcinoma of the lung. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2003; 23(1): 26-29. doi: 10.1016/s1010-7940(02)00655-3
 11. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, et al. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). *Eur Heart J.* 2019; 40(3): 237-269. doi: 10.1093/eurheartj/ehy462
 12. Zaratyants OV, Mishnev OD, Kaktursky LV. Myocardial infarction and acute coronary syndrome: definitions, classification and diagnostic criteria. *Archives of Pathology.* 2014; (6): 3-11. doi: 10.17116/patol20147663-11 (In Russ.)
 13. Frank GA, Zayratyants OV, Shpektor AV, Kaktursky LV, Mishnev OD, Rybakova MG, et al. The formulation of the pathoanatomical diagnosis in ischemic heart disease (class IX "Circulatory system diseases" ICD-10). Clinical recommendations. Moscow; 2015. (In Russ.)
 14. Kotvitskaya ZT, Kolotova GB, Rudnov VA, Bagin VA. Intraoperative risk factors for myocardial infarction in non-cardiac surgery. *Messenger of anesthesiology and resuscitation.* 2018; 15(2): 32-37. doi: 10.21292/2078-5658-2018-15-2-32-37 (In Russ.)
 15. Devereaux PJ, Biccard BM, Sigamani A, Xavier D, Chan MTV, Srinathan SK, et al. Association of Postoperative High-Sensitivity Troponin Levels With Myocardial Injury and 30-Day Mortality Among Patients Undergoing Noncardiac Surgery. *JAMA.* 2017; 317(16): 1642-1651. doi: 10.1001/jama.2017.4360
 16. Ollila A, Vikatmaa L, Virolainen J, Vikatmaa P, Leppäniemi A, Albäck A, et al. Perioperative Myocardial Infarction in Non-Cardiac Surgery Patients: A Prospective Observational Study. *Scand J Surg.* 2017; 106(2): 180-186. doi: 10.1177/1457496916673585
 17. Glance LG, Lustik SJ, Hannan EL, Osler TM, Mukamel DB, Qian F, et al. The Surgical Mortality Probability Model: derivation and validation of a simple risk prediction rule for noncardiac surgery. *Ann Surg.* 2012; 255: 696-702. doi: 10.1097/SLA.0b013e-31824b45af
 18. Yano T, Yokoyama H, Fukuyama Y, Takai E, Mizutani K, Ichinose Y. The current status of postoperative complications and risk factors after a pulmonary resection for primary lung cancer. A multivariate analysis. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1997; 11(3): 445-449. doi: 10.1016/s1010-7940(96)01097-4
 19. Martin J, Ginsberg RJ, Abolhoda A, Bains MS, Downey RJ, Korst RJ, et al. Morbidity and mortality after neoadjuvant therapy for lung cancer: the risks of right pneumonectomy. *Ann Thorac Surg.* 2001; 72(4): 1149-1154. doi: 10.1016/s0003-4975(01)02995-2
 20. Brunelli A, Cassivi SD, Fibla J, Halgren LA, Wigle DA, Allen MS, et al. External validation of the recalibrated thoracic revised cardiac risk index for predicting the risk of major cardiac complications after lung resection. *Ann Thorac Surg.* 2011; 92(2): 445-448. doi: 10.1016/j.athoracsur.2011.03.095
 21. Yang CJ, Shah SA, Lin BK, Van Dusen KW, Chan DY, Tan WD, et al. Right-Sided Versus Left-Sided Pneumonectomy After Induction Therapy for Non-Small Cell Lung Cancer. *Ann Thorac Surg.* 2019; 107(4): 1074-1081. doi: 10.1016/j.athoracsur.2018.10.009
 22. Pricopi C, Mordant P, Rivera C, Arame A, Foucault C, Dujon A, et al. Postoperative morbidity and mortality after pneumonectomy: a 30-year experience of 2064 consecutive patients. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2015; 20(3): 316-321. doi: 10.1093/icvts/ivu417
 23. Rodríguez M, Gómez MT, Jiménez MF, Aranda JL, Novoa N, Varela G. The risk of death due to cardiorespiratory causes increases with time after right pneumonectomy: a propensity score-matched analysis. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2013; 44(1): 93-97. doi: 10.1093/ejcts/ezs620
 24. Gaißert HA, Keum DY, Wright CD, Ancukiewicz M, Monroe E, Donahue DM, et al. POINT: Operative risk of pneumonectomy - influence of preoperative induction therapy. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2009; 138(2): 289-94. doi: 10.1016/j.jtcvs.2008.11.069
 25. Puelacher C, Lurati-Buse G, Singeisen H, Dang M, Cuculi F, Müller C. Perioperative myocardial infarction/injury after noncardiac surgery. *Swiss Med Wkly.* 2015; 145: w14219. doi: 10.4414/smw.2015.14219
 26. Frolovichova IS, Poltavskaya MG, Syrkin AL. Comparative clinical and pathological study of perioperative and ordinary fatal myocardial infarction. *Cardiology and Cardiovascular Surgery.* 2016; (5): 23-28. doi: 10.17116/kardio20169523-28 (In Russ.)

Сведения об авторах

Большеворская Ольга Александровна – врач-терапевт торакального хирургического отделения, ГБУЗ «Областной онкологический диспансер», e-mail: olbo17@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8993-2503>

Протасов Константин Викторович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой кардиологии и функциональной диагностики, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: k.v.protasov@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-6516-3180>

Баторов Юрий Климентьевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры онкологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, <https://orcid.org/0000-0001-5902-0274>

Ульбин Павел Сергеевич – врач-хирург торакального хирургического отделения, ГБУЗ «Областной онкологический диспансер», e-mail: smile_p79@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3064-8441>

Дворниченко Виктория Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, главный врач, ГБУЗ «Областной онкологический диспансер»; заведующая кафедрой онкологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: vv.dvornichenko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1777-5449>

Information about the authors

Olga A. Bolshedvorskaya – General Physician of the Thoracic Surgery Department, Irkutsk Regional Oncology Center, e-mail: olbo17@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8993-2503>

Konstantin V. Protasov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Cardiology and Functional Diagnostics, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: k.v.protasov@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-6516-3180>

Yuri K. Batorov – Dr. Sc. (Med.), Professor of the Pathology Department, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, <https://orcid.org/0000-0001-5902-0274>

Pavel S. Ulybin – Surgeon of the Thoracic Surgery Department, Irkutsk Regional Oncology Center, e-mail: smile_p79@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3064-8441>

Victoria V. Dvornichenko – Dr. Sc. (Med.), Professor, Chief Doctor, Irkutsk Regional Oncology Center; Head of the Oncology Department, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: vv.dvornichenko@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1777-5449>

Статья получена: 13.07.2019. Статья принята: 12.09.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 13.07.2019. Accepted: 12.09.2019. Published: 26.10.2019.

Роль факторов роста при спаечном процессе в брюшной полости

Дремина Н.Н.¹, Шурыгин М.Г.¹, Чепурных Е.Е.^{1,2}, Шурыгина И.А.¹

¹ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия);

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

Автор, ответственный за переписку: Дремина Наталья Николаевна, e-mail: iscst@mail.ru

Резюме

Факторы роста – высокоспециализированные биологически активные низкомолекулярные полипептиды, контролирующие процессы роста, развития и поддержания клеточных популяций. Систематический обзор посвящён роли различных факторов роста в развитии спаечного процесса в брюшной полости. Показано, что в развитии спаечного процесса в брюшной полости участвуют такие факторы роста, как ростовой фактор эндотелия сосудов, фактор роста фибробластов, трансформирующий фактор роста, тромбоцитарный фактор роста, инсулиноподобный ростовой фактор и фактор роста кератиноцитов. Каждый из перечисленных факторов вносит значительный вклад в процесс образования перитонеального фиброза. В развитии непосредственно спаечного процесса в брюшной полости главной молекулой является TGF-β1. На ранних сроках после повреждения перитонеальной брюшины значимое влияние оказывают вазоэндотелиальный фактор роста и фактор роста соединительной ткани. Показано, что блокирование трансформирующего фактора роста, вазоэндотелиального фактора роста, инсулиноподобного фактора роста, а также рецептора эпидермального фактора роста ослабляет перитонеальный фиброз.

Таким образом, повреждение любой ткани инициирует сложный многоступенчатый процесс, который регулируется большим количеством цитокинов и факторов роста. Ростовые факторы контролируют миграцию, пролиферацию, дифференцировку и выживание клеток. Кроме того, они способны влиять на экспрессию других факторов, участвующих в регенеративном ответе. Понимание процесса, развивающегося при формировании спаечного процесса в брюшной полости и влияющих на него ростовых факторов имеет важное значение для дальнейшего применения их с целью предотвращения патологического процесса.

Ключевые слова: спаечная болезнь, факторы роста, соединительная ткань

Для цитирования: Дремина Н.Н., Шурыгин М.Г., Чепурных Е.Е., Шурыгина И.А. Роль факторов роста при спаечном процессе в брюшной полости. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 98-103. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.16

Role of Growth Factors in the Adhesive Process in the Abdominal Cavity

Dremina N.N.¹, Shurygin M.G.¹, Chepurnikh E.E.^{1,2}, Shurygina I.A.¹

¹Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation); ²Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Natalya N. Dremina, e-mail: iscst@mail.ru

Abstract

Fibroproliferative diseases have been described in the lungs, kidneys, liver, eyes, heart, skin, and abdomen. Each fibrous pathology has causal factors and pathological manifestations characteristic of this organ and this condition. However, there are common mechanisms underlying many fibrous pathologies. This gives potential value to studies focused on specific processes, among which is the adhesive process in the abdominal cavity. The study of growth factors in the formation of connective tissue contributes to a better understanding of the pathogenetic picture in this pathology. It is shown that vascular endothelial growth factor, fibroblast growth factor, transforming growth factor, platelet growth factor, insulin-like growth factor and keratinocyte growth factor participate in the development of abdominal adhesions. Each of these factors contributes significantly to the formation of peritoneal fibrosis. Thus, damage to any tissue initiates a complex multistage process, which is regulated by a large number of cytokines and growth factors. Growth factors control cell migration, proliferation, differentiation, and survival. In addition, they are able to influence the expression of other factors involved in the regenerative response. Understanding the process that develops during the formation of the adhesive process in the abdominal cavity and the growth factors affecting it is important for their further use in order to prevent the pathological process.

Key words: adhesive disease, growth factors, connective tissue

For citation: Dremina N.N., Shurygin M.G., Chepurnikh E.E., Shurygina I.A. Role of Growth Factors in the Adhesive Process in the Abdominal Cavity. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 98-103. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.16

ВВЕДЕНИЕ

Факторы роста – высокоспециализированные биологически активные низкомолекулярные полипептиды, контролирующие процессы роста, развития и поддержания клеточных популяций. Функционируют росто-

вые факторы как активаторы или ингибиторы роста, участвуют в клеточной дифференцировке, ангиогенезе и апоптозе, способствуют выживанию различных типов клеток, а также регулируют многие другие клеточные функции [1]. Несмотря на то, что ростовые факторы и их

многочисленные функции исследуются довольно давно, участие их в формировании спаечного процесса в брюшной полости изучено не полностью.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Представить систематический обзор об участии факторов роста при формировании спаечного процесса в брюшной полости.

Определённая функция, которую выполняют ростовые факторы, зачастую отражается в их названиях. Однако многие факторы выполняют несколько функций, являясь мультипотентными в отношении различных типов клеток. Так, фактор роста эндотелия сосудов (vasoendothelial growth factor – VEGF) в организме не только активирует пролиферацию сосудистого эндотелия, но и влияет на миграцию, дифференцировку и подвижность фибробластов в процессе образования соединительной ткани, обеспечивая тем самым физиологическую регенерацию, или вырабатываются в ответ на повреждение (репаративная регенерация) [2, 3, 4]. Несмотря на тропность к клеткам эндотелия сосудов, уровень VEGF значительно влияет на продукцию коллагена при развитии постинфарктного кардиосклероза [5].

А фактор роста фибробластов (fibroblast growth factor – FGF) 2-го типа может выступать как активатор angiогенеза [6].

Таким образом, факторы роста играют важную роль в регуляции репаративного ответа. FGF и VEGF являются одними из основных регуляторов образования соединительной ткани, стимулируя миграцию фибробластов и рост грануляционной ткани. Данные ростовые факторы являются локальными активаторами процесса репарации повреждённой ткани [7].

Несмотря на общие закономерности при формировании соединительной ткани, имеются и особенности, зависящие от органной и тканевой локализации формирования соединительной ткани.

Следует заметить, что образование соединительной ткани в брюшной полости вследствие повреждения брюшины (перитонеальный фиброз) является тяжёлым осложнением [8]. При данном патологическом состоянии происходит активация эпителиально-мезенхимального перехода фибробластов в миофибробlastы. По сравнению с неактивными фибробластами, миофибробlastы содержат сократительные волокна, известные как стрессовые волокна, богатые гладкомышечным α -актином (α -SMA), который увеличивает их сократительную способность в зоне повреждения. Миофибробlastы, возникающие также из других источников, в том числе мезенхимальных прогениторных клеток из повреждённой ткани или костного мозга, циркулирующих прогениторных клеток, характеризуются как клетки, продуцирующие большое количество внеклеточного матрикса, в частности коллагена I типа и изоформы фибронектина. Наряду с аномальной пролиферацией α -SMA, при перитонеальном фиброзе наблюдается резкое снижение количества мезотелиальных клеток, а также утолщение субмезотелиальной зоны с накоплением коллагена [9]. Как правило, миофибробlastы по завершению ранозаживления подвергаются апоптозу, однако при патологических состояниях они способны сохраняться в месте повреждения и приобретают способность синтезировать компоненты внеклеточного матрикса, а также прово-

спаительные и проангиогенные факторы, способствуя тем самым ухудшению состояния брюшины.

Изучение экспрессии генов факторов роста при формировании спаечного процесса в брюшной полости ограничено небольшим кругом работ. В частности, установлена экспрессия трансформирующего фактора роста (transforming growth factor beta – TGF- β) в зоне формирования спаек. Так, Takai S. (2017) с группой учёных установили, что при моделировании спаечного процесса в брюшной полости никаких изменений не наблюдалось в уровне синтеза мРНК TGF- β через 1 день после операции [10]. Через 3 дня после начала эксперимента отмечался рост TGF- β , и постепенное повышение наблюдалось до 14 дней. В то же время блокирование TGF- β 1 ослабляло перитонеальный фиброз [11, 12].

Схожую картину наблюдали и другие исследователи, которые наряду с TGF- β изучали и тромбоцитарный фактор роста (platelet-derived growth factor – PDGF). Благодаря TGF и PDGF образуются матричные белки, происходит миграция фибробластов и стимуляция angiогенеза. Именно от размера комплексов, образующихся из матричных белков, и от количества фибробластов зависит выраженность фиброзных изменений в брюшной полости и её функциональные нарушения [13].

В настоящее время белки суперсемейства TGF- β считаются основными стимуляторами процесса фиброза в органах и тканях человека. Сам TGF- β секретируется клетками в неактивной форме, ассоциированный с LAP (latency-associated pro-peptide – ассоциированный с латентностью пептид – белок, полученный из N-концевой области продукта гена TGF- β). При разрыве данной связи или изменении pH в кислую сторону и происходит активация трансформирующего ростового фактора, который включает в себя три изоформы: TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3. Действие трансформирующего фактора роста происходит посредством семейства внутриклеточных белков Smad, которые активируются при связывании изоформ TGF- β с соответствующими рецепторами TGF- β R на поверхности клетки [14]. Активированная сигнальная система в клеточном ядре обеспечивает выработку белков-эффекторов. Одним из таких белков является α -SMA, экспрессию которого стимулирует воздействие TGF- β , благодаря которому и происходит трансформация фибробласта в миофибробlast.

В развитии непосредственно спаечного процесса в брюшной полости главной молекулой является TGF- β 1, так как именно он ингибирует пролиферацию мезателиальных клеток, регенерацию мезателиального слоя и чрезмерная экспрессия его коррелирует с более худшими прогнозами. Гистологический анализ биоптатов париетальной брюшины экспериментальных животных, подвергнутых воздействию данного ростового фактора подтвердил потерю монослоя мезотелиальных клеток и увеличение толщины перитонеальной мембранны по сравнению с животными контрольной группы, которым вводили физиологический раствор. В то же время введение TGF- β 1 – блокирующих пептидов экспериментальным животным значительно улучшило состояние брюшины и сохранило мезотелий [15].

Наряду с TGF- β 1 на ранних сроках после повреждения перитонеальной брюшины значимое влияние оказывает VEGF и фактор роста соединительной ткани (connective tissue growth factor – CTGF). CTGF, как и VEGF,

является мультипотентным фактором, влияя на пролиферацию, миграцию, продукцию матрикса, ангиогенез, адгезию и формирование грануляционной ткани, а также чрезмерно экспрессируется при различных фиброзных состояниях. Так, выявлено, что при фиброзе в перитонеальной брюшине экспрессия генов CTGF повышена в 35 раз, TGF- β 1 – в 24 раза и VEGF – в 77 раз [16], а максимальное повышение CTGF отмечено в сроки от 6 до 15 дней [17]. Известно, что CTGF обладает синергизмом с TGF- β 1 благодаря взаимодействию с интегрином альфа-V [18]. В эксперименте исследователями было доказано, что при внутрибрюшинном введении одновременно CTGF и TGF- β 2 активировался фиброзный процесс и наблюдалось образование спаек.

По мнению некоторых исследователей, фиброзные изменения всё же начинаются с активации VEGF. На начальной стадии процесса резко повышается уровень транскрипции и экспрессии VEGF-A, происходит миграция и пролиферация эндотелиоцитов. Активированные тромбоциты и макрофаги высвобождают VEGF-A и фактор некроза опухоли TNF- α , который индуцирует экспрессию VEGF-A в фибробластах. Другие цитокины и факторы роста, действуют как паракринные факторы, повышающие экспрессию VEGF-A, что в итоге стимулирует повышенную выработку коллагена в образующейся ткани [19].

Кроме того, в перитонеальных мезотелиальных клетках и перитонеальных макрофагах были обнаружены гепарин-связывающий эпидермальный фактор роста (HB-EGF), два рецептора к HB-EGF и рецептор EGF (EGFR). Отмечено, что взаимодействие эпидермального фактора роста (epidermal growth factor – EGF), HB-EGF и перитонеальных мезотелиоцитов индуцирует морфологическое изменение каждого фактора в сторону фибробластического фенотипа. Экспрессия EGFR была изучена в эксперименте по моделированию перитонеального фиброза, в котором выявлено, что фосфорилирование EGFR наблюдалось уже на 7-е сутки, постепенно нарастало и достигало максимума на 35-е сутки, в то время как экспрессия общего EGFR увеличивалась с 14-х суток с максимальными показателями также на 35-е сутки. Введение специфического ингибитора EGFR – гефитиниба сразу после моделирования перитонеального фиброза предотвращает начало патологического процесса, а введение препарата непосредственно при развитии перитонеального фиброза останавливает прогрессирование последнего [20]. В эксперименте доказано, что толщина субмезотелиальной зоны у крыс при введении гефитиниба была достоверно меньше в сравнении с контрольной группой животных. Воздействие гефитинибом наряду с ингибированием утолщения субмезотелиальной зоны, уменьшает площадь коллагеновых волокон, снижая экспрессию коллагена I типа и α -SMA, TGF- β 1, подавляя продукцию воспалительных цитокинов и инфильтрацию макрофагов в брюшине, а также воздействует на ангиогенез, ингибируя экспрессию VEGF в брюшине.

В другом исследовании группой учёных было доказано, что локальное применение эпидермального фактора роста (epidermal growth factor – EGF) в составе желатиновой лекарственной плёнки снижало интенсивность спайкообразования в брюшной полости [21].

Аналогичный эффект отмечен при интраперитонеальном применении препарата Bevacizumab – рекомбинантных моноклональных антител типа IgG1,

blokiрующих VEGF, также снижает интенсивность спайкообразования в брюшной полости [22]. Так, в группе экспериментальных животных с применением препарата Bevacizumab выявлено статистически значимое снижение образования фиброза, как при макроскопическом, так и при микроскопическом исследовании. В настоящее время рекомбинантные моноклональные антитела рассматриваются как эффективное средство профилактики внутрибрюшного фиброза, однако наблюдаются и различные побочные эффекты. Следовательно, данный препарат как ингибитор VEGF и потенциальный терапевтический препарат требует дальнейшего исследования.

Аналогичная картина наблюдалась при блокаде инсулиноподобного фактора роста (insulin-like growth factor – IGF-1), который участвует в эндокринной, аутокринной и паракринной регуляции процессов роста, развития и дифференцировки клеток и тканей организма. В пределах повреждённой ткани IGF-1 стимулирует пролиферацию кератиноцитов и фибробластов, участвует в фиброгенезе и образовании грануляционной ткани. Результаты данного исследования показали, что внутрибрюшинное введение блокаторов IGF-1 значительно снижает образование спаек в брюшной полости [23].

Не остался в стороне и фактор роста кератиноцитов (keratinocyte growth factor – KGF). Доказано, что KGF, являясь членом семейства факторов роста фибробластов и более известен как FGF-7, улучшает пролиферацию мезотелиальных клеток, которые усиливают фибринолитическую активность для подавления послеоперационного фиброза [24]. Так, введение экспериментальным животным KGF после операции по моделированию спаечного процесса значительно снижало внутрибрюшинное спайкообразование и отложение фибрина, а также улучшало репарацию мезотелиальных клеток. Уровни экспрессии TGF- β 1, фибриногена и α -SMA, а также мРНК в брюшине или адгезионных тканях крыс также были снижены после введения KGF. Применение фактора роста кератиноцитов наряду с подавлением внутрибрюшного фиброза позволяет также предотвратить послеоперационное кровотечение. Данное исследование позволяет предположить, что введение KGF может быть перспективной фармакотерапевтической стратегией профилактики абдоминальных спаек, что заслуживает дальнейшего изучения и имеет потенциальную ценность в клиническом применении.

Также KGF способствует пролиферации и росту эпителиальных клеток и увеличивает скорость эпителизации [25]. Являясь мощным митогеном для различных типов эпителиальных клеток, данный ростовой фактор регулирует миграцию и дифференцировку эпителиоцитов и защищает клетки от различных повреждений в стрессовых условиях.

FGF2, являясь одним из основных цитокинов, способствующих пролиферации и миграции фибробластов, в то же время признан мощным антифибротическим средством при нанесении на кожные раны. И хотя роль FGF2 как эффективного антифибротического средства ясна, механизмы, лежащие в основе его терапевтических эффектов, до конца не изучены. Известно, что FGF2 является антагонистом перехода фибробластов и их предшественников в миофибробlastы, а также способствует апоптозу последних.

В эксперименте на животных продемонстрировано, что FGF2 ускорил заживление кожной раны, одновременно снизил выработку коллагена I и III типов в сравнении с контрольной группой животных. А введение данного ростового фактора в послеоперационные раны приводило к увеличению апоптоза фибробластов грануляционной ткани и последующему уменьшению фиброза ткани, благодаря способности снижать количество аберрантных миофибробластов путём апоптоза [26].

Кроме того, FGF2 нарушает или предотвращает передачу сигналов TGF-β в фибробластах, являющихся, как известно, первичным химическим медиатором активации фибробластов, а также одним из главных фигурантов в различных состояниях, связанных с избыточным ростом соединительной ткани.

Последние данные свидетельствуют о том, что некоторые антифибротические эффекты FGF2 могут протекать через микроРНК-опосредованные механизмы. МикроРНК являются некодирующими РНК, обладающими способностью регулировать экспрессию генов специфичным для последовательности образом, и вовлечены в различные состояния, включая фиброз [27, 28].

Кроме того, доказано, что введение экзогенного FGF2 в культуру взрослых человеческих дермальных фибробластов приводит к существенному понижению экспрессии базального интегрина α11, участвующего в дифференцировке фибробластов в миофибробласти при патологическом фиброзе [29].

Существуют также сообщения о том, что FGF-2 регулирует экспрессию других цитокинов, участвующих в фиброзе. В жировых стволовых клетках, которые, как и фибробласти, получены из мезенхимальных предшественников, FGF2 регулирует экспрессию антифибротического цитокина HGF (hepatocyte growth factor), который зависит от активности JNK (c-Jun N-terminal kinase). In vivo ингибирование JNK, HGF или FGF-2 в мышиной модели ишемии-реперфузии жировой ткани приводило к значительному увеличению выраженности фиброза.

На сегодняшний день не возникает сомнения в том, что FGF-2 является антифибротическим фактором. Однако многие механизмы при этом до конца не ясны и требуется более тонкое понимание как FGF-2 смещает каскад реакций от патологического фиброза к функциональной регенерации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Повреждение любой ткани инициирует сложный многоступенчатый процесс, который регулируется большим количеством цитокинов и факторов роста. Ростовые факторы контролируют миграцию, пролиферацию, дифференцировку и выживание клеток. Кроме того, они способны влиять на экспрессию других факторов, участвующих в регенеративном ответе. Понимание процесса, развивающегося при формировании спаечного процесса в брюшной полости и влияющих на него ростовых факторов имеет важное значение для дальнейшего применения их с целью предотвратить патологический процесс, способствуя регенерации органов.

ЛИТЕРАТУРА

- Maddaluno L, Urwyler C, Werner S. Fibroblast growth factors: key players in regeneration and tissue repair. *Development*. 2017; 144(22): 4047-4060. doi: 10.1242/dev.152587
- Zhao J, Hu L, Liu J, Gong N, Chen L. The effects of cytokines in adipose stem cell-conditioned medium on the migration and proliferation of skin fibroblasts in vitro. *BioMed. Research. International*. 2013; 2013: 578479. doi: 10.1155/2013/578479
- Apte RS, Chen DS, Ferrara N. VEGF in signaling and disease: beyond discovery and development. *Cell*. 2019; 176(6): 1248-1264. doi: 10.1016/j.cell.2019.01.021
- Шурыгин М.Г., Шурыгина И.А., Дремина Н.Н. Динамика факторов роста эндотелия сосудов и фиброластического фактора роста при экспериментальном инфаркте миокарда. *Acta Biomedica Scientifica*. 2007; 6(58): 169-174.
- Шурыгин М.Г., Шурыгина И.А., Дремина Н.Н. Влияние фактора роста эндотелия сосудов на уровень коллагенообразования в процессе развития постинфарктного кардиосклероза. *Сибирский медицинский журнал*. 2008; 78(3): 53-55.
- Шурыгин М.Г., Шурыгина И.А. Фактор роста фибробластов как стимулятор аngиогенеза при инфаркте миокарда. *Бюллетень СО РАМН*. 2010; 30(6): 89-92.
- Dolivo DM, Larson SA, Dominko T. Fibroblast growth factor 2 as an antifibrotic: antagonism of myofibroblast differentiation and suppression of pro-fibrotic gene expression. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2017; 38: 49-58. doi: 10.1016/j.cytogfr.2017.09.003
- Аюшинова Н.И., Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Григорьев Е.Г. Госпитальная эпидемиология спаечной болезни брюшной полости. *Acta Biomedica Scientifica*. 2016; 1. 4(110): 115-118.
- Tomino Y. Mechanisms and interventions in peritoneal fibrosis. *Clin Exp Nephrol*. 2012; 16(1): 109-114. doi: 10.1007/s10157-011-0533-y
- Takai S, Yoshino M, Takao K, Yoshikawa K, Jin D. Periostin antisense oligonucleotide prevents adhesion formation after surgery in mice. *J Pharmacol Sci*. 2017; 133(2): 65-69. doi: 10.1016/j.jphs.2016.10.009
- Lv ZD, Zhao WJ, Jin LY, Wang WJ, Dong Q, Li N, Xu H.M, Wang HB. Blocking TGF-β1 by P17 peptides attenuates gastric cancer cell induced peritoneal fibrosis and prevents peritoneal dissemination in vitro and in vivo. *Biomed Pharmacother*. 2017; 88: 27-33. doi: 10.1016/j.bioph.2017.01.039
- Bianchi E, Boekelheide K, Sigman M, Lamb DJ, Hall SJ, Hwang K. Ghrelin inhibits post-operative adhesions via blockage of the TGF-β signaling pathway. *PLoS One*. 2016; 11(4): e0153968. doi: 10.1371/journal.pone.0153968
- Сахаров В.Н., Литвицкий П.Ф. Роль различных фенотипов макрофагов в развитии заболеваний человека. *Вестник РАМН*. 2015; (1): 26-31.
- Ma TT, Meng XM. TGF-β/Smad and renal fibrosis. *Adv Exp Med Biol*. 2019; 1165: 347-364. doi: 10.1007/978-981-13-8871-2_16
- Loureiro J, Aguilera A, Selgas R, Sandoval P, Albar-Vizcaíno P, Pérez-Lozano ML, et al. Blocking TGF-β1 protects the peritoneal membrane from dialysate-induced damage. *J Am Soc Nephrol*. 2011; 22(9): 1682-1695. doi: 10.1681/ASN.2010111197
- Abrahams AC, Habib SM, Dendooven A, Riser BL, van der Veer JW, Toorop RJ, et al. Patients with encapsulating peritoneal sclerosis have increased peritoneal expression of connective tissue growth factor (CCN2), transforming growth factor-β1, and vascular endothelial growth factor. *PLoS One*. 2014; 9(11): e112050. doi: 10.1371/journal.pone.0112050
- Thaler K, Mack JA, Berho M, Grotendorst G, Wexner SD, Abramson SR. Coincidence of connective tissue growth factor expression with fibrosis and angiogenesis in postoperative peritoneal adhesion formation. *Eur Surg Res*. 2005; 37(4): 235-241.
- Wang Q, Usinger W, Nichols B, Gray J, Xu L, Seeley TW, Brenner M, Guo G, Zhang W, Oliver N, Lin A, Yeowell D. Cooperative interaction of CTGF and TGF-beta in animal models of fibrotic disease. *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2011; 4(1): 4. doi: org/10.1186/1755-1536-4-4
- Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen*. 2008; 16(5): 585-601. doi: 10.1111/j.1524-475X.2008.00410.x

20. Wang L, Liu N, Xiong C, Xu L, Shi Y, Qiu A, Zang X, Mao H, Zhuang S. Inhibition of EGF receptor blocks the development and progression of peritoneal fibrosis. *JASN*. 2016; 27(9): 2631-2644. doi.org/10.1681/ASN.2015030299
21. Uguralp S, Akin M, Karabulut AB, Harma B, Kiziltay A, Kiran TR, Hasirci N. Reduction of peritoneal adhesions by sustained and local administration of epidermal growth factor. *Pediatr Surg Int*. 2008; 24(2): 191-197.
22. Acun G, Ozdemir H, Sunamak O, Ozdemir ZU, Baskan E, Yazi M, Savas B, Berberoglu U. The effect of single-dose intraperitoneal bevacizumab on peritoneal adhesion formation. *Rev Invest Clin*. 2018; 70(6): 279-284. doi: 10.24875/RIC.18002589
23. Gimbel ML, Chelius D, Hunt TK, Spencer EM. A novel approach to reducing postoperative intraperitoneal adhesions through the inhibition of insulinlike growth factor I activity. *Arch Surg*. 2001; 136(3): 311-317.
24. Wei G, Zhou C, Wang G, Fan L, Wang K, Li X. Keratinocyte growth factor combined with a sodium hyaluronate gel inhibits postoperative intra-abdominal adhesions. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17(10): 1611. doi.org/10.3390/ijms17101611
25. Yen TT, Thao DT, Thuoc TL. An overview on keratinocyte growth factor: from the molecular properties to clinical applications. *Protein Pept Lett*. 2014; 21(3): 306-317.
26. Ishiguro S, Akasaka Y, Kiguchi H, Suzuki T, Imaizumi R, Ishikawa Y, Ito K, Ishii T. Basic fibroblast growth factor induces down-regulation of alpha-smooth muscle actin and reduction of myofibroblast areas in open skin wounds. *Wound Repair Regen*. 2009; 17(4): 617-625. doi: 10.1111/j.1524-475X.2009.00511.x
27. Li Y, Kowdley KV. Micro RNAs in common human diseases. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2012; 10(5): 246-253. doi: 10.1016/j.gpb.2012.07.005
28. O'Reilly S. Micro RNAs in fibrosis: opportunities and challenges. *Arthritis Res Ther*. 2016; 18:11. doi: 10.1186/s13075-016-0929-x
29. Grella A, Kole D, Holmes W, Dominko T. FGF2 overrides TGF β 1-driven integrin ITGA11 expression in human dermal fibroblasts. *J Cell Biochem*. 2016; 117(4): 1000-1008. doi: 10.1002/jcb.25386
9. Tomino Y. Mechanisms and interventions in peritoneal fibrosis. *Clin Exp Nephrol*. 2012; 16(1): 109-114. doi: 10.1007/s10157-011-0533-y
10. Takai S, Yoshino M, Takao K, Yoshikawa K, Jin D. Periostin antisense oligonucleotide prevents adhesion formation after surgery in mice. *J Pharmacol Sci*. 2017; 133(2): 65-69. doi: 10.1016/j.jphs.2016.10.009
11. Lv ZD, Zhao WJ, Jin LY, Wang WJ, Dong Q, Li N, Xu H.M, Wang HB. Blocking TGF- β 1 by P17 peptides attenuates gastric cancer cell induced peritoneal fibrosis and prevents peritoneal dissemination in vitro and in vivo. *Biomed Pharmacother*. 2017; 88: 27-33. doi: 10.1016/j.bioph.2017.01.039
12. Bianchi E, Boekelheide K, Sigman M, Lamb DJ, Hall SJ, Hwang K. Ghrelin inhibits post-operative adhesions via blockage of the TGF- β signaling pathway. *PLoS One*. 2016; 11(4): e0153968. doi: 10.1371/journal.pone.0153968
13. Sakharov VN, Litvitskiy PF. The role of different phenotypes of macrophages in the development of human diseases. *Vestnik RAMN*. 2015; (1): 26-31
14. Ma TT, Meng XM. TGF- β /Smad and renal fibrosis. *Adv Exp Med Biol*. 2019; 1165: 347-364. doi: 10.1007/978-981-13-8871-2_16
15. Loureiro J, Aguilera A, Selgas R, Sandoval P, Albar-Vizcaíno P, Pérez-Lozano ML, et al. Blocking TGF- β 1 protects the peritoneal membrane from dialysate-induced damage. *J Am Soc Nephrol*. 2011; 22(9): 1682-1695. doi: 10.1681/ASN.20101111197
16. Abrahams AC, Habib SM, Dendooven A, Riser BL, van der Veer JW, Toorop RJ, et al. Patients with encapsulating peritoneal sclerosis have increased peritoneal expression of connective tissue growth factor (CCN2), transforming growth factor- β 1, and vascular endothelial growth factor. *PLoS One*. 2014; 9(11): e112050. doi: 10.1371/journal.pone.0112050
17. Thaler K, Mack JA, Berho M, Grotendorst G, Wexner SD, Abramson SR. Coincidence of connective tissue growth factor expression with fibrosis and angiogenesis in postoperative peritoneal adhesion formation. *Eur Surg Res*. 2005; 37(4): 235-241.
18. Wang Q, Usinger W, Nichols B, Gray J, Xu L, Seeley TW, Brenner M, Guo G, Zhang W, Oliver N, Lin A, Yeowell D. Cooperative interaction of CTGF and TGF- β in animal models of fibrotic disease. *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2011; 4(1): 4. doi: org/10.1186/1755-1536-4-4
19. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen*. 2008; 16(5): 585-601. doi: 10.1111/j.1524-475X.2008.00410.x
20. Wang L, Liu N, Xiong C, Xu L, Shi Y, Qiu A, Zang X, Mao H, Zhuang S. Inhibition of EGF receptor blocks the development and progression of peritoneal fibrosis. *JASN*. 2016; 27(9): 2631-2644. doi.org/10.1681/ASN.2015030299
21. Uguralp S, Akin M, Karabulut AB, Harma B, Kiziltay A, Kiran TR, Hasirci N. Reduction of peritoneal adhesions by sustained and local administration of epidermal growth factor. *Pediatr Surg Int*. 2008; 24(2): 191-197.
22. Acun G, Ozdemir H, Sunamak O, Ozdemir ZU, Baskan E, Yazi M, Savas B, Berberoglu U. The effect of single-dose intraperitoneal bevacizumab on peritoneal adhesion formation. *Rev Invest Clin*. 2018; 70(6): 279-284. doi: 10.24875/RIC.18002589
23. Gimbel ML, Chelius D, Hunt TK, Spencer EM. A novel approach to reducing postoperative intraperitoneal adhesions through the inhibition of insulinlike growth factor I activity. *Arch Surg*. 2001; 136(3): 311-317.
24. Wei G, Zhou C, Wang G, Fan L, Wang K, Li X. Keratinocyte growth factor combined with a sodium hyaluronate gel inhibits postoperative intra-abdominal adhesions. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17(10): 1611. doi.org/10.3390/ijms17101611
25. Yen TT, Thao DT, Thuoc TL. An overview on keratinocyte growth factor: from the molecular properties to clinical applications. *Protein Pept Lett*. 2014; 21(3): 306-317.
26. Ishiguro S, Akasaka Y, Kiguchi H, Suzuki T, Imaizumi R, Ishikawa Y, Ito K, Ishii T. Basic fibroblast growth factor induces

REFERENCES

1. Maddaluno L, Urwyler C, Werner S. Fibroblast growth factors: key players in regeneration and tissue repair. *Development*. 2017; 144(22): 4047-4060. doi: 10.1242/dev.152587
2. Zhao J, Hu L, Liu J, Gong N, Chen L. The effects of cytokines in adipose stem cell-conditioned medium on the migration and proliferation of skin fibroblasts in vitro. *BioMed. Research. International*. 2013; 2013: 578479. doi: 10.1155/2013/578479
3. Apte RS, Chen DS, Ferrara N. VEGF in signaling and disease: beyond discovery and development. *Cell*. 2019; 176(6): 1248-1264. doi: 10.1016/j.cell.2019.01.021
4. Shurygin MG, Shurygina IA, Dremina NN. Dynamics of vascular endothelial growth factors and fibroblastic growth factor in experimental myocardial infarction. *Acta Biomedica Scientifica*. 2007; 6(58): 169-174. (In Russ.)
5. Shurygin MG, Shurygina IA, Dremina NN. Influence of vascular endothelial growth factor on the level of collagen formation during the development of postinfarction cardiosclerosis. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2008; 78(3): 53-55. (In Russ.)
6. Shurygin MG, Shurygina IA. Fibroblast growth factor as a stimulator of angiogenesis in myocardial infarction. *Byulleten' SO RAMN*. 2010; 30(6): 89-92. (In Russ.)
7. Dolivo DM, Larson SA, Dominko T. Fibroblast growth factor 2 as an antifibrotic: antagonism of myofibroblast differentiation and suppression of pro-fibrotic gene expression. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2017; 38: 49-58. doi: 10.1016/j.cytogfr.2017.09.003
8. Ayushinova NI, Shurygina IA, Shurygin MG, Grigoryev EG. Hospital epidemiology of peritoneal commissures in abdominal cavity. *Byulleten' VSNTs SO RAMN*. 2016; 1. 4(110): 115-118. (In Russ.)

- down-regulation of alpha-smooth muscle actin and reduction of myofibroblast areas in open skin wounds. *Wound Repair Regen.* 2009; 17(4): 617-625. doi: 10.1111/j.1524-475X.2009.00511.x
27. Li Y, Kowdley KV. Micro RNAs in common human diseases. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2012; 10(5): 246-253. doi: 10.1016/j.gpb.2012.07.005
28. O'Reilly S. Micro RNAs in fibrosis: opportunities and challenges. *Arthritis Res Ther.* 2016; 18:11. doi: 10.1186/s13075-016-0929-x
29. Grella A, Kole D, Holmes W, Dominko T. FGF2 overrides TGF β 1-driven integrin ITGA11 expression in human dermal fibroblasts. *J Cell Biochem.* 2016; 117(4): 1000-1008. doi: 10.1002/jcb.25386

Сведения об авторах

- Дремина Наталья Николаевна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий и регенеративной медицины, ФГБНУ Иркутский научный центр хирургии и травматологии, e-mail: iscst@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2540-4525>
- Шурыгин Михаил Геннадьевич** – доктор медицинских наук, заведующий научно-лабораторным отделом, ФГБНУ Иркутский научный центр хирургии и травматологии, e-mail: iscst@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5921-0318>
- Чепурных Елена Евгеньевна** – кандидат медицинских наук, учёный секретарь, ФГБНУ Иркутский научный центр хирургии и травматологии; доцент кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: iscst@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3197-4276>
- Шурыгина Ирина Александровна** – доктор медицинских наук, профессор РАН, заместитель директора по научной работе, ФГБНУ Иркутский научный центр хирургии и травматологии, e-mail: iscst@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3980-050X>

Information about the authors

- Natalya N. Dremina** – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cell Technologies and Regenerative Medicine, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: iscst@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2540-4525>
- Mikhail G. Shurygin** – Dr. Sc. (Med.), Head of the Scientific Laboratory Department, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: iscst@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5921-0318>
- Elena E. Chepurnikh** – Cand. Sc. (Med.), Academic Secretary, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Associate Professor at the Department of Advanced Level Surgery, Irkutsk State Medical University, e-mail: iscst@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3197-4276>
- Irina A. Shurygina** – Dr. Sc. (Med.). Professor of RAS, Deputy Director for Science, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: iscst@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3980-050X>

Статья получена: 3.09.2019. Статья принята: 26.09.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.
Received: 3.09.2019. Accepted: 26.09.2019. Published: 26.10.2019.

Спорные вопросы этиологии и патогенеза третичного гиперпаратиреоза

Берсенев Г.А.¹, Ильичёва Е.А.¹, Булгатов Д.А.^{1,2}

¹ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия);

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

Автор, ответственный за переписку: Берсенев Глеб Александрович, e-mail: glbersenev17@gmail.com

Резюме

Гиперпаратиреоз является клинико-лабораторным синдромом, который характеризуется повышенной продукцией паратиреоидного гормона основными клетками околощитовидных желёз, нарушением фосфорно-кальциевого обмена и поражением органов-мишений (почки, костная ткань). Выделяют первичный, вторичный и третичный гиперпаратиреоз. Данный обзор литературы посвящён вопросам этиологии и патогенеза третичного гиперпаратиреоза.

Обзор включает разделы: определение понятий различных форм гиперпаратиреоза; роль витамина D в регуляции фосфорно-кальциевого обмена; развитие третичного гиперпаратиреоза у пациентов с хронической болезнью почек; развитие третичного гиперпаратиреоза у пациентов после трансплантации почек; развитие третичного гиперпаратиреоза у пациентов с дефицитом витамина D.

Цель: целью данного обзора литературы является изучение имеющихся на сегодняшний день данных о понятии, этиологии и патогенезе третичного гиперпаратиреоза.

Методология. Выполнен обзор литературы в англоязычных базах данных MEDLINE (Pubmed), Scopus, Cochlear library, используя ключевые слова: «secondary hyperthyroidism pathogenesis diagnosis treatment», «tertiary hyperthyroidism pathogenesis diagnosis treatment», «development of tertiary hyperthyroidism from secondary hyperthyroidism», «chronic vitamin D deficiency, hyperthyroidism», «early stages of chronic renal failure, hyperthyroidism». Так же был выполнен поиск в русскоязычной базе данных elibrary, используя ключевые слова: «вторичный гиперпаратиреоз патогенез, диагностика лечение», «третичный гиперпаратиреоз патогенез, диагностика, лечение», «прогрессирование вторичного гиперпаратиреоза», «дефицит витамина D и гиперпаратиреоз». Критерием отбора являлся возраст статей не старше 15 лет от момента публикации.

Обсуждение. Как отсутствие единого понимания определения данной проблемы, так наличие многообразных и противоречивых данные об этиологии и патогенезе говорят о необходимости дальнейшего изучения вопроса третичного гиперпаратиреоза.

Ключевые слова: гиперпаратиреоз, первичный гиперпаратиреоз, вторичный гиперпаратиреоз, третичный гиперпаратиреоз, хроническая болезнь почек, трансплантация почки, дефицит витамина D, этиология третичного гиперпаратиреоза, патогенез третичного гиперпаратиреоза

Для цитирования: Берсенев Г.А., Ильичёва Е.А., Булгатов Д.А. Спорные вопросы этиологии и патогенеза третичного гиперпаратиреоза. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 104-115. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.17

Disputable Issues of Etiology and Pathogenesis of Tertiary Hyperthyroidism

Bersenev G.A.¹, Ilyicheva E.A.¹, Bulgatov D.A.²

¹Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation); ²Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Gleb A. Bersenev, e-mail: glbersenev17@gmail.com

Abstract

Hyperthyroidism is a clinical and laboratory syndrome characterized by high production of the chief cells of the parathyroid hormone, a calcium-phosphorus metabolism disorder and the organ failure (kidneys, bone tissue). There are primary, secondary and tertiary hyperthyroidism.

This literature review is focused on tertiary hyperthyroidism and includes the following sections: definition of different forms of hyperthyroidism, the role of vitamin D in the tertiary hyperthyroidism development, the development of tertiary hyperthyroidism in chronic kidney disease patients, the development of tertiary hyperthyroidism in patients after kidney transplantation, differential diagnosis various forms of hyperthyroidism, indications for surgical tertiary hyperthyroidism treatment in patients with kidney disease, in patients with normal kidney function.

Objective. The objective of this literature review is to study the current information about this definition, pathogenesis, diagnosis and treatment of tertiary hyperthyroidism.

Methodology. The literature review was taken in English data bases MEDLINE (Pubmed), Scopus, Cochlear library, using following keywords: «secondary hyperthyroidism pathogenesis diagnosis treatment», «tertiary hyperthyroidism pathogenesis diagnosis treatment», «development of tertiary hyperthyroidism from secondary hyperthyroidism», «chronic vitamin D deficiency, hyperthyroidism», «early stages of chronic renal failure, hyperthyroidism». Also, search for the same keywords was completed in Russian data base Elibrary.

Discussion. Both the lack of a common understanding of this problem, and the presence of diverse and contradictory data of the etiology and pathogenesis indicate the need for further study of tertiary hyperthyroidism.

Key words: *hyperparathyroidism, primary hyperparathyroidism, secondary hyperparathyroidism, tertiary hyperparathyroidism, chronic kidney disease, kidney transplantation, vitamin D deficiency, differential diagnosis, surgical treatment*

For citation: Bersenev G.A., Ilyicheva E.A., Bulgatov D.A. Disputable Issues of Etiology and Pathogenesis of Tertiary Hyperparathyroidism. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 104-115. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.17

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОНЯТИЙ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ГИПЕРПАРАТИРЕОЗА

Гиперпаратиреоз (ГПТ) является клинико-лабораторным синдромом, который характеризуется повышенной продукцией паратиреоидного гормона (ПТГ) основными клетками околощитовидных желёз, нарушением фосфорно-кальциевого обмена и поражением органов-мишеней (почки, костная ткань). В рамках данного состояния повышенный синтез ПТГ может возникать как автономно (не зависимо от уровня кальция крови), так и в ответ на физиологические стимулы [1].

В зависимости от различных патогенетических механизмов выделяют первичный, вторичный и третичный гиперпаратиреоз.

Первичный гиперпаратиреоз (ПГПТ) развивается в результате автономной продукции ПТГ околощитовидными железами. Патоморфологической основой ПГПТ является развитие аденомы (80–85 % случаев), гиперплазии (15–20 % случаев), а также рака околощитовидной железы (1–5 % случаев). При ПГПТ уровень кальция определяется в пределах верхней границы нормы или является повышенным [2, 3]. На сегодняшний день ПГПТ – самая распространённая причина гиперкальциемии, с ежегодной заболеваемостью от 34 до 120 случаев на 100 000 населения [1, 4, 5, 6]. Большинство случаев ПГПТ являются спорадическими (95 %). В 5 % случаях первичный гиперпаратиреоз рассматривается в рамках наследственных синдромов: синдром множественной эндокринной неоплазии (MEN-1, MEN-2A, MEN-4), гиперпаратиреоидный туморомандибулярный синдром (НРТ-ЖТ), семейная гипокальциурическая гиперкальциемия (FHH-1, FHH-2, FHH-3), семейная гиперкальциурия гиперкальциемия, тяжёлый неонатальный гиперпаратиреоидизм и изолированный семейный гиперпаратиреоз [4, 7]. Пик заболеваемости приходится на трудоспособный возраст 40–50 лет, при этом среди женщин распространённость в 2 раза выше мужчин.

Вторичный гиперпаратиреоз (ВГПТ) является результатом естественных физиологических стимулов продукции ПТГ – гипокальциемии, гиперфосфатемии и низкого уровня кальцитриола в крови с развитием диффузной функциональной гиперплазии ткани околощитовидных желёз [8]. Для ВГПТ характерна умеренная гипокальциемия или нормальная концентрация общего кальция. В современной литературе наблюдается разделение ВГПТ на две этиологические категории: ВГПТ при хронической болезни почек (уреический ВГПТ) и ВГПТ вследствие других причин (не уреический ВГПТ). Этиологической основой не уреического ГПТ является недостаточность/дефицит витамина D, мальабсорбция пищевого кальция при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, повышенная экскреция кальция почками [9].

Термин «третичный гиперпаратиреоз» впервые был предложен St. Goar. Он в 1963 г. опубликовал в «Медицинском журнале Новой Англии» клинический случай о пациенте 37 лет с хронической болезнью почек, у которого развилась функциональная автономия околощитовидной

железы, приводящая к формированию аденомы околощитовидной железы [10].

На сегодняшний день нет единого общепринятого определения третичного гиперпаратиреоза (ТГПТ). В русскоязычных источниках под ТГПТ понимается развитие автономно функционирующей аденомы околощитовидной железы и увеличение выработки ПТГ на фоне длительно существующего вторичного гиперпаратиреоза [11]. Среди иностранных авторов существует два определения ТГПТ. «Третичным» называется гиперкальциемический гиперпаратиреоз, при котором формируется состояние автономной функции ткани околощитовидной железы [12]. Так же ТГПТ является гиперпаратиреоз, который сохраняется и/или прогрессирует после трансплантации почки [13].

РОЛЬ ВИТАМИНА D В РЕГУЛЯЦИИ ФОСФОРНО-КАЛЬЦИЕВОГО ОБМЕНА

Витамин D является одним из составляющих фосфорно-кальциевого обмена [14, 15]. Начальный этап синтеза витамина D связан с биологически инертными метаболитами – эргокальциферолом (витамин D2) и холекальциферолом (витамин D3) [16, 17, 18]. Эргокальциферол, образующийся в клетках растений, с продуктами питания поступает в пищеварительный тракт человека. Холекальциферол образуется реакцией фотолиза в эпидермисе кожи. В организме человека холекальциферол и эргокальциферол взаимодействуют с витамин D-связывающим белком (Vitamin D-binding protein, DBP). Этот белок осуществляет транспортировку метаболитов витамина D в организме человека стоком крови. Большая часть связанных метаболитов доставляется в печень, а остальная транспортируется в адипоциты, в которых формируется депонирование витамина D [16, 17].

Метаболиты витамина D приобретают биологическую активность в двух последовательных реакциях гидроксилирования. Первая реакция происходит при участии фермента 25-гидроксилазы в печени, где холекальциферол и эргокальциферол превращаются в первый активный метаболит – кальцидиол (25-гидроксивитамин D, 25(OH)D). Кальцидиол – это основной циркулирующий активный метаболит витамина D. Период его жизни составляет 3 недели. Именно по уровню содержания кальцидиола определяется недостаточность/дефицит витамина D [16, 17, 18, 19].

На сегодняшний день существуют разногласия относительно уровня определения недостаточности/дефицита витамина D по концентрации кальцидиола среди международных профессиональных организаций [14, 16, 18, 20, 21, 22]. В таблице 1 представлены различия в установлении уровня недостаточности/ дефицита витамина D.

Российской ассоциацией эндокринологов приняты следующие значения для определения уровней недостаточности/ дефицита витамина D, относительно уровня кальцидиола [22]:

- дефицит – менее 20 нг/мл (менее 50 нмоль/л);

Таблица 1

Различия в установлении уровня недостаточность/дефицита витамина D среди международных профессиональных организаций

Table 1

Differences in establishing vitamin D insufficiency/deficiency among international professional organizations

Профессиональная организация	Достаточный уровень витамина D	Недостаточность витамина D	Дефицит витамина D
Международное общество эндокринологов [23]	более 30 нг/мл (более 75 нмоль/л)	21–29 нг/мл (51–74 нмоль/л)	менее 20 нг/мл (менее 50 нмоль/л)
США. Институт медицины [24]	более 20 нг/мл (более 50 нмоль/л)	12–20 нг/мл (30–50 нмоль/л)	менее 12 нг/мл (< 30 нмоль/л)
Великобритания. Национальный институт остеопороза [25]	более 20 нг/мл (более 50 нмоль/л)	12–20 нг/мл (30–50 нмоль/л)	менее 12 нг/мл (менее 30 нмоль/л)
Европейское общество клинико-экономических аспектов остеопороза – ESCEO [26]	20–30 нг/мл (50–75 нмоль/л)	менее 20 нг/мл (менее 50 нмоль/л)	менее 10 нг/мл (менее 25 нмоль/л)

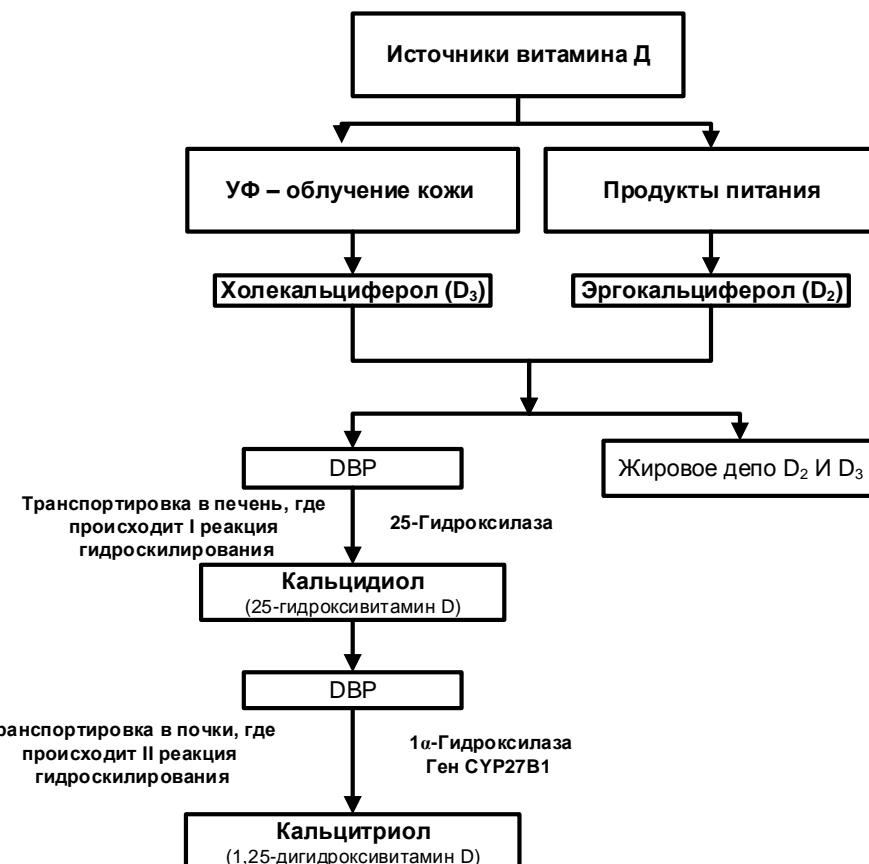


Рис. 1. Синтез биологически активных форм витамина D.

Fig. 1. Synthesis of biologically active forms of vitamin D.

- недостаточность – от 20 до 30 нг/мл (от 50 до 75 нмоль/л);
- достаточный уровень – более 30 нг/мл (более 75 нмоль/л).

Вторая реакция гидроксилирования происходит в почках, куда кальцидиол доставляется в связанным с DBP виде. Данный процесс происходит под действием фермента 1 α -гидроксилазы (ген CYP27B1) с образованием биологически активной формы – кальцитриола (1,25-дигидроксивитамин D, 1,25(OH)₂D) [19, 27]. По разным данным, биологическая активность кальцитриола в 10–100 раз выше кальцидиола [14, 16, 18, 20, 21, 22]. Кальцидиол считается транспортной и запасающей формой витамина D, в то время как кальцитриол является

гормональной формой. Синтез биологически активных форм витамина D представлен на рис. 1.

Классический биологический эффект кальцитриола заключается в регуляции кальций-фосфорного обмена [28, 29].

Синтез основной части кальцитриола происходит в проксимальных канальцах почки. Установлено, что данные клетки экспрессируют ген CYP27B1. Продукт этого гена – фермент 1 α -гидроксилаза, который осуществляет реакцию гидроксилирования кальцидиола с образованием кальцитриола. Индуктором экспрессии гена CYP27B1 в клетках проксимальных почечных канальцев является ПТГ. Опосредованная ПТГ экспрессия данного гена приводит к повышению синтеза 1 α -гидроксилазы и соответственно к

повышению образования кальцитриола. Синтезируемый кальцитриол связывается с витамин D-связывающим белком и доставляется к органам-мишеням кальций-фосфорного обмена (тонкая кишка, почки, кости) [16, 17, 21, 30].

На поверхности клеток этих органов находится витамин D чувствительный рецептор (VDR – vitamin D

receptor). Именно связываясь с этим рецептором, кальцитриол запускает сигнал-трансдукторные системы и осуществляет классический биологический эффект [16, 17, 21, 30].

Так, в тонкой кишке кальцитриол взаимодействует с рецепторным комплексом кальциевых каналов – ре-

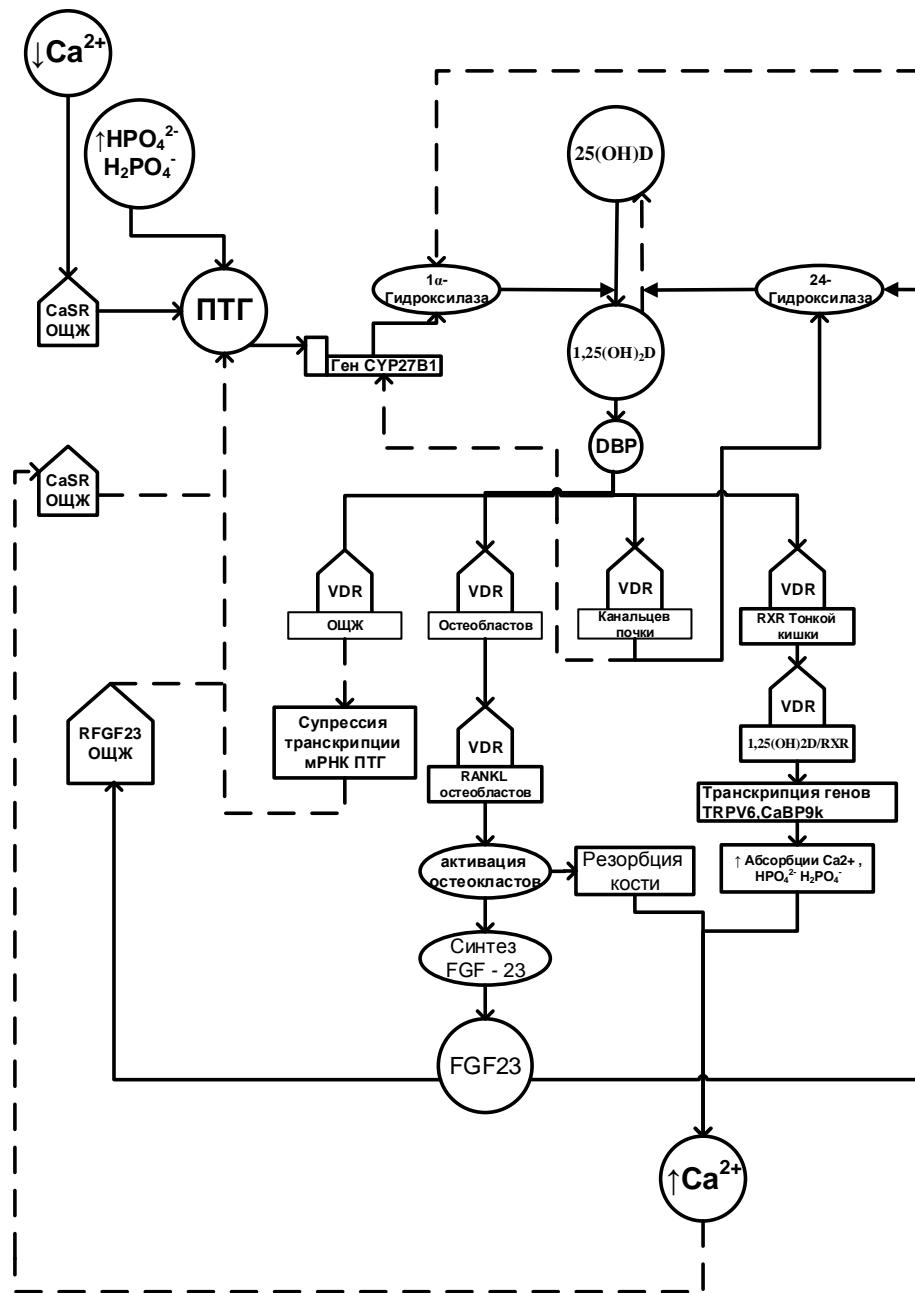


Рис. 2. Обмен витамина D и его эффекты в рамках кальций- фосфорного обмена.

Примечание. ○ – содержание в сыворотке; □ – рецептор; [] – процесс; ○ – фермент; ┌── – ген; ─→ – прямая связь; ─→ – отрицательная обратная связь; 25(OH) D – кальцидиол; 1,25(OH)2D – кальцитриол; DBP – витамин связывающий белок (Vitamin D binding protein); CabP9k – ген кальций-связывающего белка кальбинина 9К; Ca2+ – сывороточный кальций; HPO42-, H2PO4 – содержание фосфатов в сыворотке; CaSR – кальций чувствительный рецептор; CYP27B1 – ген, кодирующий 1 α -гидроксилазу, FGF-23 – фактор роста фибробластов 23; RANKL – рецептора активатора ядерного фактора кB; RFGF-23 – рецептор фактора роста фибробластов; RXR – x-рецептор ретиноевой кислоты; TRPV6 – ген переходного рецепторного потенциального катионного канала подсемейства V 6-го члена; VDR – витамин D чувствительный рецептор; VDR/R-RANKL – рецепторный комплекс; 1,25(OH)2D/VDR/RXR – взаимодействие кальцитриола с рецепторным комплексом рецептора витамина D и x-рецептором ретиноевой кислоты; ОЩЖ – паратиреоидная железа; ПТГ – паратиреоидный гормон.

Fig. 2. The exchange of vitamin D and effects of vitamin D in the calcium-phosphorus metabolism.

Note. ○ – serum content; □ – receptor; [] – process; ○ – enzyme; ┌── – gene; ─→ – direct connection; ─→ – negative feedback; 25(OH)D – calcidiol; 1,25(OH)2D – calcitriol; DBP – vitamin D binding protein (Vitamin D binding protein); CabP9k – calcium-binding protein binding protein gene 9K; Ca2+ – serum calcium; HPO42-, H2PO4 – serum phosphate content; CaSR – calcium sensitive receptor; CYP27B1 – gene encoding 1 α -hydroxylase, FGF-23 – ibroblast growth factor 23; RANKL nuclear factor kB activator receptor; RFGF-23 – fibroblast growth factor receptor; RXR – x-retinoic acid receptor; TRPV6- gene for the transitional receptor potential cation channel of the 6th member subfamily V; VDR – vitamin D sensitive receptor; VDR/R-RANKL – receptor complex; 1,25(OH)2D/VDR/RXR – interaction of calcitriol with the receptor complex of vitamin D receptor and x-retinoic acid receptor; ОЩЖ – parathyroid gland; ПТГ – parathyroid hormone.

цептор витамина D и x-рецептор ретиноевой кислоты (retinoic acid x-receptor – RXR). Образование комплекса 1,25(OH)2D/VDR/RXR приводит к усилению транскрипции генов, влияющих на обмен кальция. К таким генам относятся – ген переходного рецепторного потенциального катионного канала, подсемейства V, 6-го члена (transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 6 – TRPV6), ген кальций-связывающего белка (calcium-binding protein – CaBP) кальбиндина (9K) и другие. Продукты данных генов обеспечивают увеличение абсорбции ионов Ca^{2+} и HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- в тонкой кишке [4, 16, 17, 21, 30].

В костной ткани кальцитриол влияет на остеобlastы. В них кальцитриол запускает экспрессию рецептора активатора ядерного фактора kB (receptor activator of nuclear factor-kB ligand – RANKL). Остеобластный RANKL взаимодействует с рецептором RANK преостеокластов и индуцирует их созревание в зрелые остеокласты. Зрелые остеокласты осуществляют резорбцию ионов Ca^{2+} и HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- из костной ткани для поддержания их концентрации в сыворотке крови. Кроме того, остеокласты синтезируют FGF-23, который через специфический рецептор RFGF-23 ингибирует синтез ПТГ [16, 17, 21, 29, 39].

По современным данным кальцитриол напрямую не влияет на реабсорбцию кальция в почках. Основной эндокринный эффект кальцитриола в почках заключается в контроле над собственным гомеостазом. Когда уровень кальцитриола повышается, происходит его взаимодействие с VDR проксимальных почечных канальцах с запуском отрицательной обратной связи. Результатом этого взаимодействия с одной стороны является снижение транскрипции гена CYP27B1 и соответственно снижение синтеза 1 α -гидроксилазы. С другой стороны, происходит активация синтеза 24-гидроксилазы, которая осуществляет дегидроксилирование кальцитриола в кальцидиол [16, 17, 29, 31, 32].

Кроме того, кальцитриол, взаимодействует с VDR ОЩЖ, что приводит к супрессии транскрипции мРНК ПТГ, тем самым ингибируя синтез ПТГ [4, 16, 17, 29, 32].

Обмен витамина D и его эффекты в рамках кальций-фосфорного обмена представлены на рис. 2.

РАЗВИТИЕ ТРЕТИЧНОГО ГИПЕРПАРАТИРЕОЗА У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПОЧЕК

На рис. 3 представлена модель развития гиперпаратиреоза у пациентов с хронической болезнью почек.

В основе признанной гипотезы патогенеза гиперпаратиреоза при хронической болезни почек (ХБП) лежит прогрессирующая потеря количества функционирующих нефронов. Это приводит к снижению скорости клубочковой фильтрации (СКФ) и снижению синтеза 1 α -гидроксилазы почками. Снижение СКФ приводит к повышению уровня фосфатов в крови. Избыток циркулирующих фосфатов связывает ионизированный кальций, что влечёт за собой снижение уровня кальция в крови. Кроме того, опосредованное снижением синтеза 1 α -гидроксилазы, уменьшение уровня кальцитриола так же влечёт снижение уровня кальция в крови. В ответ на снижение концентрации ионизированного кальция и повышение фосфатов повышается секреция ПТГ ОЩЖ.

ПТГ взаимодействует со специфическим ПТГ-чувствительным рецептором (PTH1R), который представлен на поверхности клеток почек и остеобластах.

Активация ПТГ-чувствительного эффекта в почках приводит к нескольким эффектам. В клубочках почка происходит снижение скорости клубочковой фильтрации. В проксимальных канальцах происходит снижение числа Na/P транспортеров, что приводит к повышению экскреции фосфатов. В дистальных канальцах происходит повышение реабсорбции ионов Ca^{2+} за счёт активации транспортных каналов, главным из которых является TRPV5 [6, 16, 17, 27, 44]. Снижение уровня фосфатов и повышение уровня кальция по принципу отрицательной обратной связи ингибирует синтез ПТГ.

Активация PTH1R остеобластов приводит к активации RANKL рецепторов остеокластов. Результатом является повышение пролиферации остеокластов. Остеокласты осуществляют резорбцию ионов Ca^{2+} и HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- из костной ткани для поддержания концентрации этих ионов в сыворотке крови. Кроме того, остеокласты синтезируют фактор роста фибробластов (FGF-23), который через специфический рецептор RFGF-23 ингибирует синтез ПТГ [6, 16, 17, 27, 31].

FGF-23 является биологически активным веществом (фосфотонином), продукция которого в остеоцитах и остеобластах стимулируется повышением уровня фосфатов и кальцитриола сыворотки крови. FGF-23 активирует специфический рецептор – FGFR-23, который функционирует только совместно с трансмембранным белком Klotho, как рецепторный комплекс Klotho-FGF. В проксимальных канальцах FGF-23 уменьшает реабсорбцию фосфатов, снижая экспрессию контранспортёров фосфата натрия типа II (Na/P-2a и Na/P-2c), усиливая эффект ПТГ [33]. Так же фактор роста фибробластов-23 снижает уровень кальцитриола [33].

На ранних этапах ХБП, когда имеется достаточное количество функционирующих нефронов, повышение уровня ПТГ увеличивает синтез кальцитриола в почках и восстанавливает концентрацию ионизирующего кальция в плазме. Достаточное количество кальцитриола и кальция по принципу отрицательной обратной связи ингибирует транскрипцию мРНК ПТГ, снижая его синтез [34]. Таким образом, на ранних стадиях ХБП повышение продукции ПТГ позволяет корректировать нарушения фосфорно-кальциевого обмена.

В последнее время распространилась так называемая «calcitriol trade-off» гипотеза развития ВГПТ при ХБП, когда в условиях дефицита кальцитриола, существенно снижается его ингибиторный эффект на синтез ПТГ на этапе транскрипции в паратиреоцитах [23, 34]. Уменьшение содержания кальцитриола в сыворотке при ХБП опосредовано действием фактора роста фибробластов 23 (FGF-23) [36]. Прогрессирование ХБП приводит к тому, что в почках снижается активность 1 α -гидроксилазы и уменьшается синтез кальцитриола. Кроме того, снижается плотность рецепторов к кальцитриолу на клетках околосщитовидных желёз [37, 38]. Поэтому, несмотря на высокие уровни фактора роста фибробластов 23, которые направлены на торможение секреции ПТГ, происходит развитие вторичного гиперпаратиреоза [39, 40]. Это связано с приобретением относительной резистентности паратиреоцитов к действию FGF-23 за счёт уменьшения экспрессии на их поверхности основных типов рецепторов: CaSR (кальций чувствительный рецептор), VDR (витамин D чувствительный рецептор), FGFR-23 и Klotho у пациентов с ВГПТ [27].

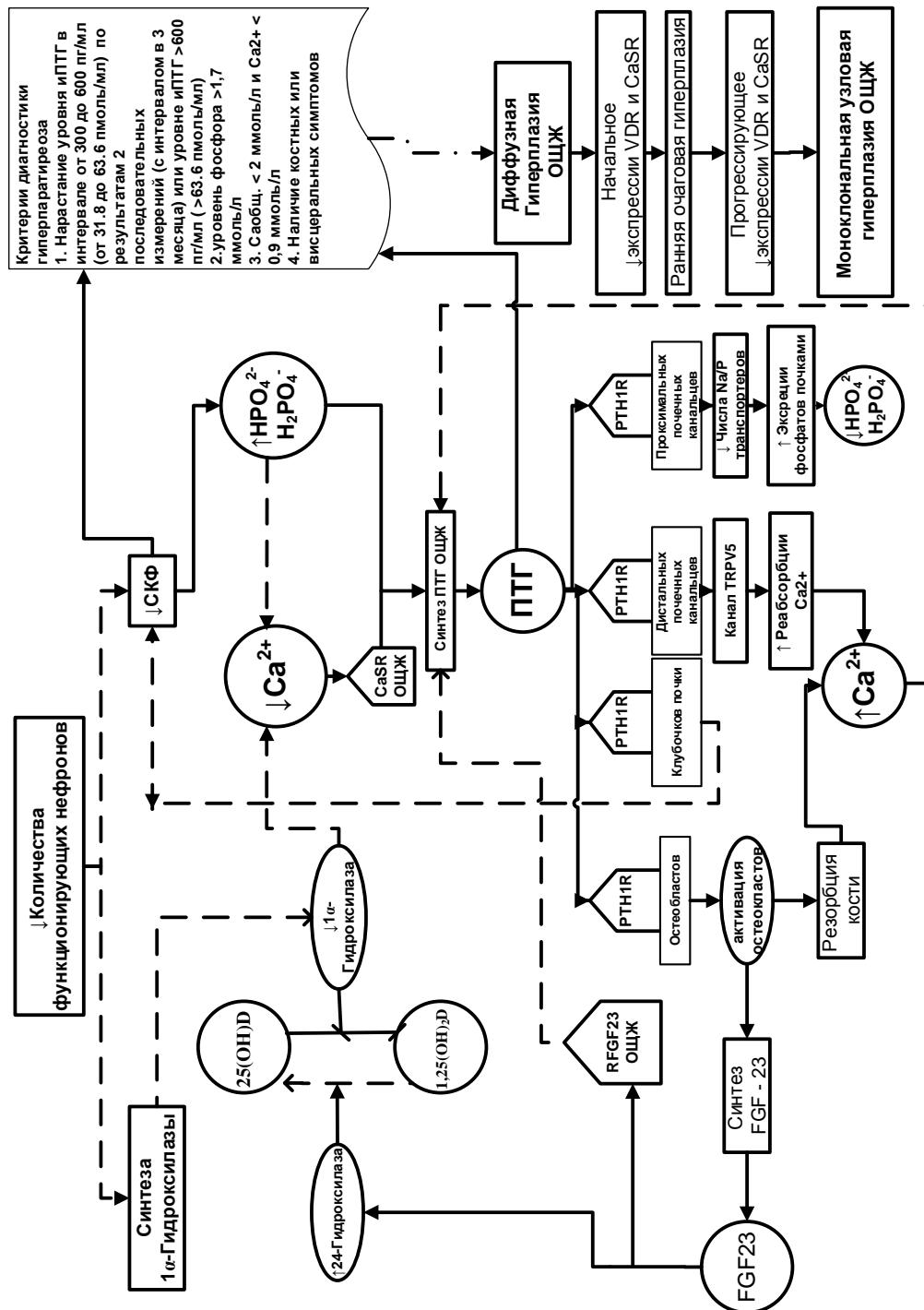


Рис. 3. Развитие гипертонического зева у пациентов с хронической почечной недостаточностью

Fig. 3. The development of hypoparathyroidism in patients with chronic renal failure.

```

graph TD
    CRF[chronic renal failure, dialysis] --> SP[serum phosphate > 2.5 mmol/l]
    SP --> SC[serum calcium < 2.05 mmol/l]
    SP --> SPB[serum phosphate > 1.25 mmol/l]
    SC --> CBP[calcium-binding protein < 250 nmol/l]
    SPB --> VDBP[vitamin D binding protein < 250 nmol/l]
    CBP --> LDC1[loss of direct connection between parathyroid and RANKL receptor complex]
    VDBP --> LDC2[loss of direct connection between parathyroid and DBP receptor complex]
    LDC1 --> NF[negative feedback]
    LDC2 --> NF
    NF --> H[hypoparathyroidism]
    
```

Эти данные были доказаны в экспериментах на уремических крысах *in vivo* и в культуре клеток околощитовидных желёз уремических крыс *in vitro*. Высокое содержание FGF-23 не приводило к подавлению секреции ПТГ в изучаемых экспериментальных моделях [41]. Кроме того, в экспериментах были обнаружены нарушения геномного контроля синтеза ПТГ. Нарушения оказались связаны с потерей ингибирующего действием FGF-23 на синтез ПТГ на уровне паратиреоцитов [41].

Длительная стимуляция околощитовидных желёз сочетанием повышенной концентрации сывороточного фосфата, пониженной концентрации внеклеточного ионизированного кальция и заметно сниженного содержания кальцитриола в сыворотке приводит к увеличению синтеза ПТГ. Данный компенсаторный механизм направлен на повышение концентрации внеклеточного кальция и наблюдается у пациентов со 2-й стадии ХБП.

Обнаружено, что даже на ранних стадиях развития гиперпаратиреоза эти изменения усиливаются недостаточной экспрессией CaSR и VDR, что делает клетки околощитовидной железы неспособными адекватно реагировать на окружающий кальций и/или кальцитриол.

Длительная стимуляция парашитовидных желёз вначале приводит к диффузной поликлональной гиперплазии с развитием вторичного гиперпаратиреоза. При этом уже на этом этапе наблюдается начальное снижение экспрессии VDR и CaSR на поверхности паратиреоцитов. Следующим этапом является формирование среди гиперплазированных паратиреоцитов пласта клеток ранней очаговой гиперплазии. По мере прогрессирования ГПТ происходит увеличение пласта клеток очаговой гиперплазии с выраженным снижением экспрессии CaSR. В последующем образуется моноклональная узловая гиперплазия с выраженным снижением экспрессии и CaSR, и VDR. Формирование моноклональной узловой гиперплазии говорит о формировании функциональной автономии данных клеток и развитии третичного гиперпаратиреоза [33, 42, 43, 44].

Проводился ряд исследований с VDR и CaSR мышей. Tomer M. et al. проводили отключение VDR у мышей. Исследователи обнаружили, что биологический эффект активации VDR играет вторичную роль в развитии гиперплазии околощитовидной железы. Был сделан вывод, что активации CaSR достаточно, чтобы предотвратить гиперплазию парашитовидных желёз [45].

Goodman W.G., Quarles L.D. исследовали генетически модифицированные рецепторы CaSR и VDR у лабораторных мышей. Исследователи обнаружили, что передача сигнала через CaSR является ключевым фактором, определяющим пролиферацию клеток околощитовидной железы и гиперплазию околощитовидных желёз [43]. Экспериментальная работа на нормальных крысах и крысиной модели почечной недостаточности продемонстрировала, что пролиферация клеток парашитовидной железы связана с уменьшением экспрессии CaSR и VDR [33, 46].

Был поставлен вопрос, предшествует ли снижение экспрессии рецепторов CaSR и VDR гиперплазии или снижение экспрессии является следствием пролиферации? Литературные данные свидетельствуют о том, что гиперплазия клеток околощитовидной железы предшествует подавлению экспрессии CaSR в модели уремических крыс [47]. Введение кальцитриола или кальцимиметиков приводило к снижению пролиферации клеток околощи-

товидной железы. Это связано с повышением экспрессии как CaSR, так и VDR на фоне введённых препаратов [25, 47].

Также обнаружено прямое влияние низких уровней кальция и кальцитриола на экспрессию их рецепторов. Было показано, что увеличение дозы кальцитриола усиливает экспрессию VDR околощитовидной железы у гиперкальциемических, но не гипокальциемических крыс со сниженной экспрессией CaSR [48]. Исследования на животных показали, что активация CaSR кальцимиметиками вызывает экспрессию VDR околощитовидной железы [49]. Из выше сказанного становится ясным: у пациентов, получающих кальцимиметики, VDR активируется, несмотря на то, что уровень кальция может быть на низком уровне [48, 49].

Основываясь на данных литературы, представляется вероятным, что если главной ролью клеток парашитовидной железы является повышение уровня кальция в сыворотке до нормального уровня, то ингибирование кальцитриолом синтеза ПТГ и предотвращение гиперпаратиреоза возможно только при контроле уровня кальция в сыворотке [6, 25, 49].

Гипокальциемия, дефицит кальцитриола при прогрессировании ХБП, общее увеличение количества клеток околощитовидной железы с нормальной долевой структурой, синтезирующие ПТГ, приводят к образованию диффузной гиперплазии околощитовидных желёз. Длительно существующая диффузная гиперплазия околощитовидных желёз и невозможность синтезируемого ПТГ скорректировать гомеостаз фосфорно-кальциевого обмена приводят к ряду геномных перестроек в поликлональной структуре гиперплазированной околощитовидной железы.

Результатом геномных изменений является появление клона клеток со сниженной экспрессией рецепторов FGFR23, VDR и CaSR с развитием моноклональной узловой гиперплазией. Данная гиперплазия функционирует автономно, не зависимо от естественных регулирующих стимулов [50].

ГЕНОМНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПАТОГЕНЕЗЕ ГИПЕРПАРАТИРЕОЗА

M. Liu et al. обнаружили кальцитриол, активируя VDR паратиреоцитов, запускают транскрипцию генов p21 и p27 [46]. Продуктом этих генов являются ингибиторы циклин-зависимых киназ, которые регулируют переход от G₁ к S-фазе клеточного цикла. Они являются ключевыми медиаторами p53-зависимой остановки клеточного цикла после повреждения ДНК, выступая в роли генов-супрессоров опухолевого процесса [19]. При дефиците кальцитриола происходит ослабление механизма защиты ДНК паратиреоцитов от повреждений [43].

M. Cozzolino et al. продемонстрировали, что в основе снижения гиперплазии околощитовидных желез у уремических крыс лежала индукция экспрессии генов p21 и p27 кальцитриолом [51].

M. Tokumoto et al. показали в своем исследовании, что сниженная экспрессия p21 и p27 и сниженная плотность VDR, является основным патогенетическим признаком узловой гиперплазии околощитовидной железы у пациентов с прогрессирующим вторичным гиперпаратиреозом [52].

M. Tokumoto et al. изучили иммуногистохимическим методом 29 гистологических срезов гиперплазированных ОЩЖ (23 с узловой гиперплазией при ТГПТ и 6 с диффузной гиперплазией при ВГПТ), 16 гистологических

срезов аденом при ПГПТ и 20 срезов нормальных ОЩЖ с целью определения количественной выраженности экспрессии p21, p27, VDR [52].

Исследователи обнаружили, что наименьшая экспрессия VDR по индексу меченых антител наблюдалась в срезах с узловой гиперплазией (162 ± 194), чем с диффузной гиперплазией (495 ± 337), аденомой (383 ± 262) и нормальной тканью ОЩЖ (659 ± 234) соответственно. Экспрессия белка p21, локализованного в ядрах главных клеток ОЩЖ, по индексу меченых антител как в узловой гиперплазии (85 ± 110), так и в аденомах (136 ± 122) были значительно ниже по сравнению с таковыми в нормальной ткани ОЩЖ (359 ± 228) и диффузной гиперплазии (360 ± 191 ; $p < 0,01$).

Срезы околощитовидных желёз с высокой ядерной экспрессией VDR сочетались с высокой экспрессией p21, в то время как в срезах околощитовидных желёз, в которых отсутствовал VDR, не обнаруживалась экспрессия p21. Значительная положительная корреляция между индексом меченых антител экспрессии VDR и p21 была обнаружена только в срезах с узловой гиперплазией ($r = 0,92$, $p < 0,01$).

Экспрессия белка p27, локализованного в ядрах главных клеток ОЩЖ, по индексу меченых антител p27 как в узловой гиперплазии (97 ± 156), так и в аденомах (187 ± 196) были значительно ниже по сравнению с таковыми в нормальной ткани ОЩЖ (631 ± 170) и диффузной гиперплазии (532 ± 146 ; $p < 0,01$). Срезы околощитовидных желёз с высокой ядерной экспрессией VDR сочетались с высокой экспрессией p27, в то время как в срезах околощитовидных желёз, в которых отсутствовал VDR, не обнаруживалась экспрессия p27. Подобно данным с p21, значительная положительная корреляция между индексом меченых антител экспрессии VDR и p27 была обнаружена только в срезах с узловой гиперплазией ($r = 0,76$, $p < 0,01$).

Таким образом, исследователи обнаружили, что узловая гиперплазия показала значительно более низкую плотность VDR, чем диффузная гиперплазия. Срезы околощитовидных желёз с высокой ядерной экспрессией VDR показали высокую экспрессию как p21, так и p27, тогда как в срезах, где отсутствовал VDR, была значительно снижена экспрессия p21 и p27. Полуколичественный индекс меченых антител p21 и p27 значительно коррелировал с таковым у VDR, но не с p53. Это указывает на то, что экспрессия p21 и p27 в гиперплазированных околощитовидных железах может регулироваться VDR-зависимым путём. Сообщалось, что p21 и p27 [19, 29] участвуют в регуляции перехода от фазы G₁ к фазе S клеточного цикла. Функционально чувствительный к витамину D элемент был идентифицирован в области промотора p21. Следовательно, подавляющее действие кальцидиола на пролиферацию клеток околощитовидных уменьшено при узловой гиперплазии [52]. Авторы сделали вывод, что завершение клеточного цикла, вызванного снижением экспрессии p21 и p27 VDR-зависимым способом, является основным фактором пролиферации клеток парашитовидной железы [52]. Следовательно, среди этих факторов снижение экспрессии VDR, сопровождающееся дефицитом витамина D, может играть основную роль в пролиферации клеток околощитовидной железы и постоянно избыточной секреции ПТГ, даже после достижения коррекции дисбаланса кальция и фосфора [52]. Срезы

гиперплазированных околощитовидных желёз пациентов с гиперпаратиреозом с применением иммуногистохимического анализа *in situ* для оценки экспрессии p21 и p27 может быть полезным параметром для оценки ответа на активную терапию витамином D и помочь в принятии решения о хирургическом лечении [52].

Bianchi et al. опубликовали данные о том, что гиперкальциемия подавляла экспрессию PRAD1/циклина D1 в линии клеток парашитовидной железы крыс [53]. Исследователи предполагают, что более высокая экспрессия PRAD1/циклина D1 может коррелировать с пониженной экспрессией рецептора, чувствительного к кальцию (CaSR), при узловой гиперплазии

I. Santamaria et al. исследовали срезы тканей нормальных ОЩЖ и ОЩЖ с диффузным и узловым ростом, а также срезы аденом околощитовидных желёз [54]. Анализ выполняли с помощью микроматрицы олигонуклеотидов высокой плотности и библиотеки двунаправленного вычитания. Анализ массивов ДНК выявил 16 сверхэкспрессированных и 132 репрессированных генов в срезах узловой гиперплазии.

Изучение срезов узловой гиперплазии ОЩЖ показало увеличение экспрессии генов, участвующих в активации путей клеточной пролиферации. Исследователи обнаружили повышенную экспрессию генов – CDC25C (индуктор митоза), GRPR (автокринный регулятор роста) и репрессию генов – APMCF1 (ген апоптоза), TRP2 (супрессор клеточного цикла), BRD7 (супрессор роста клеток) и CUL3 (деградация циклинов). Эти данные показывают, что процессы, которые способствуют росту околощитовидной железы, происходят при узловой гиперплазии ОЩЖ и запускаются на геномном уровне.

Сверхэкспрессия гена RKIP (контроль аngиогенеза и сосудистой инвазии) говорит об отсутствии тенденции клеток узловой гиперплазии околощитовидных желёз к метастазированию. Аналогично, повышенная экспрессия RAP1GA1 (ген-супрессор опухолей) и репрессия генов, обычно сверхэкспрессирующихся в опухолевых процессах (VIL2 и TPD52) подтверждают доброкачественный характер типа роста, наблюдавшегося при прогрессии от диффузной к узловой гиперплазии.

Узловая гиперплазия ОЩЖ по результатам данного исследования характеризуется репрессией генов защиты от повреждения активными формами кислорода и свободными радикалами. Наблюдается репрессия таких генов, как PRDX2 (защита от окислительного стресса), TALDO1 (защита целостности генома от различных форм активного кислорода), POLB (восстановление основной экспрессии), DDB1 (восстановление от ультрафиолетовых лучей) и XRCC1 (восстановление от одноголовых разрывов). Взаимодействие между POLB и XRCC1 является обязательным для эффективности базовой системы экспрессии восстановления. Кроме того, сниженная экспрессия в тканях узловой гиперплазии других генов, связанных с архитектурой ДНК, таких как SFA, и избыточная экспрессия генов, связанных с разрывами хромосом, таких как MRE11 прекрасно коррелирует с большим количеством хромосомных аберраций, обнаруженных в парашитовидных железах, удалённых у пациентов с узловой гиперплазией.

При узловой гиперплазии нарушается не только стабильность ДНК. Сверхэкспрессия генов, связанных с деградацией РНК – OASL (синтез ферментов, разлагающих РНК), и репрессия генов, связанных со стабильностью

РНК-DDX1 и DDX5 (геликазы РНК), указывает на изменившийся паттерн передачи генетической информации.

При сравнении профиля экспрессии первичного и вторичного гиперпаратиреоза, результаты четко различают их как разные объекты. Исследователи наблюдали значительную репрессию генов при прогрессировании вторичного гиперпаратиреоза от диффузной к узловой гиперплазии, по сравнению с первичными аденомами.

I. Santamaria et al. показали, что переход диффузной гиперплазии в узловую крайне сложен и включает изменение молекулярных процессов на всех уровнях. Учитывая экспрессию генов, авторы делают вывод, что рост клеток в узлах сильно стимулируется. При этом стабильность ДНК серьезно нарушена из-за отказа защитного механизма и систем восстановления. Синтез и стабильность РНК также находятся под угрозой. Синтез белка и биологический эффект явно нарушен из-за нарушения фолдинга, сборки и сортировки полипептидов [54].

РАЗВИТИЕ ТГПТ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

Казалось бы, трансплантация почки у пациентов с терминальной почечной недостаточностью должна прервать патогенетические звенья развития гиперпаратиреоза, поскольку устраняется гиперфосфатемия и гипокальциемия. Однако, как показывают исследования, это происходит не всегда так.

W. Reinhardt et al. [55] провели проспективное исследование биохимических показателей у 129 пациентов через 2, 3, 5, 8, 12, 18 и 24 месяца после трансплантации почки. Уровень креатинина в сыворотке снизился с $166,8 \pm 5,4$ ммоль/л до $140,0 \pm 4,9$ через два года после трансплантации. Уровни фосфора в сыворотке слегка увеличились с $0,9 \pm 0,022$ ммоль/л до $0,98 \pm 0,025$ (через 1 год после трансплантации), но оставались в пределах нижней границы нормального диапазона. У 52 % пациентов уровень кальция в сыворотке крови превышал $2,62$ ммоль/л (верхняя граница нормального диапазона) через 3 месяца после трансплантации почки с постепенным снижением по прошествии этого времени. Не было никакой корреляции уровней кальция и ПТГ. Однако у пациентов с нарушенной функцией трансплантата ($n = 65$) уровень ПТГ оказался значительно выше (на 70 пг/мл выше), чем у пациентов с хорошей функцией трансплантата ($n = 64$). ПТГ положительно коррелировал с сывороточным креатинином. Кроме того, у пациентов с низким уровнем кальцидиола ($n = 63$) в течение периода исследования были значительно более высокие концентрации ПТГ (между 40 и 80 пг/мл) по сравнению с пациентами ($n = 66$) с достаточным количеством кальцидиола, независимо от функции трансплантата. Наблюдалась отрицательная корреляция уровней кальцидиола и ПТГ. Уровни кальцидиола (оценены у 24 пациентов) увеличились с $46,5 \pm 6,6$ до $76,9 \pm 7,6$ пг/мл (в норме: $35-90$ пг/мл) через 12 месяцев. Исследователи сделали вывод, что гиперкальциемия является распространенным явлением в раннем периоде после трансплантации почки и возникает при наличии низких нормальных уровней фосфора. По их мнению, это связано с улучшением действия ПТГ и 1 α -гидроксилированием витамина D. ПТГ постоянно повышался в течение до 2 лет после трансплантации почки. С одной стороны, это связано с нарушением функции трансплантата и, с другой стороны, с неоптимальным поступлением кальцидиола [49].

P. Evenepoel et al. [56] провели ретроспективное обсервационное исследование, включающее 861 пациента, которым был пересажен первичный аллотрансплантат почки. Уровень сывороточного ПТГ показал постепенное и значительное снижение к верхнему нормальному уровню. Несмотря на это снижение, распространённость стойкого ГПТ оставалась удивительно стабильной и значительной (17%). Это может указывать на то, что долгосрочное снижение уровней сывороточного ПТГ является отражением прогрессирующего отбора пациентов с персистирующим ГПТ, которым необходимо проведение паратиреоидэктомии. У пациентов с ГПТ от умеренной до тяжелой степени во время трансплантации, снижение уровней ПТГ наиболее выражено в течение первых 3 месяцев после трансплантации.

Такое быстрое улучшение функции паращитовидной железы исследователи расценивали как проявление посттрансплантационных изменений кальциемии и фосфатемии. Наблюдалась высокая распространённость гиперкальциемии и гипофосфатемии в раннем посттрансплантационном периоде, особенно в подгруппе пациентов с ГПТ от умеренной до тяжелой степени во время трансплантации. Посттрансплантационная гиперкальциемия, по мнению исследователей, может быть связана с резорбцией экстраклеточных кальцификаций, истощением фосфатов или постепенным восстановлением нормальной кальциемической активности ПТГ после трансплантации. Гипофосфатемия после трансплантации в основном расценивалась снижением канальцевой реабсорбции фосфата. Тот факт, что ПТГ способен оказывать своё фосфатурическое действие на трансплантированную почку в совокупности с возникновением внутреннего дефекта канальцев и стойкой повышенной концентрацией FGF-23, всё это было связано в патогенезе гипофосфатемии и повышенной фосфатурии после трансплантации.

Было обнаружено, что пациенты с высоким сывороточным уровнем ПТГ, кальция, фосфора и/или щелочных фосфатов во время трансплантации подвергаются риску персистирующего ГПТ. Кроме того, пациенты с персистирующим ГПТ длительное время получали диализ. Эти данные указывают на то, что тяжесть посттрансплантационного гиперпаратиреоза зависит от длительности существования ГПТ и отсутствие эффекта от медикаментозной терапии ГПТ на дотрансплантационном периоде. Эта зависимость обусловлена сниженнной экспрессией рецепторов FGFR23, VDR и CaSR и развитием моноклональной гиперплазии, которая не корректируется после трансплантации почки [56, 57].

РАЗВИТИЕ ТГПТ У ПАЦИЕНТОВ С ДЕФИЦИТОМ ВИТАМИНА D

Поиск статей, в которых описывается патогенез развития ТГПТ у пациентов с дефицитом витамина D, в базах данных Pubmed, scopus, cochrane library положительных результатов не дал. Данный вопрос требует дальнейшего изучения.

ОБСУЖДЕНИЕ

Данные современной научной литературы показывают, что третичный гиперпаратиреоз остается на сегодняшний день наименее изученной формой гиперпаратиреоза. До сих пор нет единого понимания определения третичного гиперпаратиреоза как среди отечественных, так и иностранных исследователей данного вопроса.

Наиболее изученным этиологическим вариантом является уремический третичный гиперпаратиреоз, в то время как упоминания о развитии ТГПТ на фоне других причин единичны.

Имеющиеся данные о патогенезе третичного гиперпаратиреоза различного генеза многообразные, противоречивы и требуют дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рожинская Л.Я., Сморщак В.Н., Бельцевич Д.Г. *Гиперпаратиреоз. Эндокринная хирургия*; Под ред. И.И. Дедова, Н.С. Кузнецова, Г.А. Мельниченко. М.: Литтерра; 2014.
2. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Мокрышева Н.Г., Рожинская Л.Я., Кузнецова Н.С., Пигарова Е.А. и др. Первичный гиперпаратиреоз: клиника, диагностика, дифференциальная диагностика, методы лечения. *Проблемы эндокринологии*. 2016; 6: 40-77.
3. Gasparri G, Camandona M, Abbona GC, et al. Secondary and tertiary hyperparathyroidism: causes of recurrent disease after 446 parathyroidectomies. *Ann Surg*. 2001; 233: 65-69.
4. Fraser WD. Hyperparathyroidism. *Lancet*. 2009; 374: 145-158.
5. Kremer R, Bolivar I, Goltzman D, Hendy GN. Influence of calcium and 1,25-dihydroxycholecalciferol on proliferation and proto-oncogene expression in primary cultures of bovine parathyroid cells. *Endocrinology*. 1989; 125: 935-941.
6. Lopez I, Mendoza FJ, Aguilera-Tejero E, Perez J, Guerrero F, Martin D, Rodriguez M. The effect of calcitriol, paricalcitol, and a calcimimetic on extraosseous calcifications in uremic rats. *Kidney Int*. 2008; 73: 300-307.
7. Marcocci C, Cetani F. Clinical practice. Primary hyperparathyroidism. *N Engl J Med*. 2011; 365: 2389-2397.
8. Seiler S, Heine GH, Fliser D. Clinical relevance of FGF-23 in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2009; 76(114): S34-S42.
9. Sivri SK. Vitamin D metabolism. *Calcium and vitamin D metabolism / ITA*. 2010; 256.
10. Goar St. Case records of Massachusetts general hospital. *N Engl J Med*. 1963; 268: 943-953.
11. Дедов И.И., Мельниченко Г.А. (под ред.). *Эндокринология. Национальное руководство*. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018.
12. Triponez F, Kebebew E, Dosseh D, Duh QY, Hazzan M, Noel C, et al. Less-than-subtotal parathyroidectomy increases the risk of persistent/recurrent hyper-parathyroidism after parathyroidectomy in tertiary hyperparathyroidism after renal transplantation. *Surgery*. 2006; 140: 990-999.
13. Magnabosco FF, Tavares MR, Montenegro FL. Surgical treatment of secondary hyperparathyroidism: a systematic review of the literature. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2014; 58(5): 562-571.
14. Салухов В.В., Ковалевская Е.А., Курбатова В.В. Костные и внекостные эффекты витамина D, а также возможности медикаментозной коррекции его дефицита. *Медицинский совет*. 2018; 4: 90-99.
15. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007; 357: 266-281.
16. Абатуров А.Е., Борисова Т.П., Кривуша Е.Л. Лечение и профилактика дефицита витамина D у детей и подростков. *Здоровье ребенка*. 2015; 3(63): 73-78.
17. Захарова И.Н., Коровина Н.А., Боровик Т.Э., Дмитриева Ю.А. *Рахит и гиповитаминоз D. Новый взгляд на давно существующую проблему. Пособие для врачей-педиатров*. М., 2010.
18. Черенько С.М., Бандура Г.В. Влияние дефицита витамина D на клиническое течение заболевания и ранний послеоперационный период у пациентов с первичным гиперпаратиреозом. *Современные аспекты хирургической эндокринологии: Материалы III Украинско-Российского симпозиума*. Запорожье; 2013: 179-181.
19. Garfia B, Canadillas S, Canalejo A, Luque F, Siendones E, Quesada M, et al. Regulation of parathyroid vitamin D receptor expression by extracellular calcium. *J Am Soc Nephrol*. 2002; 13: 2945-2952.
20. Дедов И.И., Мазурина Н.В., Огнева Н.А., Трошина Е.А., Рожинская Л.Я., Яшков Ю.И. Нарушение метаболизма витамина D при ожирении. *Ожирение и метаболизм*. 2011; 2: 3-10.
21. Мальцев С.В., Закирова А.М., Мансурова Г.Ш. Обеспеченность витамином D детей раннего возраста из группы медико-социального риска. *Практическая медицина*. 2016; 8(100): 31-37.
22. Пигарова Е.А., Рожинская Л.Я., Белая Ж.Е., Дзеранова Л.К., Карапанова Т.Л., Ильин А.В., и др. Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D у взрослых. *Проблемы эндокринологии*. 2016; 4: 60-84. doi: 10.14341/probl201662460-84.
23. Hemm MM, Shekhani MA, Bnar J. Normocalcemic hyperparathyroidism. *Case Rep Clin Med*. 2014; 3: 253-256.
24. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96(7): 1911-1930.
25. Rodriguez ME, Almaden Y, Canadillas S, Canalejo A, Siendones E, Lopez I, et al. The calcimimetic R-568 increases vitamin D receptor expression in rat parathyroid glands. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007; 292: F1390-F1395.
26. Aspray TJ, Bowring C, Fraser W, Gittoes N, Javaid MK, Macdonald H, et al. National Osteoporosis Society Vitamin D Guideline Summary. *Age Ageing*. 2014; Jul 28.
27. Martin A, David V, Darryl Quarles L. Regulation and function of the FGF23/Klotho endocrine pathways. *Physiol Rev*. 2012; 92: 131-155.
28. Adams JS. Update in Vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010; (95): 471-478.
29. Liu M, Lee MH, Cohen M, Bommakanti M, Freedman LP. Transcriptional activation of the Cdk inhibitor p21 by vitamin D3 leads to the induced differentiation of the myelomonocytic cell line U937. *Genes Dev*. 1996; 10(2): 142-153. doi: 10.1101/gad.10.2.142
30. Черенько С.М. Первичный гиперпаратиреоз: современная лабораторная диагностика и дифференциальная диагностика. *Международный эндокринологический журнал*. 2014; 6(62): 174-181.
31. Кравчун Н.А., Чернявская И.В., Титова Ю.А., Ефименко Т.И. Дифференциальная диагностика нормокальциемического варианта гиперпаратиреоза. *Клиницист*. 2015; 4(9): 47-52.
32. Koizumi M, Komaba H, Nakanishi S, Fujimori A. Cinacalcet treatment and serum FGF23 levels in haemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant*. 2012; (27): 784-790.
33. Canalejo R, Canalejo A, Manuel Martinez-Moreno J, Encarnacion Rodriguez-Ortiz ME, Estepa JC, et al. FGF23 fails to inhibit uremic parathyroid glands. *J Am Soc Nephrol*. 2010; 21: 1125-1135.
34. Chew DJ, DiBartola SP, Schenck PA. *Canine and feline nephrology and urology*. Elsevier; 2010.
35. Gutierrez OM. Fibroblast growth factor 23 and disordered vitamin D metabolism in chronic kidney disease: updating the "trade-off" hypothesis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010; 5(9): 1710-1716.
36. Schlosser K, Rothmund M, Maschuw K, Barth PJ, Vahl TP, Suchan KL, et al. Graft-dependent renal hyperparathyroidism despite successful kidney transplantation. 2008; 32: 557-565.
37. Rizzoli R, Boonen S, Brandi ML, Bruyere O, Cooper C, Kanis JA, et al. Vitamin D supplementation in elderly or postmenopausal women: a 2013 update of the 2008 recommendations from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO). *Curr Med Res Opin*. 2013; 29(4): 305-313. doi: 10.1185/03007995.2013.766162
38. Sun J. Vitamin D and mucosal immune function. *Curr Opin Gastroenterol*. 2010; 26: 591-595
39. Шутов Е.В. Значение фактора роста фибробластов-23 у больных хронической болезнью почек – обзор современных исследований. *Лечащий врач*. 2012; 8: 12-16.
40. Dusso A, Gonzalez EA, Martin KJ. Vitamin D in chronic kidney disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2011; 25(4): 647-655
41. Klonoff DC. Fibroblast growth factor: will this hormone be the hemoglobin A1c for managing phosphorus balance in chronic kidney disease? *J Diabetes Sci Technol*. 2010. 4(4); 770-772.

42. Druke T, Martin D, Rodriguez M. Can calcimimetics inhibit parathyroid hyperplasia? Evidence from preclinical studies. *Nephrol Dial Transplant*. 2007; 22: 1828-1839.
43. Jameson JL, DeGroot LJ, De Kretser DM, Giudice L, Grossman A, Melmed S, Potts JT, et al. Surgical management of hyperparathyroidism. *Endocrinology: Adult and Pediatric (Seventh Edition)*. 2016.
44. Goodman WG, Quarles LD. Development and progression of secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease: lessons from molecular genetics. *Kidney Int*. 2008; 74: 276-288.
45. Tokumoto M, Tsuruya K, Fukuda K, Kanai H, Kuroki S, Hirakata H. Reduced p21, p27 and vitamin D receptor in the nodular hyperplasia in patients with advanced secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int*. 2002; 62: 1196-1207. doi: 10.1111/j.1523-1755.2002.kid585.x
46. Lewin E, Garfia B, Recio FL, Rodriguez M, Olgaard K. Persistent downregulation of calcium-sensing receptor mRNA in rat parathyroids when severe secondary hyperparathyroidism is reversed by an isogenic kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13: 2110-2116.
47. Ritter CS, Finch JL, Slatopolsky EA, Brown AJ. Parathyroid hyperplasia in uremic rats precedes down-regulation of the calcium receptor. *Kidney Int*. 2001; 60: 1737-1744.
48. Galitzer H, Ben-Dov IZ, Silver J, Naveh-Many T. Parathyroid cell resistance to fibroblast growth factor 23 in secondary hyperparathyroidism of chronic kidney disease. *Kidney Int*, 2010; 77: 211-218.
49. Mendoza FJ, Lopez I, Canalejo R, Almaden Y, Martin D, Aguilera-Tejero E, Rodriguez M: Direct upregulation of parathyroid calcium-sensing receptor and vitamin D receptor by calcimimetics in uremic rats. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2009; 296: F605-F613.
50. Touvier M, Deschaseaux M, Montourcy M, Sutton A. Interpretation of plasma PTH concentrations according to -25(OH) D status, gender, age, weight status, and calcium intake: importance of the reference values. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014; 99(4): 1196-1203.
51. Cozzolino M, Lu Y, Finch J, et al. p21WAF1 and TGF- α mediate parathyroid growth arrest by vitamin D and high calcium. *Kidney Int*. 2001; 60: 2109-2117.
52. Pitt SC, Sippel RS, Chen H. Secondary and tertiary hyperparathyroidism, state of the art surgical management. *Surg Clin North Am*. 2009; 89(5): 1227-1239.
53. Bianchi S, Fabiani S, Muratori M, Arnold A, Sakaguchi K, Miki T, et al. Calcium modulates the cyclin D1 expression in a rat parathyroid cell line. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994; 204: 691-700.
54. Saddeen HM, Taylor JD, Goldsmith DJ. Total parathyroidectomy without autotransplantation after renal transplantation for tertiary hyperparathyroidism: long-term follow-up. *Int Urol Nephrol*. 2012; 44: 275-281.
55. Rayes N, Seehofer D, Schindler R, Reinke P, Kahl A, Ulrich F, et al. Long-term results of subtotal vs total parathyroidectomy without autotransplantation in kidney transplant recipients. *Arch Surg*. 2008; 143: 756-761.
56. Evenepoel P, Claes K, Kuypers D, Maes B, Bammens B, Vanrenterghem Y. Natural history of parathyroid function and calcium metabolism after kidney transplantation: a single-centre study. *Nephrol Dial Transplant*. 2004; 19(5): 1281-1287.
57. Yacobi-Bach M, Serebro M, Greenman Y, Tordjman K. Letter to the editor: thiazides are not inducers of PTH secretion: a comment on normocalcemic hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014; 100(2): 40-65.
4. Fraser WD. Hyperparathyroidism. *Lancet*. 2009; 374: 145-158.
5. Kremer R, Bolivar I, Goltzman D, Hendy GN. Influence of calcium and 1,25-dihydroxycholecalciferol on proliferation and proto-oncogene expression in primary cultures of bovine parathyroid cells. *Endocrinology*. 1989; 125: 935-941.
6. Lopez I, Mendoza FJ, Aguilera-Tejero E, Perez J, Guerrero F, Martin D, Rodriguez M. The effect of calcitriol, paricalcitol, and a calcimimetic on extraosseous calcifications in uremic rats. *Kidney Int*. 2008; 73: 300-307.
7. Marcocci C, Cetani F. Clinical practice. Primary hyperparathyroidism. *N Engl J Med*. 2011; 365: 2389-2397.
8. Seiler S, Heine GH, Fliser D. Clinical relevance of FGF-23 in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2009; 76(114): S34-S42.
9. Sivri SK. Vitamin D metabolism. *Calcium and vitamin D metabolism / ITA*. 2010; 256.
10. Goar St. Case records of Massachusetts general hospital. *N Engl J Med*. 1963; 268: 943-953.
11. Dedov II, Melnichenko GA Endocrinology. National leadership. GEOTAR-Media, 2018 (In Russ.)
12. Triponez F, Kebebew E, Dosseh D, Duh QY, Hazzan M, Noel C, et al. Less-than-subtotal parathyroidectomy increases the risk of persistent/recurrent hyper- parathyroidism after parathyroidectomy in tertiary hyperparathyroidism after renal transplantation. *Surgery*. 2006; 140: 990-999.
13. Magnabosco FF, Tavares MR, Montenegro FL. Surgical treatment of secondary hyperparathyroidism: a systematic review of the literature. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2014; 58(5): 562-571.
14. Salukhov VV, Kovalevskaya EA, Kurbatova VV. Bone and extra-bone effects of vitamin D, as well as the possibility of drug correction of its deficiency. Medical advice. 2018; 4: 90-99. (In Russ.)
15. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007; 357: 266-281.
16. Abaturov AE, Borisova TP, Krivusha EL. Treatment and prevention of vitamin D insufficiency and deficiency in children and adolescents. *Zdorov'e rebenka*. 2015; 3(63): 73-78. (In Russ.)
17. Zakhарова ИН, Коровина НА., Боровик ТЕ., Дмитриева ЮА. Ракет и гиповитаминоз D. A new look at a long-standing problem. Manual for pediatricians. 2010. (In Russ.)
18. Cherenko SM, Bandura GV. The effect of vitamin D deficiency on the clinical course of the disease and the early postoperative period in patients with primary hyperparathyroidism. *Sovremennye aspekty khirurgicheskoy endokrinologii: Materialy III Ukrainsko-Rossiyskogo simpoziuma. Zaporoz'e*; 2013: 179-181. (In Russ.)
19. Garfia B, Canadillas S, Canalejo A, Luque F, Siendones E, Quereda M, et al. Regulation of parathyroid vitamin D receptor expression by extracellular calcium. *J Am Soc Nephrol*, 2002; 13: 2945-2952.
20. Dedov II, Mazurina NV, Ogneva NA, Troshina EA, Rozhinskaya LY, Yashkov YI. Violation of the metabolism of vitamin D in obesity. *Obesity and metabolism*. 2011; 2: 3-10. (In Russ.)
21. Maltsev SV, Zakirova AM, Mansurova GS. Provision of vitamin D for young children from the group of medical and social risk. *Practical medicine*. 2016; 8(100): 31-37. (In Russ.)
22. Pigarova EA, Rozhinskaya LY, Belyaeva ZE, Dzeranova LK, Karanova TL, Ilyin AV, et al. Clinical recommendations of the Russian Association of Endocrinologists for diagnosis, treatment and prevention of vitamin D deficiency in adults. *Problemy endocrinologii*. 2016; 4: 60-84. doi: 10.14341 / prob1201662460-84. (In Russ.)
23. Hemm MM, Shekhani MA, Bnar J. Normocalcemic hyperparathyroidism. *Case Rep Clin Med*. 2014; 3: 253-256.
24. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96(7): 1911-1930.
25. Rodriguez ME, Almaden Y, Canadillas S, Canalejo A, Siendones E, Lopez I, et al. The calcimimetic R-568 increases vitamin D receptor expression in rat parathyroid glands. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007; 292: F1390-F1395.
26. Aspray TJ, Bowring C, Fraser W, Gittoes N, Javaid MK, Macdonald H, et al. National Osteoporosis Society Vitamin D Guideline Summary. *Age Ageing*. 2014; Jul 28.

REFERENCES

1. Rozhinskaya LY, Smorschak VN, Beltsevich DG. Hyperparathyroidism Endocrine Surgery; Ed. I.I. Dedova, N.S. Kuznetsova, G.A. Melnichenko. *Littera*; 2014. (In Russ.)
2. Dedov II, Melnichenko GA, Mokrysheva NG, Rozhinskaya LY, Kuznetsov NS, Pigarova EA. Primary hyperparathyroidism: clinic, diagnosis, differential diagnosis, treatment methods. *Problemy endocrinologii*. 2016; 6: 40-77. (In Russ.)
3. Gasparri G, Camandona M, Abbona GC, et al. Secondary and tertiary hyperparathyroidism: causes of recurrent disease after 446 parathyroidectomies. *Ann Surg*. 2001; 233: 65-69.
4. Fraser WD. Hyperparathyroidism. *Lancet*. 2009; 374: 145-158.
5. Kremer R, Bolivar I, Goltzman D, Hendy GN. Influence of calcium and 1,25-dihydroxycholecalciferol on proliferation and proto-oncogene expression in primary cultures of bovine parathyroid cells. *Endocrinology*. 1989; 125: 935-941.
6. Lopez I, Mendoza FJ, Aguilera-Tejero E, Perez J, Guerrero F, Martin D, Rodriguez M. The effect of calcitriol, paricalcitol, and a calcimimetic on extraosseous calcifications in uremic rats. *Kidney Int*. 2008; 73: 300-307.
7. Marcocci C, Cetani F. Clinical practice. Primary hyperparathyroidism. *N Engl J Med*. 2011; 365: 2389-2397.
8. Seiler S, Heine GH, Fliser D. Clinical relevance of FGF-23 in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2009; 76(114): S34-S42.
9. Sivri SK. Vitamin D metabolism. *Calcium and vitamin D metabolism / ITA*. 2010; 256.
10. Goar St. Case records of Massachusetts general hospital. *N Engl J Med*. 1963; 268: 943-953.
11. Dedov II, Melnichenko GA Endocrinology. National leadership. GEOTAR-Media, 2018 (In Russ.)
12. Triponez F, Kebebew E, Dosseh D, Duh QY, Hazzan M, Noel C, et al. Less-than-subtotal parathyroidectomy increases the risk of persistent/recurrent hyper- parathyroidism after parathyroidectomy in tertiary hyperparathyroidism after renal transplantation. *Surgery*. 2006; 140: 990-999.
13. Magnabosco FF, Tavares MR, Montenegro FL. Surgical treatment of secondary hyperparathyroidism: a systematic review of the literature. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2014; 58(5): 562-571.
14. Salukhov VV, Kovalevskaya EA, Kurbatova VV. Bone and extra-bone effects of vitamin D, as well as the possibility of drug correction of its deficiency. Medical advice. 2018; 4: 90-99. (In Russ.)
15. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007; 357: 266-281.
16. Abaturov AE, Borisova TP, Krivusha EL. Treatment and prevention of vitamin D insufficiency and deficiency in children and adolescents. *Zdorov'e rebenka*. 2015; 3(63): 73-78. (In Russ.)
17. Zakhарова ИН, Коровина НА., Боровик ТЕ., Дмитриева ЮА. Ракет и гиповитаминоз D. A new look at a long-standing problem. Manual for pediatricians. 2010. (In Russ.)
18. Cherenko SM, Bandura GV. The effect of vitamin D deficiency on the clinical course of the disease and the early postoperative period in patients with primary hyperparathyroidism. *Sovremennye aspekty khirurgicheskoy endokrinologii: Materialy III Ukrainsko-Rossiyskogo simpoziuma. Zaporoz'e*; 2013: 179-181. (In Russ.)
19. Garfia B, Canadillas S, Canalejo A, Luque F, Siendones E, Quereda M, et al. Regulation of parathyroid vitamin D receptor expression by extracellular calcium. *J Am Soc Nephrol*, 2002; 13: 2945-2952.
20. Dedov II, Mazurina NV, Ogneva NA, Troshina EA, Rozhinskaya LY, Yashkov YI. Violation of the metabolism of vitamin D in obesity. *Obesity and metabolism*. 2011; 2: 3-10. (In Russ.)
21. Maltsev SV, Zakirova AM, Mansurova GS. Provision of vitamin D for young children from the group of medical and social risk. *Practical medicine*. 2016; 8(100): 31-37. (In Russ.)
22. Pigarova EA, Rozhinskaya LY, Belyaeva ZE, Dzeranova LK, Karanova TL, Ilyin AV, et al. Clinical recommendations of the Russian Association of Endocrinologists for diagnosis, treatment and prevention of vitamin D deficiency in adults. *Problemy endocrinologii*. 2016; 4: 60-84. doi: 10.14341 / prob1201662460-84. (In Russ.)
23. Hemm MM, Shekhani MA, Bnar J. Normocalcemic hyperparathyroidism. *Case Rep Clin Med*. 2014; 3: 253-256.
24. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96(7): 1911-1930.
25. Rodriguez ME, Almaden Y, Canadillas S, Canalejo A, Siendones E, Lopez I, et al. The calcimimetic R-568 increases vitamin D receptor expression in rat parathyroid glands. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007; 292: F1390-F1395.
26. Aspray TJ, Bowring C, Fraser W, Gittoes N, Javaid MK, Macdonald H, et al. National Osteoporosis Society Vitamin D Guideline Summary. *Age Ageing*. 2014; Jul 28.

27. Martin A, David V, Darryl Quarles L. Regulation and function of the FGF23/Klotho endocrine pathways. *Physiol Rev.* 2012; 92: 131-155.
28. Adams JS. Update in Vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010; (95): 471-478.
29. Liu M, Lee MH, Cohen M, Bommakanti M, Freedman LP. Transcriptional activation of the Cdk inhibitor p21 by vitamin D3 leads to the induced differentiation of the myelomonocytic cell line U937. *Genes Dev.* 1996; 10(2): 142-153. doi: 10.1101/gad.10.2.142
30. Cherenko S.M. Primary hyperparathyroidism: modern laboratory diagnostics and differential diagnosis. *International Endocrinology Journal.* 2014; 6(62): 174-181. (In Russ.)
31. Kravchun NA, Chernyavskaya IV, Titova YA, Efimenko TI. Differential diagnosis of normocalcemic variant of hyperparathyroidism. *Clinician.* 2015; 4(9): 47-52. (In Russ.)
32. Koizumi M, Komaba H, Nakanishi S, Fujimori A. Cinacalcet treatment and serum FGF23 levels in haemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant.* 2012; (27): 784-790.
33. Canalejo R, Canalejo A, Manuel Martinez-Moreno J, Encarnacion Rodriguez-Ortiz ME, Estepa JC, et al. FGF23 fails to inhibit uremic parathyroid glands. *J Am Soc Nephrol.* 2010; 21: 1125-1135.
34. Chew DJ, DiBartola SP, Schenck PA. *Canine and feline nephrology and urology.* Elsevier; 2010.
35. Gutierrez OM. Fibroblast growth factor 23 and disordered vitamin D metabolism in chronic kidney disease: updating the "trade-off" hypothesis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010; 5(9): 1710-1716.
36. Schlosser K, Rothmund M, Maschuw K, Barth PJ, Vahl TP, Suchan KL, et al. Graft-dependent renal hyperparathyroidism despite successful kidney transplantation. 2008; 32: 557-565.
37. Rizzoli R, Boonen S, Brandi ML, Bruyere O, Cooper C, Kanis JA, et al. Vitamin D supplementation in elderly or postmenopausal women: a 2013 update of the 2008 recommendations from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO). *Curr Med Res Opin.* 2013; 29(4): 305-313. doi: 10.1185/03007995.2013.766162
38. Sun J. Vitamin D and mucosal immune function. *Curr Opin Gastroenterol.* 2010; 26: 591-595
39. Shutov EV. The value of fibroblast growth factor-23 in patients with chronic kidney disease – a review of modern studies. *Lechashiy vrach.* 2012; 8; 12-16. (In Russ.)
40. Dusso A, Gonzalez EA, Martin KJ. Vitamin D in chronic kidney disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2011; 25(4): 647-655
41. Klonoff DC. Fibroblast growth factor: will this hormone be the hemoglobin A1c for managing phosphorus balance in chronic kidney disease? *J Diabetes Sci Technol.* 2010; 4(4); 770-772.
42. Druet T, Martin D, Rodriguez M. Can calcimimetics inhibit parathyroid hyperplasia? Evidence from preclinical studies. *Nephrol Dial Transplant.* 2007; 22: 1828-1839.
43. Jameson JL, DeGroot LJ, De Kretser DM, Giudice L, Grossman A, Melmed S, Potts JT, et al. Surgical management of hyperparathyroidism. *Endocrinology: Adult and Pediatric (Seventh Edition).* 2016.
44. Goodman WG, Quarles LD. Development and progression of secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease: lessons from molecular genetics. *Kidney Int.* 2008; 74: 276-288.
45. Tokumoto M, Tsuruya K, Fukuda K, Kanai H, Kuroki S, Hirakata H. Reduced p21, p27 and vitamin D receptor in the nodular hyperplasia in patients with advanced secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int.* 2002; 62: 1196-1207. doi: 10.1111/j.1523-1755.2002.kid585.x
46. Lewin E, Garfia B, Recio FL, Rodriguez M, Olgaard K. Persistent downregulation of calcium-sensing receptor mRNA in rat parathyroids when severe secondary hyperparathyroidism is reversed by an isogenic kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 2002, 13: 2110-2116.
47. Ritter CS, Finch JL, Slatopolsky EA, Brown AJ. Parathyroid hyperplasia in uremic rats precedes down-regulation of the calcium receptor. *Kidney Int.* 2001; 60: 1737-1744.
48. Galitzer H, Ben-Dov IZ, Silver J, Naveh-Many T. Parathyroid cell resistance to fibroblast growth factor 23 in secondary hyperparathyroidism of chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2010; 77: 211-218.
49. Mendoza FJ, Lopez I, Canalejo R, Almaden Y, Martin D, Aguilera-Tejero E, Rodriguez M: Direct upregulation of parathyroid calcium-sensing receptor and vitamin D receptor by calcimimetics in uremic rats. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2009; 296: F605-F613.
50. Touvier M, Deschaseaux M, Montourcy M, Sutton A. Interpretation of plasma PTH concentrations according to -25(OH) D status, gender, age, weight status, and calcium intake: importance of the reference values. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99(4): 1196-1203.
51. Cozzolino M, Lu Y, Finch J, et al. p21WAF1 and TGF- α mediate parathyroid growth arrest by vitamin D and high calcium. *Kidney Int.* 2001; 60: 2109-2117.
52. Pitt SC, Sippel RS, Chen H. Secondary and tertiary hyperparathyroidism, state of the art surgical management. *Surg Clin North Am.* 2009; 89(5): 1227-1239.
53. Bianchi S, Fabiani S, Muratori M, Arnold A, Sakaguchi K, Miki T, et al. Calcium modulates the cyclin D1 expression in a rat parathyroid cell line. *Biochem Biophys Res Commun.* 1994; 204: 691-700.
54. Sadiqueen HM, Taylor JD, Goldsmith DJ. Total parathyroidectomy without autotransplantation after renal transplantation for tertiary hyperparathyroidism: long-term follow-up. *Int Urol Nephrol.* 2012; 44: 275-281.
55. Rayes N, Seehofer D, Schindler R, Reinke P, Kahl A, Ulrich F, et al. Long-term results of subtotal vs total parathyroidectomy without autotransplantation in kidney transplant recipients. *Arch Surg.* 2008; 143: 756-761.
56. Evenepoel P, Claes K, Kuypers D, Maes B, Bammens B, Vanrenterghem Y. Natural history of parathyroid function and calcium metabolism after kidney transplantation: a single-centre study. *Nephrol Dial Transplant.* 2004; 19(5): 1281-1287.
57. Yacobi-Bach M, Serebro M, Greenman Y, Tordjman K. Letter to the editor: thiazides are not inducers of PTH secretion: a comment on normocalcemic hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 100(2): 40-65.

Сведения об авторах

Берсенев Глеб Александрович – аспирант, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: glbersenev17@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-6887-8325>

Ильчева Елена Алексеевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая научным отделом клинической хирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; врач-хирург торакального хирургического отделения, ГБУЗ «Иркутская ордена «Знак почёта» областная клиническая больница», e-mail: lena_isi@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2081-8665>

Булгатов Дмитрий Александрович – аспирант, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: bbd-x@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2440-0813>

Information about the authors

Gleb A. Bersenev – Postgraduate, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: glbersenev17@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-6887-8325>

Elena A. Ilyicheva – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Scientific Department of Clinical Surgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Thoracic Surgeon at the Thoracic Surgical Department, Irkutsk Regional Clinical Hospital, e-mail: lena_isi@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2081-8665>

Dmitriy A. Bulgatov – Postgraduate, Irkutsk State Medical University, e-mail: bbd-x@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2440-0813>

Статья получена: 17.07.2019. Статья принята: 3.09.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 17.07.2019. Accepted: 3.09.2019. Published: 26.10.2019.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.5.18

Оптимизация методики количественной ОТ-ПЦР для оценки концентрации геномной +РНК вириуса клещевого энцефалита

Ляпунова Н.А., Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А.

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

Автор, ответственный за переписку: Ляпунова Наталья Андреевна, e-mail: nataly2193@mail.ru

Резюме

Обоснование. Для изучения механизмов репликации вириуса клещевого энцефалита (ВКЭ) в клетках позвоночных хозяев разных видов необходимо дифференциальное определение концентрации геномной и репликативной форм РНК (+РНК и -РНК соответственно). Однако имеющиеся в настоящее время подходы рассчитаны на измерение суммарного количества вириусной РНК. Для достоверного определения количества вириусной РНК на разных стадиях репликативного цикла требуется оптимизация методики ОТ-ПЦР.

Цель исследования. Разработать панель стандартных образцов синтетической ВКЭ и оптимизировать ОТ-ПЦР для специфичного количественного определения геномной +РНК вириуса.

Методы. Фрагмент геномной +РНК ВКЭ синтезировали с использованием плазмидного вектора *pTZ57R-T\A* со встроенным промотором *T7* и соответствующей РНК-полимеразы. Контаминирующую ДНК удаляли с помощью обработки свободной от РНКаз ДНКазой I и дополнительного этапа выделения РНК. Обратную транскрипцию проводили с использованием специфичного антисмыслового праймера 11154R 5'-AGCGGGTGTTCG-3', а количественное определение с помощью ПЦР выполняли согласно M. Schwaiger и P. Cassinotti (2003) с модификациями.

Результаты. В результате амплификации стандартных образцов концентрации РНК ВКЭ положительной полярности, проведённой в пяти независимых повторах в разные дни, коэффициент корреляции R^2 между циклом количественного определения и концентрацией стандартного образца составил 0,99, а эффективность ПЦР составила 100%. Характеристики воспроизведимости, линейности и эффективности ПЦР свидетельствуют о валидности определения концентрации РНК ВКЭ. Коэффициент вариации при оценке межтестовой точности определения в среднем составил 2,8%, что сопоставимо с показателями оригинальной методики.

Заключение. Оптимизированная количественная ОТ-ПЦР позволяет проводить рутинное лабораторное определение количества геномной РНК ВКЭ.

Ключевые слова: флавивириусы, вириус клещевого энцефалита, РНК, количественная ОТ-ПЦР.

Для цитирования: Ляпунова Н.А., Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А. Оптимизация методики количественной ОТ-ПЦР для оценки концентрации геномной +РНК вириуса клещевого энцефалита. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 116-121. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.18

Optimization of a Quantitative Real-Time RT-PCR Technique for Evaluation of Concentration of Genomic +RNA of Tick-Borne Encephalitis Virus

Liapunova N.A., Khasnatinov M.A., Danchinova G.A.

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

Corresponding author: Natalia A. Liapunova, e-mail: nataly2193@mail.ru

Abstract

Background. The specific detection of genomic/template +RNA and replicative -RNA of tick-borne encephalitis virus (TBEV) is necessary to study the mechanisms of viral replication in the cells of reservoir and accidental hosts. However, the current approaches of quantitative reverse transcription – polymerase chain reaction (qRT-PCR) are rather focused on the detection of total viral RNA load in the sample. Thus, the significant optimization is necessary both for RT-PCR and for RNA copy number standard preparation.

Aims. To develop the set of standard samples of synthetic +RNA of TBEV and to optimize qRT-PCR for quantification of genomic +RNA of the virus.

Materials and methods. Fragment of the genomic +RNA of TBEV was synthesized using *pTZ57R-T\A* plasmid vector with embedded *T7* promoter and *T7* RNA polymerase. The DNA contamination was removed using RNase-free DNase I treatment followed by additional RNA purification step. Reverse transcription was performed using specific antisense primer 11154R 5'-AGCGGGTGTTCG-3' and qPCR detection was used according to the modified procedure of M. Schwaiger and P. Cassinotti (2003).

Results. As a result of the amplification of standard samples, the concentration of positive polarity TBEV RNA, carried out in five independent repetitions on different days, the correlation coefficient R^2 between the quantification cycle and the concentration of the standard sample was 0.99, and the efficiency of PCR was 100 %. The coefficient of variation in assessing the inter-test accuracy of determination averaged 2.8 %.

Conclusions. Optimized qRT-PCR procedure and set of +RNA standards allow to determine the concentration of genomic +RNA of TBEV in routine laboratory practice.

Key words: Flavivirus, tick-borne encephalitis virus, RNA, quantitative RT-PCR in real time

For citation: Liapunova N.A., Khasnatinov M.A., Danchinova G.A. Optimization of a Quantitative Real-Time RT-PCR Technique for Evaluation of Concentration of Genomic +RNA of Tick-Borne Encephalitis Virus. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 116-121. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.18

ОБОСНОВАНИЕ

Клещевой энцефалит (КЭ) является тяжёлой нейроинфекцией, передающейся при укусах иксодовых клещей, и распространён в северной, центральной и восточной Европе, в Российской Федерации и на Дальнем Востоке. Ежегодно только в Российской Федерации регистрируется 2000–3700 случаев заболевания [1]. Возбудитель заболевания – вирус клещевого энцефалита (ВКЭ) – относится к семейству *Flaviviridae*. На основании филогенетических исследований большинство исследователей выделяют три субтипа ВКЭ – Европейский, Дальневосточный и Сибирский [2]. В последние годы некоторые авторы выделяют также Байкальский [3] и Гималайский субтипы [4]. Помимо ВКЭ, семейство *Flaviviridae* включает возбудителей таких заболеваний, как лихорадка Денге, японский энцефалит, лихорадка западного Нила, энцефалит Сент-Луис, жёлтая лихорадка, гепатит С, лихорадка Зика. Как и у всех flavивирусов, геном ВКЭ состоит из линейной положительно заряженной одноцепочечной молекулы РНК длиной около 10,5 тыс. нуклеотидных оснований (н. о.) [5, 6]. Одна длинная открытая рамка считывания между двумя короткими некодирующими последовательностями кодирует все вирусные белки [7]. В начале внутриклеточного репликативного цикла на матрице вирионной +РНК синтезируются репликативные минус-цепи РНК. Далее на их основе синтезируются как дочерние геномные копии +РНК ВКЭ для формирования новых вирионов, так и матричные +РНК для трансляции полипротеина [8]. Синтез минус- и плюс-цепей РНК является асимметричным процессом – минус-цепи служат матрицей для нескольких раундов синтеза плюс-цепей [8]. Было установлено, что в процессе репликации вируса вторых образуется в 10–100 раз больше, чем первых [9].

Стабильно напряжённая эпидемиологическая ситуация на территориях, эндемичных по КЭ, и тяжесть заболевания требуют совершенствования методов исследования и диагностики инфекции. Среди современных молекулярно-генетических методов одно из основных мест занимает полимеразная цепная реакция (ПЦР) [10, 11]. Главным преимуществом ПЦР как в научных, так и в диагностических исследованиях является высокочувствительное и высокоспецифичное определение геномной РНК/ДНК инфекционного агента, позволяющее провести прямое обнаружение вируса [12, 13, 14]. Кроме того, ПЦР позволяет произвести и измерение количества копий геномной РНК ВКЭ, что может быть использовано для сравнительного изучения эпидемиологической ситуации на эндемичных территориях, для скрининга природных очагов на наличие ВКЭ и его циркуляции, а также для исследования эффективности

репликации РНК ВКЭ на разных стадиях жизненного цикла вируса [15, 16].

Для количественного выявления РНК ВКЭ используют ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР), основанную на выщеплении 5'-концевой метки с помощью 5'-экзонуклеазной активности полимеразы (TaqMan Assay). Зонд TaqMan содержит флуоресцентную метку на 5'-конце и флуоресцентный гаситель на 3'-конце [17]. Гаситель поглощает испускаемое флуоресцентной меткой излучение, а фосфатная группа в 3'-положении блокирует полимеразу. В ходе ПЦР во время стадии отжига праймеров происходит присоединение ДНК-зонда к комплементарной цепи ДНК. Во время стадии элонгации полимераза синтезирует комплементарную цепь ДНК и при достижении зонда начинает его расщеплять благодаря наличию 5'-3' экзонуклеазной активности [18]. Происходит разъединение флуоресцентной метки и гасителя, что приводит к увеличению детектируемого свечения, которое прямо пропорционально накоплению ПЦР-продукта [19]. Количественное определение концентрации РНК производится на основе сравнения динамики накопления ПЦР-продукта в образце с динамикой накопления продуктов ПЦР в панели стандартных образцов, содержащих известное число копий целевого фрагмента РНК ВКЭ.

В настоящее время нами проводятся исследования эффективности репликации РНК ВКЭ в культурах клеток резервуарных и случайных хозяев [20]. При этом становится актуальной дифференцированная оценка эффективности внутриклеточного синтеза +РНК и –РНК ВКЭ. Ранее нами была использована методика, разработанная M. Schwaiger и P. Cassinotti [17], а в качестве стандартных образцов были использованы фрагменты ДНК-копий генома ВКЭ, клонированные в плазмидном векторе [20]. Такой подход снижает точность определения количества РНК и не позволяет учесть все факторы, влияющие на результат эксперимента в процессе пробоподготовки. Кроме того, точное воспроизведение оригинального дизайна эксперимента не даёт возможности различать концентрацию +РНК и –РНК в смешанном образце. Для оптимизации методики мы применили селективный синтез комплементарной ДНК на матрице +РНК с помощью цепеспецифичного праймера обратной транскрипции, а также разработали панель соответствующих стандартных образцов +РНК.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Разработать панель стандартных образцов синтетической +РНК ВКЭ и оптимизировать ОТ-ПЦР для специфичного количественного определения геномной +РНК ВКЭ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Конструирование матрицы
для *in vitro* транскрипции

Для амплификации целевого фрагмента вирусного генома использовали изолят ВКЭ Сибирского субтипа 92М [21]. Вирус поддерживали в культуре клеток СПЭВ. Суммарную РНК выделяли из надклеточной жидкости с помощью наборов «РибоПреп» (Амплисенс). Обратную транскрипцию проводили с использованием комплекта Реверта-L (Амплисенс, Москва). Консервативную часть 3'-конца генома амплифицировали в ПЦР с помощью праймеров 10072F (5'-GCTTGGATGACCACAGAGGAC-3') и 11154R (5'-AGCGGGTGTTCG-3'). Полученный ампликон длиной 853 н. о. лигировали в плазмидный вектор pTZ57R-TA (Fermentas, Литва) и клонировали в компетентных клетках *E. coli* DH5alpha по протоколу [22]. Селекцию корректных клонов производили с помощью ПЦР-скрининга с фланкирующими ПЦР-праймерами 10072F и 11154R. Итоговая конструкция содержала целевой фрагмент, клонированный в направлении 5' → 3' +1G под промотором РНК полимеразы T7, что позволяет синтезировать *in vitro* смысловую цепь РНК(+РНК) ВКЭ (рис. 1). Клон pTZ57R_TBEV-92M_10072-11154 с корректной вставкой наращивали в 100 мл жидкой LB-среде с добавлением ампилиллина в течение ночи. Плазмидную ДНК очищали с помощью набора AxyPrep Plasmid miniprep kit (Axygen, США), согласно инструкции производителя, и растворяли в 150 мкл стерильной бидистиллированной воды. Плазмиду линеаризовали эндонуклеазой PsiI (Сибэнзим, Новосибирск) при 37 °С в течение 1 ч (рис. 1). Эффективность лизиса оценивали электрофоретически. Линейную конструкцию использовали в качестве матрицы в транскрипции РНК *in vitro*.

Транскрипция РНК *in vitro*

Реакционная смесь в объёме 50 мкл содержала 200U T7 РНК-полимеразы (Сибэнзим, Новосибирск), 1 мМ рНТФ (ДНК-синтез, Москва) и 80U ингибитора РНКаз «RNasin» (Promega, США), 5 мкл 10X T7 буфера и свободную от рибонуклеаз воду до выполнения объёма. Количество линеаризованной матрицы pTZ57R_TBEV-92M_10072-11154 варьировали в процессе оптимизации условий реакции от 0,1 до 1 мкг.

Очистка синтетической РНК

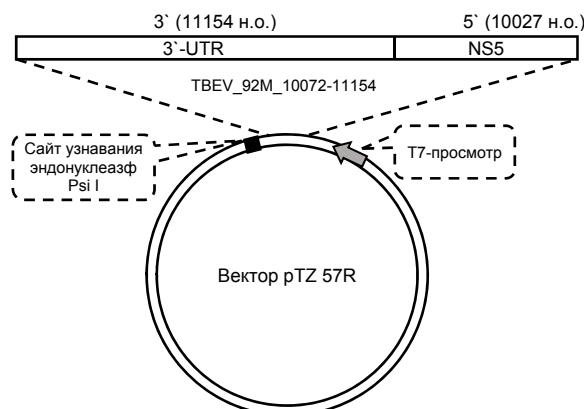


Рис. 1. Консервативная область участка кДНК ВКЭ, встроенная в плазмидный вектор pTZ 57R под промотором T7 РНК полимеразы.

Fig. 1. The conservative region of the TBE cDNA region, integrated into the pTZ 57R plasmid vector under the T7 RNA polymerase promoter.

Для удаления матричной ДНК реакционную смесь после T7-транскрипции обрабатывали свободной от РНКаз ДНКазы I (Thermo Fisher Scientific, США). После окончания инкубации для инактивации фермента использовали по 10 мкл 50 мМ ЭДТА на каждый образец с последующей инкубацией при 65 °С в течение 10 минут. Полученную РНК очищали от реакционной смеси с помощью наборов «РибоПреп» (Амплисенс) и растворяли в 50 мкл буфера для разведения РНК.

Приготовление панели стандартных образцов

Концентрацию синтезированной РНК в стоковом растворе оценивали спектрофотометрически с помощью прибора NanoVue Plus (Biochrom, США). Количество копий РНК в одном микролитре раствора рассчитывали на основе известной нуклеотидной последовательности синтезированного фрагмента с помощью онлайн-калькулятора ENDMEMO (<http://endmemo.com/bio/dnacopurnum.php>). Для приготовления стандартов концентрации РНК стоковый образец разбавляли до расчётной концентрации 10⁹ копий РНК/мкл и приготавливали серийные десятикратные разведения синтетической РНК в диапазоне от 10 до 10⁹ копий РНК/мкл.

Обратная транскрипция и ПЦР

Комплементарную ДНК получали с помощью набора для обратной транскрипции Maxima Reverse Transcriptase (Thermo Fisher Scientific, США). В качестве праймера для обратной транскрипции с матрицы +РНК использовали антисмысловой праймер 11154R 5'-AGCGGGTGTTCG-3'. Для контроля специфичности амплификации цепей РНК были использованы смысловой праймер к -РНК 10072F 5'-GCTTGGATGACCACAGAGGAC-3', случайные гексануклеотиды и непраймированная ОТ смесь.

Количественную ПЦР проводили согласно методике M. Schwaiger и P. Cassinotti с модификациями [17]. Реакционная смесь в объёме 25 мкл содержала 1 ед. полимеразы HSTaq (Евроген, Москва), 2,5 мкл оптимизированного реакционного буфера (Евроген, Москва), 0,25 мМ каждого dNTP, праймеры F-TBE1 5'-GGCGGGTTCTGTTCTCC-3' и R-TBE1 5'-ACACATCACCTCCTGTCAGACT-3' в концентрации 50 нМ и 300 нМ, соответственно, а также зонд TBE-Probe-WT 5'-(FAM)TGAGCCACCATCACCCAGACACA(RTQ1)-3' в концентрации 200 нМ (Синтол, Москва). Режим ПЦР включал предварительный прогрев при 95 °С в течение 10 мин с последующими 45 циклами: 95 °С – 15 с, 60 °С – 1 мин. Регистрацию результатов проводили по каналу FAM на стадии 60 °С. Циклом количественного определения (quantification cycle, Cq) считали первый цикл, при котором интенсивность флуоресцентного сигнала превышала 10 стандартных отклонений от фона. Фоновая составляющая учитывалась с 1-го по 10-й цикл. Расчёты выполняли с помощью программы BioRad CFX Manager v. 3.1 (Bio-Rad Laboratories Inc., США). В каждую постановку был включён отрицательный контроль, содержащий все компоненты реакции ОТ-ПЦР, за исключением матричной РНК. Реакция осуществлялась в амплификаторе C1000 Touch с оптическим модулем CFX96 (Bio-Rad Laboratories Inc., США).

Статистическая обработка

Соответствие определения концентрации РНК линейной модели оценивали по коэффициенту детерминации R², зависимость Cq от концентрации РНК считали линейной при R² > 0,8. Для оценки вариабельности

наблюдений рассчитывали стандартное отклонение средних значений. Для оценки точности измерения количества РНК вычисляли коэффициент вариации V (в процентах) средних значений стандартной кривой после пяти независимых воспроизведений в разные дни (межтестовая точность). Эффективность ПЦР выражали в процентах и рассчитывали по формуле $\{(10^{[-1/k]} - 1) \times 100\}$, где k – угловой коэффициент (slope) стандартной кривой. Выпадающие значения концентрации РНК исключали с помощью квартильного метода [23]. Расчёты производили с помощью программы MS Office EXCEL 2003.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Специфичность обратной транскрипции и подготовка стандартных образцов

Из всех полученных конструкций был отобран клон, содержащий вставку длиной 853 н.о. и позволяющий стабильно синтезировать РНК, с которой получался ОТ-ПЦР продукт при праймировании олигонуклеотидом 11154R. Данный праймер является обратным и комплементарным к +РНК ВКЭ, следовательно, наличие ОТ-ПЦР продукта говорит о корректной ориентации вставки относительно Т7-промотора. Контрольные эксперименты со случайными олигонуклеотидами, смысловым праймером 10072F и без праймирования ОТ показали, что для достоверной оценки количества +РНК необходимо особо тщательно избавляться от остаточных фрагментов плазмидной ДНК. Так, при однократной обработке ДНКазой I ПЦР-продукт обнаруживался даже в образце ОТ без праймеров вообще (C_q -39,8). Эта проблема была решена с помощью ряда модификаций пробоподготовки, в частности:

- 1) увеличено количество плазмидной матрицы в 10 раз на этапе Т7-транскрипции *in vitro*;
- 2) на этапе обработки ДНКазой I использованы одновременно и ионы Mn^{++} , и ионы Mg^{++} ;
- 3) применена двухстадийная обработка ДНКазой I при добавлении по 40U ДНКазы I каждый час в течение двух часов инкубации;
- 4) увеличено количество ЭДТА до 10 мкл для ингибирования ДНКазы I;

5) введена дополнительная стадия выделения РНК после инактивации ДНКазы I.

После этого реакция ОТ была специфичной к +РНК ВКЭ. Концентрация синтетической РНК в стоковом образце составила 21,6 нг/мкл, что соответствует порядка 33×10^9 копий в микролитре. Это позволило приготовить стандартные образцы с расчётными концентрациями от 10^9 до 1 копии в микролитре.

Чувствительность ОТ-ПЦР

Реакция была линейной в диапазоне от 10^3 до 10^9 копий/мкл ($R^2 = 0,99$), эффективность ПЦР составила 100 % (рис. 2). При концентрациях +РНК ниже 1000 копий в 1 мкл линейность заметно нарушалась, что затрудняло количественное определение, однако качественная детекция низких количеств +РНК была осуществима. Возможно, сильное влияние на эффективность и линейность ПЦР оказывает влияние на срок хранения РНК-стандартов. Так, при использовании тех же самых стандартных образцов через 3–6 месяцев после приготовления коэффициент детерминации R^2 снижался до 0,84, а эффективность ПЦР приобретала аномальный характер и составляла 253 %, что говорит о снижении качества матричной РНК (рис. 2). В нашей предыдущей работе с использованием ДНК-стандартов коэффициент корреляции R^2 между циклом количественного определения и концентрацией стандартного образца составлял 0,99, а эффективность ПЦР составила 103 % [20], что позволяет сопоставлять новые результаты с ранее полученными результатами.

Воспроизводимость анализа

Коэффициент вариации при оценке межтестовой точности определения варьировал от 1,8 % до 3,8 % в зависимости от количества исходной матрицы и в среднем составил 2,8 %. Отмечено, что вариабельность анализа сопоставима с вариабельностью определения аналогичных концентраций РНК, приводимой в оригинальном исследовании (2,9 %; табл. 1) [17]. Однако вариабельность результатов, полученных при использовании ДНК-стандартов, была несколько меньше (табл. 1) [20]. На

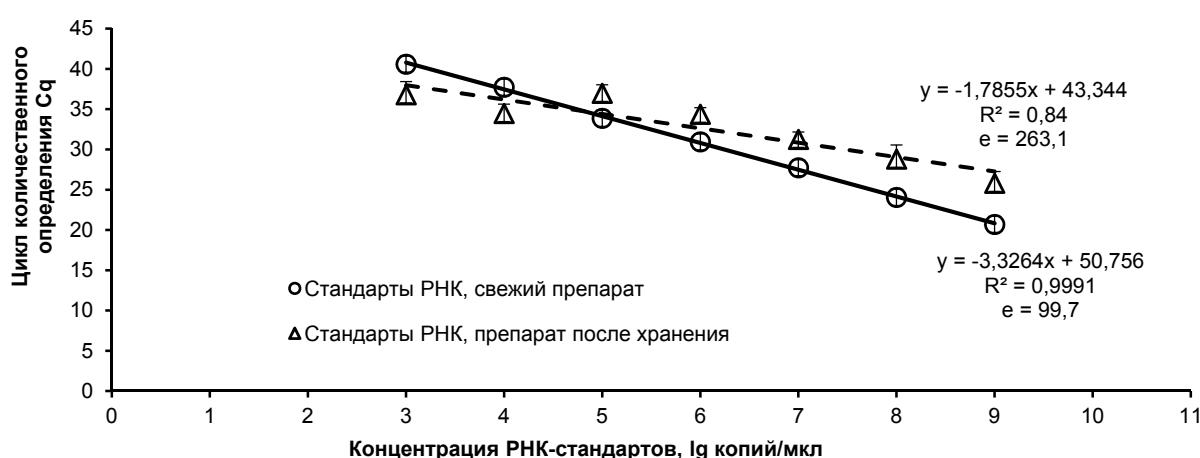


Рис. 2. Оценка линейности, эффективности и диапазона чувствительности количественной ОТ-ПЦР. По оси абсцисс приведена концентрация стандартных образцов РНК (копий/мкл), по оси ординат – цикл количественного определения (C_q). Планки погрешностей отображают стандартное отклонение по результатам пяти независимых повторений. Чёрная линия обозначает линейный тренд, уравнение линейности и коэффициент корреляции R^2 приведены в верхнем правом углу.

Fig. 2. Assessment of linearity, efficacy, and sensitivity range of quantitative RT-PCR. The abscissa shows the concentration of standard RNA samples (copies / μ l), the ordinate shows the quantification cycle (C_q). Error bars display standard deviation based on five independent repetitions. The black line indicates a linear trend, the linearity equation and the correlation coefficient R^2 are shown in the upper right corner.

наш взгляд, это может быть вызвано рядом факторов, в том числе большей вариабельностью исходных образцов РНК, меньшей стабильностью РНК, по сравнению с ДНК и более сложным процессом пробоподготовки, приводящим к потерям материала на каждом этапе.

Таблица 1

Средние значения коэффициентов вариации V в разных исследованиях при оценке межтестовой вариабельности количественного определения РНК-стандартов

Table 1
The average values of the coefficient of variation in different studies during the evaluating of intertest variability of the RNA standards quantitative determination

Источник	Диапазон значений V , %	Среднее, m
Schwaiger M., Cassinotti P., 2003	2,9	2,9
Хаснатинов М.А. и др., 2018	0,2–3,1	2,2
Эта работа	1,8–3,8	2,8

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Чувствительность ПЦР позволяла определять концентрацию РНК в количестве более 10 копий/мкл. В повторных экспериментах стабильно получали предел обнаружения не менее 10^3 копий на 1 мкл раствора. В наилучшем случае обнаруживалось до 10 копий при коротком сроке хранения стандартных образцов (4–5 суток при -70°C). При более длительном хранении наблюдалось снижение чувствительности до 10^3 . Это может быть связано с более низкой стабильностью молекулы РНК. Можно сделать вывод о том, что для получения корректных данных необходимо параллельно амплифицировать максимально возможное количество тестовых образцов в одном прогоне с РНК-стандартами, чтобы исключить вероятное искажение итогового результата. Путём экспериментального подбора оптимальных условий реакции был внесён ряд изменений в методику приготовления стандартов концентрации РНК:

Таким образом, оптимизированная методика позволяет достоверно определять концентрацию геномной РНК ВКЭ и может использоваться для детального изучения репликации ВКЭ в культуре клеток позвоночных и беспозвоночных хозяев.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Шестопалов Н.В., Шашина Н.И., Германт О.М., Пакскина Н.Д., Царенко В.А., Веригина Е.В., Бойко Л.С. Информационное письмо «Природно-очаговые инфекции, возбудителей которых передают иксодовые клещи, и их неспецифическая профилактика в Российской Федерации (по состоянию на 01.01.2019 г.)». *Дезинфекционное дело*. 2019; 1(107): 37-44.
- Ecker M, Allison SL, Meixner T, Heinz FX. Sequence analysis and genetic classification of tick-borne encephalitis viruses from Europe and Asia. *J Gen Virol*. 1999; 80: 179-185. doi: 10.1099/0022-1317-80-1-179
- Козлова И.В., Демина Т.В., Ткачев С.Е., Дорощенко Е.К., Лисак О.В., Верхозина М.М., и др. Характеристика байкальского субтипа вируса клещевого энцефалита, циркулирующего на территории Восточной Сибири. *Acta biomedica scientifica*. 2018; 3(4): 53-60. doi: 10.29413/ABS.2018-3.4.9
- Dai X, Shang G, Lu S, Yang J, Xu J. A new subtype of eastern tick-borne encephalitis virus discovered in Qinghai-Tibet Plateau, China. *Emerg Microbes Infect*. 2018; 7(1): 74. doi: 10.1038/s41426-018-0081-6
- Wallner G, Mandl CW, Kunz C, Heinz FX. The flavivirus 3'-noncoding region: extensive size heterogeneity independent of evolutionary relationships among strains of tick-borne encephalitis virus. *Virology*. 1995; 213(1): 169-178. doi: 10.1006/viro.1995.1557
- Mandl CW, Kunz C, Heinz FX. Presence of poly(A) in a flavivirus: significant differences between the 3'-noncoding regions of the genomic RNAs of tick-borne encephalitis virus strains. *J Virol*. 1991; 65(8): 4070-4077.
- Wallner G, Mandl CW, Ecker M, Holzmann H, Stiasny K, Kunz C, Heinz FX. Characterization and complete genome sequences of high- and low-virulence variants of tick-borne encephalitis virus. *J Gen Virol*. 1996; 77: 1035-1042. doi: 10.1099/0022-1317-77-5-1035
- Chu PW, Westaway EG. Replication strategy of Kunjin virus: evidence for recycling role of replicative form RNA as template in semiconservative and asymmetric replication. *Virology*. 1985; 140(1): 68-79. doi: 10.1016/0042-6822(85)90446-5
- Lindenbach BD, Thiel H-J, Rice CM. Flaviviridae: the viruses and their replication. In: Knipe DM, Howley PM (eds.). *Fields Virology, 5th Edition*. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia; 2007; 1101-1152.
- Иткес А.В. *Полимеразная цепная реакция*. М.: Альтекс; 1999.
- Пальцев М.А. *Введение в молекулярную медицину*. М.: Медицина; 2004.
- Carnegie PR. Quality control in the food industries with DNA technologies. *Australas Biotechnol*. 1994; 4(3): 146-149.
- De Vega M, Blanco L, Salas M. Processive proofreading and the spatial relationship between polymerase and exonuclease active sites of bacteriophage ϕ 29 DNA polymerase. *J Mol Biol*. 1999; 292(1): 39-51. doi: 10.1006/jmbi.1999.3052
- Dean FB, Neison JR, Giesler TL, Lasken RS. Rapid amplification of plasmid and phage DNA using Phi29 DNA polymerase and multiply primed rolling circle amplification. *Genome Res*. 2001; 11(6): 1095-1099. doi: 10.1101/gr.180501
- Lo AC, Feldman SR. Polymerase chain reaction: basic concepts and clinical applications in dermatology. *J Am Acad Dermatol*. 1994; 30(2 Pt 1): 250-260. doi: 10.1016/S0190-9622(94)70025-7
- Little MC, Andrews J, Moore R, Bustos S, Jones L, Embres C, et al. Strand displacement amplification and homogeneous real-time detection incorporated in a second-generation DNA probe system, BDProbeTecET. *Clin Chem*. 1999; 45(6): 777-784.
- Schwaiger M, Cassinotti P. Development of a quantitative real-time RT-PCR assay with internal control for the laboratory detection of tick borne encephalitis virus (TBEV) RNA. *J Clin Virol*. 2003; 27(2): 136-145. doi: 10.1016/S1386-6532(02)00168-3
- Екимов А.Н., Шипулин Г.А., Бочкарев Е.Г., Рюмин Д.В. Полимеразная цепная реакция в реальном времени. М.: ЦНИИ Эпидемиологии РФ; 2004. URL: <http://www.interlabservice.ru/catalog/faq/?id=3422>.
- Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real-time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996; 6(10): 986-994. doi: 10.1101/gr.6.10.986
- Хаснатинов М.А., Болотова Н.А., Миловидов К.С., Кондратов И.Г., Данчинова Г.А. Репликация РНК вируса клещевого энцефалита в новой перевиваемой линии клеток естественного хозяина *Apodemus peninsulae*. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2018; 36(1): 41-45. doi: 10.18821/0208-0613-2018-36-1-41-45
- Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А., Злобин В.И., Ляпунов А.В., Арбатская Е.В., Чапоргина Е.А., и др. Вирус клещевого энцефалита в Монголии. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2012; 4: 9-12.
- Chung CT, Niemela SI, Miller RH. One-step preparation of competent *Escherichia coli*: transformation and storage of bacterial cells in the same solution. *PNAS*. 1998; 86(7): 2172-2175. doi: 10.1073/pnas.86.7.2172
- Walpole RE, Myers RH, Myers SL, Ye K. *Probability & Statistics for Engineers & Scientists, 8th ed.* Upper Saddle River: Pearson Education, Inc.; 2007.

REFERENCES

1. Shestopalov NV, Shashina NI, Germant OM, Pakskina ND, Tsarenko VA, Verigina EV, et al. Information letter "Focal infection, pathogens that transmit and spread ticks, and their direct prevention in the Russian Federation (as of 01/01/2019)". *Dezinfektsionnoye delo*. 2019; 1(107): 37-44. (In Russ.)
2. Ecker M, Allison SL, Meixner T, Heinz FX. Sequence analysis and genetic classification of tick-borne encephalitis viruses from Europe and Asia. *J Gen Virol*. 1999; 80: 179-185. doi: 10.1099/0022-1317-80-1-179
3. Kozlova IV, Demina TV, Tkachev SE, Doroshchenko EK, Lisak OV, Verkhozina MM, et al. Characteristics of the Baikal subtype of tick-borne encephalitis viruses circulating in Eastern Siberia. *Acta biomedica scientifica*. 2018; 3(4): 53-60. doi: 10.29413/ABS.2018-3.4.9. (In Russ.)
4. Dai X, Shang G, Lu S, Yang J, Xu J. A new subtype of eastern tick-borne encephalitis virus discovered in Qinghai-Tibet Plateau, China. *Emerg Microbes Infect*. 2018; 7(1): 74. doi: 10.1038/s41426-018-0081-6
5. Wallner G, Mandl CW, Kunz C, Heinz FX. The flavivirus 3'-noncoding region: extensive size heterogeneity independent of evolutionary relationships among strains of tick-borne encephalitis virus. *Virology*. 1995; 213(1): 169-178. doi: 10.1006/viro.1995.1557
6. Mandl CW, Kunz C, Heinz FX. Presence of poly(A) in a flavivirus: significant differences between the 3'-noncoding regions of the genomic RNAs of tick-borne encephalitis virus strains. *J Virol*. 1991; 65(8): 4070-4077.
7. Wallner G, Mandl CW, Ecker M, Holzmann H, Stiasny K, Kunz C, Heinz FX. Characterization and complete genome sequences of high- and low-virulence variants of tick-borne encephalitis virus. *J Gen Virol*. 1996; 77: 1035-1042. doi: 10.1099/0022-1317-77-5-1035
8. Chu PW, Westaway EG. Replication strategy of Kunjin virus: evidence for recycling role of replicative form RNA as template in semiconservative and asymmetric replication. *Virology*. 1985; 140(1): 68-79. doi: 10.1016/0042-6822(85)90446-5
9. Lindenbach BD, Thiel H-J, Rice CM. Flaviviridae: the viruses and their replication. In: Knipe DM, Howley PM (eds.). *Fields Virology, 5th Edition*. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia; 2007; 1101-1152.
10. Itkis AV. *Polymerase chain reaction*. Moscow: Al'teks; 1999. (In Russ.)
11. Paltsev MA. *Introduction to molecular medicine*. Moscow: Meditsina; 2004. (In Russ.)
12. Carnegie PR. Quality control in the food industries with DNA technologies. *Australas Biotechnol*. 1994; 4(3): 146-149.
13. De Vega M, Blanco L, Salas M. Processive proofreading and the spatial relationship between polymerase and exonuclease active sites of bacteriophage ø29 DNA polymerase. *J Mol Biol*. 1999; 292(1): 39-51. doi: 10.1006/jmbi.1999.3052
14. Dean FB, Neison JR, Giesler TL, Lasken RS. Rapid amplification of plasmid and phage DNA using Phi29 DNA polymerase and multiply primed rolling circle amplification. *Genome Res*. 2001; 11(6): 1095-1099. doi: 10.1101/gr.180501
15. Lo AC, Feldman SR. Polymerase chain reaction: basic concepts and clinical applications in dermatology. *J Am Acad Dermatol*. 1994; 30(2 Pt 1): 250-260. doi: 10.1016/S0190-9622(94)70025-7
16. Little MC, Andrews J, Moore R, Bustos S, Jones L, Embres C, et al. Strand displacement amplification and homogeneous real-time detection incorporated in a second-generation DNA probe system, BDProbeTecET. *Clin Chem*. 1999; 45(6): 777-784.
17. Schwaiger M, Cassinotti P. Development of a quantitative real-time RT-PCR assay with internal control for the laboratory detection of tick borne encephalitis virus (TBEV) RNA. *J Clin Virol*. 2003; 27(2): 136-145. doi: 10.1016/S1386-6532(02)00168-3
18. Yekimov AN, Shipulin GA, Bochkarev YeG, Ryumin DV. *Real-Time PCR*. Moscow: Tsentral'nyy nauchnyy institut epidemiologii Rossiyskoy Federatsii; 2004. URL: <http://www.interlabservice.ru/catalog/faq/?id=3422>. (In Russ.)
19. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real-time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996; 6(10): 986-994. doi: 10.1101/gr.6.10.986
20. Khasnatinov MA, Bolotova NA, Milovidov KS, Kondratov IG, Danchinova GA. Replication of RNA of tick-borne encephalitis virus in new transferable cell lines of the natural host Apodemus peninsulæ. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2018; 33(1): 49-54. doi: 10.3103/S0891416818010068. (In Russ.)
21. Khasnatinov MA, Danchinova GA, Zlobin VI, Lyapunov AV, Arbatskaya EV, Chaporgina EA, et al. Tick-borne encephalitis virus in Mongolia. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*. 2012; 4: 9-12. (In Russ.)
22. Chung CT, Niemela SI, Miller RH. One-step preparation of competent *Escherichia coli*: transformation and storage of bacterial cells in the same solution. *PNAS*. 1998; 86(7): 2172-2175. doi: 10.1073/pnas.86.7.2172
23. Walpole RE, Myers RH, Myers SL, Ye K. *Probability & Statistics for Engineers & Scientists, 8th ed.* Upper Saddle River: Pearson Education, Inc.; 2007.

Сведения об авторах

- Ляпунова Наталья Андреевна** – младший научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nataly2193@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6039-0854>
- Хаснatinov Максим Анатольевич** – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: khasnatinov@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8441-3640>
- Данчинова Галина Анатольевна** – доктор биологических наук, руководитель лаборатории трансмиссивных инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: dan-chin@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6705-3070>

Information about the authors

- Natalya A. Liapunova** – Junior Research Officer at the Laboratory of Arthropod-Borne Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nataly2193@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6039-0854>
- Maxim A. Khasnatinov** – Cand. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Arthropod-Borne Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: khasnatinov@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8441-3640>
- Galina A. Danchinova** – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Arthropod-Borne Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: dan-chin@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-6705-3070>

Статья получена: 07.08.2019. Статья принята: 12.09.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 07.08.2019. Accepted: 12.09.2019. Published: 26.10.2019.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ EPIDEMIOLOGY

DOI 10.29413/ABS.2019-4.5.19

Микробиологический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за гнойно-септическими инфекциями в детском многопрофильном стационаре

Носкова О.А.^{1,2}, Агапова Е.Д.¹, Батурина Е.А.¹, Гвак Г.В.^{1,3}

¹ ГБУЗ «Иркутская государственная областная детская клиническая больница» (664022, г. Иркутск, бульвар Гагарина, 4, Россия); ² ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия); ³ Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования (664079, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Носкова Ольга Александровна, e-mail: noskovaepid@yandex.ru

Резюме

Изучение эпидемиологии генерализованных гнойно-септических инфекций (ГСИ) исключительно важно для клинической практики, адекватной организации, планирования и финансирования системы здравоохранения. Проблема септических состояний глобальна и выражается в значительной частоте их проявлений, высокой смертности и существенными экономическими затратами, связанными с лечением больных.

Цель исследования – изучение эпидемиологических проявлений, этиологической структуры генерализованных гнойно-септических инфекций в детском многопрофильном стационаре.

Материалы и методы. Проведён анализ 85 карт стационарного больного с диагнозом: сепсис, госпитализированных в детский многопрофильный стационар регионального уровня (г. Иркутск), за период 2013–2018 гг.

Результаты и обсуждение. ГСИ в структуре заболеваемости детского многопрофильного стационара составляют в среднем 1,3 %. Наиболее поражаемыми возрастными группами являются дети до года (23,5 %) и от года до двух лет (29,4 %). За изучаемый период от пациентов с ГСИ было изолировано 572 бактериальные и грибковые культуры, представленными 19 видами микроорганизмов, играющими ведущую роль в формировании микробной экологии стационара. В структуре микрофлоры ГСИ грамотрицательные микроорганизмы встречаются в 49,8 % случаев, грампозитивные микрофлоры – в 30,1 %, на грибы приходится пятая часть всех позитивных находок. Микробные ассоциации обнаружены в 40,8 % проб. Из крови, мокроты и брюшной полости чаще выделяют *A. baumannii* и *P. aeruginosa*, из ран наиболее частыми патогенами выступают *S. aureus* и *A. baumannii*. Наибольшее число энтерококков выделено из мочи.

Выходы. Основной группой риска возникновения сепсиса и летальности от него являются дети до двух лет. Этиологическим фактором развития нозокомиальных ГСИ в большинстве случаев выступают грамотрицательные микроорганизмы – *A. baumannii* (39,9 %), *P. aeruginosa* (20,7 %), *K. pneumoniae* (23,1 %). Вместе с тем, в последние годы грибы приобретают всё большее значение в этиологии септических состояний, преимущественно *C. albicans* (67,9 %).

Ключевые слова: эпидемиология; микроорганизмы; сепсис; инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи; дети

Для цитирования: Носкова О.А., Агапова Е.Д., Батурина Е.А., Гвак Г.В. Микробиологический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за гнойно-септическими инфекциями в детском многопрофильном стационаре. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 122–126. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.19

Microbiological Monitoring in the System of Epidemiological Surveillance of Purulent-Septic Infections in a Multidisciplinary Hospital

Noskova O.A.^{1,2}, Agapova E.D.¹, Baturina E.A.¹, Gvak G.V.^{1,3}

¹ Irkutsk State Regional Children's Clinical Hospital (Gagarina blvd 4, Irkutsk 664022, Russian Federation); ² Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation); ³ Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education – Branch 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

The study of the epidemiology of generalized purulent-septic infections (GPSI) is extremely important for clinical practice, adequate organization, planning and financing of the health system.

The purpose of the research was to study epidemiological manifestations and etiological structure of sepsis in a multidisciplinary hospital for children.

Materials and methods. An analysis of cases of 85 patients with a diagnosis of sepsis hospitalized in a multidisciplinary hospital at the regional level (Irkutsk) for the period 2013–2018 was carried out.

Results and discussion. The most affected age groups are children under one year old (23.5 %) and from one year to two years (29.4 %). During the study period, 572 bacterial and fungal cultures, represented by 19 types of microorganisms, playing a leading role in the formation of the microbial ecology of the hospital, were isolated from patients with GPSI. In the structure of the GPSI microflora, gram-negative microorganisms are found in 49.8 % of cases, gram-positive microbiota – in 30.1 %, fungi account for one fifth of all positive findings. *A. baumannii* and *P. aeruginosa* were sown more often from blood, sputum and abdominal cavity, and *S. aureus* and *A. baumannii* were the most frequent pathogens from wounds. The largest number of enterococci is isolated from urine.

Conclusions. The etiological factor in the development of nosocomial GPSI in most cases is gram-negative microorganisms – *A. baumanii* (39.9 %), *P. aeruginosa* (20.7 %), *K. pneumoniae* (23.1 %). At the same time, in recent years, fungi have become increasingly important in the etiology of septic conditions.

Key words: epidemiology; microorganisms; sepsis; infections associated with medical care; children.

For citation: Noskova O.A., Agapova E.D., Baturina E.A., Gvak G.V. Microbiological Monitoring in the System of Epidemiological Surveillance of Purulent-Septic Infections in a Multidisciplinary Hospital. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 122-126. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.19

ВВЕДЕНИЕ

Изучение эпидемиологии генерализованных гнойно-септических инфекций (ГСИ) исключительно важно для клинической практики, адекватной организации, планирования и финансирования системы здравоохранения. Проблема септических состояний глобальна и выражается в значительной частоте их проявлений, высокой смертности и существенными экономическими затратами, связанными с лечением больных. По данным Всемирной организации здравоохранения, в мире ежегодно диагностируется порядка 20–30 миллионов случаев генерализованных гнойно-септических инфекций [1]. В последние годы отмечается устойчивый рост регистрируемого сепсиса в индустриально развитых странах. Однако обобщенные данные о распространенности этого синдрома в литературе отсутствуют. По данным российских авторов в стране в среднем у 10–15 % госпитализированных пациентов течение основного заболевания осложняется присоединением инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), увеличивая продолжительность пребывания в стационаре на 7–10%, а риск летального исхода увеличивается в 5–7 раз [2]. К группам высокого риска развития сепсиса в педиатрии относятся: онкологические больные, дети с пороками развития, недоношенностью, врожденными иммунодефицитными состояниями, хромосомными заболеваниями [3,4,5].

Этиологическим фактором при сепсисе могут выступать различные микроорганизмы – бактерии, вирусы, грибы, а также паразиты [6]. В последние десятилетия, по мнению ряда исследователей, возрастает роль грампозитивных микроорганизмов, преимущественно стафилококков – *Staphylococcus epidermidis* и метициллин-резистентных *Staphylococcus aureus* (MRSA) [7, 8, 9]. Многие зарубежные авторы также указывают на преимущественное влияние грамотрицательной флоры на тяжесть течения и летальность от сепсиса. Вместе с тем, в настоящее время отсутствуют доказательные данные о превалировании той или иной группы бактерий, но отмечаются их существенные различия в структуре внебольничного и нозокомиального сепсиса [10, 11, 12, 13]. Изучение структуры и динамики антибиотикорезистентности микроорганизмов, выделяемых от септических больных, является важной задачей для определения адекватной антибактериальной терапии [14].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение эпидемиологических проявлений, этиологической структуры генерализованных гнойно-септических инфекций в детском многопрофильном стационаре.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнялись на базе детской клинической больницы регионального уровня (г. Иркутск). Использованы описательный, оценочный и аналитический методические приемы. Проведен анализ 85 карт стационарного больного с ГСИ за период 2013–2018 гг. Бактериологическому исследованию подвергались кровь, мокрота, моча, раневое содержимое, жидкость брюшной полости, смывы с трахеобронхиального дерева, ликвор. Исследовано 783 пробы биологического материала. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного пакета Microsoft Office Excel. Различия статистических показателей считались значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Генерализованные гнойно-септические инфекции в структуре заболеваемости детского многопрофильного стационара составляют в среднем 1,3 %. Наиболее поражаемыми возрастными группами являются дети до года (23,5 %) и от года до двух лет (29,4 %), летальность в данных группах составила 31,3 и 28,1 % соответственно. За изучаемый период от пациентов с ГСИ было изолировано 572 бактериальные и грибковые культуры, представленные 19 видами микроорганизмов, играющими ведущую роль в формировании микробной экологии стационара. Удельный вес положительных проб составил 62,2 %. Микробные ассоциации встречались в 40,8 % проб.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ ДАННЫХ

Своевременное выявление пациентов с генерализацией инфекционного процесса имеет крайне важное значение для определения тактики лечебно-диагностических мероприятий, влияет на длительность и исход заболевания. Регистрация и учёт этих осложнений позволяет выявить особенности эпидемического процесса в лечебно-профилактической организации и определить тактику профилактических противоэпидемических мероприятий.

В детском многопрофильном стационаре отмечен рост заболеваемости ГГСИ с 0,9 на 1000 пролеченных в 2013 г. до 1,6 – в 2018 г., что обусловлено улучшением регистрации инфекционных осложнений и внедрением критериев диагностики сепсиса. В структуре основного заболевания, преобладают пациенты с гемобластозами и злокачественными новообразованиями (33,8 %), имеющие значительный риск развития инфекционных осложнений на фоне выраженного иммунодефицита вследствие применения иммуносупрессоров, а также проводимого в ряде случаев хирургического лечения. Заболевания костно-мышечной системы отмечаются у 15 пациентов (18,8 %), органов дыхания – у 13 (16,3 %). Нозокомиальный сепсис регистрируется в 42,4 % случаев и характеризуется высокой летальностью (61,9 %) которая в 4,4 раза выше, чем при внебольничных ГГСИ.

Анализ результатов микробиологического мониторинга у пациентов детского многопрофильного стационара показал широкое разнообразие микробных агентов. Ведущее место в структуре микрофлоры гнойно-септических заболеваний занимают грамотрицательные микроорганизмы – 49,8 %, наибольшую значимость из которых представляют *A. baumannii* (39,9%), *P. aeruginosa* (20,7%), *K. pneumoniae* (23,1%) (табл. 1).

Как следует из приведённых в табл. 1 данных, грамположительные микробиоты встречались в 30,1 % случаев, причём, большая часть (60,3 %) из них представлена энтерококками, на стафилококки пришлось 38,1 %, преимущественно *S. aureus*. Здесь следует отметить, что энтерококки долгое время не рассматривались в роли этиологического фактора гнойно-воспалительных

заболеваний, поскольку являются представителями нормального биоценоза человека [15]. Однако в последние годы их роль заметно выросла и всё чаще с ними связывают возникновение инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, как в роли самостоятельного этиологического агента, так и в ассоциациях с другими микроорганизмами, вирулентность которых они способны усиливать. Кроме того, по мнению ряда авторов, основные представители энтерококков (*E. faecalis* и *E. faecium*) активно продуцируют биоплёнки и способны колонизировать внутрисосудистые, мочеточниковые катетеры и другие устройства [16].

В наших исследованиях на грибы приходилась пятая часть всех позитивных находок (20,1 %), преимущественно представленных *C. albicans* (67,9 %). Необходимо отметить, что чаще грибы выявлялись в ассоциации с другими бактериями. Как видно из рис. 1, анализ видовой структуры микрофлоры, выделенной у пациентов с гнойно-септическими инфекциями детского стационара, выявил возрастание роли грибов с 5,4 % в 2013 г. до 26,9 % в 2018 г. ($p < 0,05$). Динамика обнаружения грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов не выявила статистически значимых изменений ($p > 0,05$).

При изучении микробиологических данных клинически значимых локусов (кровь, мокрота, моча, раневое содержимое, жидкость брюшной полости, смывы с трахеобронхиального дерева, ликвор) видно, что наибольшая частота выделения микроорганизмов приходилась на кровь (32,3 %), мокроту (27,1 %) и мочу (19,3 %) (рис. 2).

Спектр и частота встречаемости микроорганизмов, выделенных от пациентов с ГГСИ
The spectrum and frequency of occurrence of microorganisms, isolated from patients with GPSI

Таблица 1

Table 1

№ п/п	Микроорганизмы		Абс.	%
	Семейство	Таксономическая принадлежность		
1	Грамположительные кокки ($n = 126$), в т. ч.		126	30,1
1.1	<i>Staphylococcaceae</i> , в т. ч.		48	38,1
1.1.1		<i>S. aureus</i>	34	70,8
1.2	<i>Enterococcaceae</i> , в т. ч.		76	60,3
1.2.1		<i>E. faecium</i>	42	55,3
1.2.2		<i>E. faecalis</i>	34	44,7
2	Грамотрицательные бактерии ($n = 208$), в т. ч.		208	49,8
2.1	<i>Enterobacteriaceae</i> , в т. ч.			
2.1.1		<i>K. pneumoniae</i>	48	23,1
2.2	<i>Pseudomonadaceae</i> , в т. ч.			
2.2.1		<i>P. aeruginosa</i>	43	20,7
2.3	<i>Moraxellaceae</i> , в т. ч.			
2.3.1		<i>A. baumannii</i>	83	39,9
3	Грибы ($n = 84$)		84	20,1
3.1	<i>Saccharomycetaceae</i> , в т. ч.			
3.1.1		<i>C. albicans</i>	57	67,9
	Итого		418	100,0



Рис. 1. Этиологическая структура микроорганизмов, выделенных в динамике (2013–2018 гг.) от пациентов с ГСИ.

Fig. 1. The etiological structure of microorganisms isolated in dynamics (2013–2018) from patients with GPSI.



Рис. 2. Частота выделения микроорганизмов в зависимости от вида локуса (%).

Fig. 2. The frequency of isolation of microorganisms depending on the type of locus (%).

Из крови, мокроты и брюшной полости чаще выделяли *A. baumannii* (30,6; 38,5 и 40,0 % соответственно) и *P. aeruginosa* (11,3; 19,3; 20,0 %), из ран наиболее частыми патогенами выступали *S. aureus* (29,2%) и *A. baumannii* (25,0 %). Наибольшее число энтерококков выделено из мочи (суммарно 51,3 %). Энтерококки при бактериемии чаще выделялись в составе ассоциаций (10 случаев, 12,3 % от всех положительных проб), чем как самостоятельный микробный патоген (4 случая, 4,9 %).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведённые исследования показали, что основной группой риска возникновения сепсиса и летальности от него в детском многопрофильном стационаре являются дети до двух лет. ГСИ чаще развиваются у пациентов с гемобластозами и злокачественными новообразованиями (33,8%). Этиологическим фактором развития нозокомиальных генерализованных гнойно-

септических инфекций в большинстве случаев выступают грамотрицательные микроорганизмы, преимущественно *A. baumannii* (39,9 %), *P. aeruginosa* (20,7 %), *K. pneumoniae* (23,1 %). Вместе с тем, в последние годы грибы приобретают всё большее значение в этиологии септических состояний.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Patel GP, Gurka DP, Balk RA. New treatment strategies for severe sepsis and septic shock. *Curr Opin Crit Care*. 2003; 9(5): 390-396. doi: 10.1097/00075198-200310000-00009
- Асланов Б.И., Зуева Л.П., Любимова А.В., Колосовская Е.Н., Долгий А.А., Осьмирко Т.В. Эпидемиологическое наблюдение за инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи. Федеральные клинические рекомендации. М.; 2014.
- Брегель Л.В., Павленок С.С., Позякина С.С. Сепсис в педиатрической практике: учебное пособие. Иркутск: РИО ИГИУВа; 2008.
- Носкова О.А., Анганова Е.В., Гвак Г.В., Савилов Е.Д. Сепсис: вопросы терминологии, классификации и эпидемиологии (обзор). *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2018; 17(3): 80-84. doi: 10.31631/2073-3046-2018-17-3-80-84
- Kolesnikova L, Dzyatkovskaya E, Rychkova L, Polyakov V. New approaches to identifying children of psychosomatic disorders risk group. *Procedia – Social and Behavioral Sciences*. 2015; 214: 882-889. doi: 10.1016/j.sbspro.2015.11.745
- Abad CL, Kumar A, Safdar N. Antimicrobial therapy of sepsis and septic shock – when are two drugs better than one? *Crit Care Clin*. 2011; 27(2): e1-e27. doi: 10.1016/j.ccc.2010.12.001
- Chen CJ, Huang YC, Chiu CH, Su LH, Lin TY. Clinical features and genotyping analysis of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in Taiwanese children. *Pediatr Infect Dis J*. 2005; 24(1): 40-45. doi: 10.1097/01.inf.0000148926.11227.1c
- Zaoutis TE, Toltzis P, Chu J, Abrams T, Dul M, Kim J, et al. Clinical and molecular epidemiology of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections among children with risk factors for health care-associated infection: 2001–2003. *Pediatr Infect Dis J*. 2006; 25(4): 343-348. doi: 10.1097/01.inf.0000207403.67197.cc
- Григорьев Е.Г., Коган А.С. (ред.) Госпитальная инфекция в многопрофильной хирургической клинике. Новосибирск: Наука; 2003.
- Грувер К.П., Белобородов В.Б. Клиническое значение бактериемий у больных сепсисом. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2011; 13(1): 90-97.
- Руднов В.А. Сепсис. Современный взгляд на проблему. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2000; 2(1): 2.
- Савельев В.С., Гельфанд Б.Р. (ред.) Сепсис: классификация, клинико-диагностическая концепция и лечение. Москва; МИА: 2010.
- Носкова О.А., Анганова Е.В., Гвак Г.В., Савилов Е.Д. Эпидемиологические аспекты сепсиса. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018; (5): 121-126. doi: 10.36233/0372-9311-2018-5-121-126
- Гребенюк В.В., Юсан Н.В., Чубенко Г.И. Видовой состав патогенной микрофлоры у пациентов с абдоминальным сепсисом. Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. 2010; 5(4): 76-79.
- Акимкин В.Г. Профилактика внутрибольничных инфекций в ЛПУ Министерства обороны Российской Федерации. Военно-медицинский журнал. 2007; 328(9): 51-56.
- Mohamed JA, Huang DB. Biofilm formation by enterococci. *J Med Microbiol*. 2007; 56(12): 1581-1588. doi: 10.1099/jmm.0.47331-0

REFERENCES

1. Patel GP, Gurka DP, Balk RA. New treatment strategies for severe sepsis and septic shock. *Curr Opin Crit Care*. 2003; 9(5): 390-396. doi: 10.1097/00075198-200310000-00009
2. Aslanov BI, Zuyeva LP, Lyubimova AV, Kolosovskaya EN, Dolgii AA, Osmirko TV. *Epidemiological surveillance of infections associated with the provision of medical care*. Federal clinical guidelines. Moscow; 2014. (In Russ.)
3. Bregel LV, Pavlenok SS, Pozyakina SS. *Sepsis in pediatric practice: textbook*. Irkutsk: RIO IGIUVa; 2008. (In Russ.)
4. Noskova OA, Anganova EV, Gvak GV, Savilov ED. Sepsis: issues of terminology, classification and epidemiology. *Epidemiology and vaccinal prevention*. 2018; 17(3): 80-84. (In Russ.) doi: 10.31631/2073-3046-2018-17-3-80-84
5. Kolesnikova L, Dzyatkovskaya E, Rychkova L, Polyakov V. New approaches to identifying children of psychosomatic disorders risk group. *Procedia – Social and Behavioral Sciences*. 2015; 214: 882-889. doi: 10.1016/j.sbspro.2015.11.745
6. Abad CL, Kumar A, Safdar N. Antimicrobial therapy of sepsis and septic shock – when are two drugs better than one? *Crit Care Clin*. 2011; 27(2): e1-e27. doi: 10.1016/j.ccc.2010.12.001
7. Chen CJ, Huang YC, Chiu CH, Su LH, Lin TY. Clinical features and genotyping analysis of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in Taiwanese children. *Pediatr Infect Dis J*. 2005; 24(1): 40-45. doi: 10.1097/01.inf.0000148926.11227.1c
8. Zaoutis TE, Toltzis P, Chu J, Abrams T, Dul M, Kim J, et al. Clinical and molecular epidemiology of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections among children with risk factors for health care-associated infection: 2001–2003. *Pediatr Infect Dis J*. 2006; 25(4): 343-348. doi: 10.1097/01.inf.0000207403.67197.cc
9. Griforiev EG, Kogan AS (eds). *Hospital infection in a multidisciplinary surgical clinic*. Novosibirsk: Nauka; 2003. (In Russ.)
10. Gruver KP, Beloborodov VB. Clinical relevance of bacteraemia in patients with sepsis. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2011; 13(1): 90-97. (In Russ.)
11. Rudnov VA. Sepsis. Modern view of the problem. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2000; 2(1): 2. (In Russ.)
12. Saveliev VS, Gelfand BR (eds.) *Sepsis: classification, clinical diagnostic concept and treatment*. Moscow: MIA; 2010. (In Russ.)
13. Noskova OA, Anganova EV, Gvak GV, Savilov ED. Epidemiological aspects of sepsis. *Journal of microbiology epidemiology immunobiology*. 2018; (5): 121-126. (In Russ.) doi: 10.36233/0372-9311-2018-5-121-126
14. Grebenyuk VV, Yusan NV, Chubenko GI. Species composition of pathogenic microflora in patients with abdominal sepsis. *Bulletin of Pirogov National Medical and Surgical Center*. 2010; 5(4): 76-79. (In Russ.)
15. Akimkin VG. Prevention of nosocomial infections in hospitals of the Ministry of Defense of the Russian Federation. *Voenno-meditsinskiy zhurnal*. 2007; 328 (9): 51-56.
16. Mohamed JA, Huang DB. Biofilm formation by enterococci. *J Med Microbiol*. 2007; 56(12): 1581-1588. doi: 10.1099/jmm.0.47331-0

Сведения об авторах

Носкова Ольга Александровна – заместитель главного врача по санитарно-эпидемиологической работе, ГБУЗ «Иркутская государственная областная детская клиническая больница»; младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: noskovaepid@yandex.ru

Агапова Елена Дмитриевна – кандидат медицинских наук, заведующая клинико-диагностической лабораторией, ГБУЗ «Иркутская государственная областная детская клиническая больница»

Батурина Елена Алексеевна – врач-бактериолог клинико-диагностической лаборатории, ГБУЗ «Иркутская государственная областная детская клиническая больница»

Гвак Геннадий Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, главный врач, ГБУЗ «Иркутская государственная областная детская клиническая больница»; доцент кафедры педиатрии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», e-mail: igodkb@igodkb.ru

Information about the authors

Olga A. Noskova – Deputy Chief Physician for Sanitary and Epidemiological Work, Irkutsk State Regional Children's Clinical Hospital; Junior Research Officer of Laboratory of Epidemiologically and Socially Significant Infections, Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: noskovaepid@yandex.ru

Elena D. Agapova – Cand. Sc. (Med.), Head of the Clinical Diagnostic Laboratory, Irkutsk State Regional Children's Clinical Hospital

Elena A. Baturina – Bacteriologist of the Clinical Diagnostic Laboratory, Irkutsk State Regional Children's Clinical Hospital

Gennady V. Gvak – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head Physician, Irkutsk State Regional Children's Clinical Hospital; Associate Professor of the Department of Pediatrics, Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education – Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: igodkb@igodkb.ru

Статья получена: 02.09.2019. Статья принята: 02.10.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 02.09.2019. Accepted: 02.10.2019. Published: 26.10.2019.

Сибирская язва в Восточно-Казахстанской области

Лухнова Л.Ю.¹, Ерубаев Т.К.¹, Избанова У.А.¹, Мека-Меченко Т.В.¹, Сансызбаев Е.Б.¹, Кирьянова Ю.С.², Илюбаев Х.Ж.², Сущих В.Ю.¹, Садовская В.П.¹, Шевцов А.Б.³

¹ Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева МЗ РК (050054, г. Алматы, ул. Капальская, 14, Казахстан); ² Департамент охраны общественного здоровья по ВКО МЗ РК (070003, г. Усть-Каменогорск, пр. Независимости, 17, Казахстан); ³ Национальный центр биотехнологии Комитета науки МОН РК (010000, г. Астана, ул. Валиханова, 13/1, Казахстан)

Автор, ответственный за переписку: Лухнова Лариса Юрьевна, e-mail: larissa.lukhnova@mail.ru

Резюме

Почти ежегодно в Казахстане регистрируют случаи заболевания животных и людей сибирской язвой. Показатель заболеваемости людей сибирской язвой в период с 2000 по 2018 г. составлял от 0,01 до 0,24 на 100 тысяч человек. На территории Восточно-Казахстанской области (ВКО) уровень заболеваемости выше, чем по республике.

Цель работы: ретроспективный анализ вспышек сибирской язвы в ВКО с 2000 по 2018 г.

Методы: ретроспективный анализ с использованием статистических, кадастровых данных, архивных фондов, результатов участия при расследовании вспышек инфекции.

Результаты. В ВКО с 1938 г. регистрируют случаи заболевания животных и людей сибирской язвой. Зарождение людей происходит при убое животных. В Жарминском, Урджаларском, Аягозском районах больше всего почвенных очагов сибирской язвы. В 67 % случаев вспышки сибирской язвы зарегистрированы на территории этих районов.

Заключение. Относительный показатель заболеваемости людей сибирской язвой в ВКО составляет от 0,07 до 0,27 на 100 тысяч человек, с 2001 г. выше, чем республиканский показатель.

В ВКО с 1997 по 2018 г. заболели сибирской язвой 37 человек. Форма заболевания – кожная, в 8,1 % – вторичный сепсис. У остальных больных заболевания протекали в лёгкой форме (70,3 %), окончились выздоровлением. Источником заражения людей служит, в основном, крупный рогатый скот. Выделенные штаммы *B. anthracis* имеют типичные свойства, входят в кластер A1a, A3в (MLVA-8). Штаммы, выделенные в 2016 г., имеют сходство со штаммами, выделенными на территории Алматинской области (MLVA-25). Группируются с рядом европейских, азиатских и африканских штаммов из Франции, Германии, Италии, Таджикистана, Пакистана, Кореи и Намибии. Данная группа представлена штаммами, относящимися к линии A сублиний A.Br 008/009, A.Br.Volum и A.Br.WNA по canSNP.

Наличие значительного количества почвенных очагов сибирской язвы на территории ВКО, не в полном объёме выполнение ветеринарно-санитарных профилактических мероприятий приводит к обострению ситуации по сибирской язве.

Ключевые слова: сибирская язва, штаммы, риск заражения, индекс эпизоотичности, почвенные очаги, заболеваемость

Для цитирования: Лухнова Л.Ю., Ерубаев Т.К., Избанова У.А., Мека-Меченко Т.В., Сансызбаев Е.Б., Кирьянова Ю.С., Илюбаев Х.Ж., Сущих В.Ю., Садовская В.П., Шевцов А.Б. Сибирская язва в Восточно-Казахстанской области. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 127-134. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.20

Anthrax in the East Kazakhstan Region

Lukhnova L.Yu.¹, Erubaev T.K.¹, Izbanova U.A.¹, Meka-Mechenko T.V.¹, Sansyzbaev E.B.¹, Kiryanova Yu.S.², Ilyubaev Kh.Zh.², Sushchikh V.Yu.¹, Sadovskaya V.P.¹, Shevtsov A.B.³

¹ M. Aykimbayev's Kazakh Scientific Centre for Quarantine and Zoonotic Diseases (Kapalskaya str., 14, Almaty 050054, Kazakhstan);

² Department of Public Health Protection in the East Kazakhstan Region, Ministry of Health of Republic of Kazakhstan

(Nezavisimosti av. 17, Ust-Kamenogorsk 070003, Kazakhstan); ³ National Center for Biotechnology of the Committee of Science (Valikhanov str. 13/1, Astana 010000, Kazakhstan)

Corresponding author: Larisa Yu. Lukhnova, e-mail: larissa.lukhnova@mail.ru

Abstract

Almost every year in Kazakhstan, cases of diseases of animals and people with anthrax are recorded. The incidence rate of people with anthrax in the period from 2000 to 2018 ranged from 0.01 to 0.24 per 100 thousand people. In the territory of the East Kazakhstan region, the incidence rate is higher than in the republic.

Objective: a retrospective analysis of anthrax outbreaks in the East Kazakhstan region from 2000 to 2018.

Methods: a retrospective analysis using statistical, cadastral data, archival funds, the results of participation in the investigation of outbreaks of infection.

Results. Since 1938, cases of animal and human disease of anthrax have been recorded in East Kazakhstan. Infection of humans occurs during the slaughter of animals. In Zharma, Urjar, and Ayagozskiy areas most of all are anthrax foci of soil. In 67 % of cases, outbreaks of anthrax were recorded in these areas.

Conclusion. The relative incidence rate of anthrax in people in East Kazakhstan is from 0.07 to 0.27, since 2001 it is higher than the republican indicator.

In the East Kazakhstan region from 1997 to 2018, 37 people fell ill with anthrax. The form of the disease is skin, in 8.1 % secondary sepsis. In the remaining patients, the diseases were mild (70.3 %), ended in recovery. The source of human infection is mainly cattle. The isolated strains of *B. anthracis* have typical properties, they are included in cluster A1a, A3b (MLVA-8). The strains isolated in 2016 are similar to the strains isolated in the Almaty region (MLVA-25). Grouped with a number of European, Asian and African strains from France, Germany, Italy, Tajikistan, Pakistan, Korea and Namibia. The presence of a significant number of soil foci of anthrax in the territory of the East Kazakhstan region, not fully the implementation of veterinary and sanitary preventive measures leads to an exacerbation of the situation for anthrax.

Key words: anthrax, strains, risk of infection, epizootic index, soil foci, incidence

For citation: Lukhnova L.Yu., Erubaev T.K., Izbanova U.A., Meka-Mechenko T.V., Sansybaeva E.B., Kiryanova Yu.S., Ilyubaev Kh.Zh., Sushchikh V.Yu., Sadovskaya V.P., Shevtsov A.B. Anthrax in the East Kazakhstan Region. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 127-134. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.2

АКТУАЛЬНОСТЬ

Сибирская язва на протяжении столетий регистрировалась не менее чем в 200 странах мира, с заболеваемостью людей до 100 тысяч случаев в год. По данным ProMED в XXI веке сибирская язва сохраняет глобальный нозоареал. Регистрируемая в настоящее время заболеваемость животных и людей на уровне 900–1000 случаев выявляется в десятках стран не только афро-азиатского региона, но и на территориях Европы, Америки, Австралии, и в наиболее развитых странах – США, Канаде, Финляндии.

В Казахстане официально сибирскую язву регистрируют с 1935 г., в прошлом болезнь имела почти повсеместное распространение. В настоящее время болезнь не имеет широкого эпидемического и эпизоотического распространения, но риск возникновения вспышек сохраняется. Одна из причин такой ситуации – наличие почвенных очагов сибирской язвы. В настоящее время на территории республики зарегистрировано и паспортизировано 1778 стационарно неблагополучных пунктов, 2426 эпизоотических, 2249 почвенных очагов. Почвенные очаги сибирской язвы – скотомогильники, биотермические ямы и другие места захоронения трупов животных, павших от сибирской язвы.

Стационарно неблагополучные пункты имеются на всей территории Казахстана, но риск заражения животных возбудителем *Bacillus anthracis* разный. Нами определены три группы территорий эпизоотолого-эпидемиологического неблагополучия по сибирской язве: 1) выраженного неблагополучия – Западно-Казахстанская (ЗКО), Восточно-Казахстанская (ВКО), Туркестанская, Жамбылская, Алматинская области; 2) среднего неблагополучия – Костанайская, Карагандинская, Актюбинская, Акмолинская области; 3) относительного благополучия – Мангистауская, Северо-Казахстанская (СКО), Атырауская, Кызылординская, Павлодарская области [1].

На территориях с выраженным неблагополучием уровень осадков составляет от 250 до 350 мм в год, средняя температура июля составляет 18–28 °C (ЮКО – 35 °C). Очаги сибирской язвы расположены в зоне высотной поясности гор, где преобладают чернозёмы и каштановые почвы, благоприятные для сохранения возбудителя сибирской язвы. Территории среднего неблагополучия по сибирской язве отличаются высокой влажностью. Несмотря на достаточно высокое количество СНП, очагов, эпизоотическая ситуация по сибирской язве в настоящее время благополучная. Территории относительного благополучия по сибирской язве почвы неблагоприятны для сохранения возбудителя сибирской язвы. Большая часть занята песками, солончаками, серо-бурыми почвами.

Значительное число заболевших животных и людей отмечалось в период с 1960 по 1980 г. Затем до 1996 г. эпизоотическая и эпидемическая ситуация была относительно благополучной, заболевания сельскохозяйственных животных регистрировали приблизительно на одном уровне – от 15 до 20 случаев ежегодно. Резкое ухудшение эпидемической ситуации отмечено в 1997 г., когда в республике заболели сибирской язвой 66 человек, пало более 100 голов сельскохозяйственных животных.

И в настоящее время почти ежегодно на территории Казахстана регистрируют спорадические случаи заболевания людей. Относительный показатель заболеваемости людей сибирской язвой в 2000–2018 гг. составляет от 0,01 до 0,24 на 100 тысяч населения.

В период с 2000 по 2018 г. в 8 областях Казахстана на территории 22 районов в 25 стационарно неблагополучных пунктах, зарегистрировано 85 случаев заболевания сельскохозяйственных животных, 74 случая заболевания людей сибирской язвой. В Туркестанской, ЗКО, ВКО, Жамбылской областях зарегистрировано 92,3 % вспышек сибирской язвы от общего количества по Казахстану. В Акмолинской, Северо-Казахстанской, Костанайской, Мангистауской, Атырауской областях в течение многих лет сохраняется благополучная по сибирской язве обстановка. В 2015 г. эпизоотическая и эпидемическая обстановка была благополучной. В 2016 г. сибирская язва зарегистрирована в четырёх областях Казахстана – в Алматинской, Восточно-Казахстанской, Павлодарской и Карагандинской. В 2018 году случай заболевания человека сибирской язвой зарегистрирован в селе Мало-Нарымка Катон-Карагайского района.

Наличие очагов сибирской язвы на территории страны, способность возбудителя образовывать споры и длительно сохраняться в окружающей среде, в значительной мере животноводческая ориентация сельского хозяйства, урбанизация территории Казахстана являются основными причинами неблагополучия по сибирской язве, в результате чего имеют место спорадические случаи заболевания людей и сельскохозяйственных животных [2].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Ретроспективный анализ заболеваемости людей сибирской язвой в ВКО в период с 2000 по 2018 г. и оценка эпидемиологической ситуации на территории области в настоящее время.

МЕТОДЫ

Были использованы эпидемиологические, генетические, микробиологические методы [3, 4, 5]. Для анализа и оценки ситуации были использованы данные официаль-

ной статистической регистрации заболеваемости людей сибирской язвой в Республике Казахстан. Ретроспективный анализ эпидемиологической ситуации по сибирской язве проводился с использованием данных архивных фондов, результатов собственного участия в расследовании вспышек сибирской язвы, «Кадастра стационарно неблагополучных по сибирской язве населённых пунктов» (Астана, 2002 г.), «Кадастра почвенных очагов сибирской язвы на территории Республики Казахстан» (Алматы, 2017 г.). Для дифференциации территории Казахстана по степени риска заражения сибирской язвой был использован индекс эпизоотичности по Таршиш – обобщённый показатель неблагополучия, характеризующий напряжённость эпизоотологической и эпидемиологической ситуации и учитывающий как долю неблагополучных пунктов, так степень их активности.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Восточно-Казахстанская область (ВКО) была образована 20 февраля 1932 г., административный центр – г. Усть-Каменогорск. В систему административно-территориального устройства области входят 15 административных районов, 10 городов (4 областного значения, 6 – районного), 3 посёлка, 751 сельский населённый пункт, 244 сельских округа. ВКО граничит с тремя областями Казахстана (Павлодарская, Карагандинская, Алматинская), с одним регионом Китая и с двумя регионами России (Алтайский край, Республика Алтай).

Восточно-Казахстанская область расположена на территории выраженного неблагополучия, с высоким риском заражения возбудителем сибирской язвы (индекс эпизоотичности по Таршиш (и. э.) – 0,30), где почти ежегодно регистрируют случаи заболевания людей и животных. Первые случаи заболевания людей и животных в ВКО зарегистрированы в 1938 г. в Шемонаихинском районе, с. Рулиха и посёлке Усть-Таловка, когда были выявлена сибирская язва у сельскохозяйственных животных.

Нами определено, что в настоящее время (июнь, 2019 г.) на территории ВКО имеется 197 стационарно неблагополучных по сибирской язве населённых пунктов, в которых зарегистрированы эпизоотические и почвенные очаги сибирской язвы, где периодически регистрируют случаи сибирской язвы у людей и сельскохозяйственных животных (табл. 1).

С использованием индекса эпизоотичности (и. э.) по Таршиш, нами определено, что территория ВКО неравнозначна по степени риска заражения возбудителем сибирской язвы: максимальный риск заражения имеется в Кокпектинском, Аягозском, Абайском, Зайсанском, Уржарском районах (и. э 0,14–0,6); высокий риск заражения – в г. Семей, Жарминском, Курчумском, Уланском, Бескарагайском районах (и. э. 0,07–0,1); низкий риск заражения – на территории Бородулихинского, Глубоковского, Шемонаихинского, Тарбагатайского районов (и. э. 0,03–0,05). На территории условно-благополучной зоны расположены Катон-Карагайский, Зыряновский районы.

Сведения об стационарно неблагополучных пунктах (СНП) и очагах на территории ВКО, зарегистрированных в период с 1935 по 2018 г.

Table 1
Information about stationary dysfunctional stations and foci on the territory of East Kazakhstan region, registered in the period from 1935 to 2018

Район/город	СНП	Количество очагов		Количество заболевших	
		эпизоотических, эпидемических	почвенных	людей	животных
Абайский	9	10	4	-	191
Аягозский	15	23	15	4	513
Бескарагайский	7	10	15	–	116
Бородулихинский	14	16	13	–	64
Глубоковский	8	10	9	6	56
Жарминский	19	27	35	4	116
Зайсанский	9	16	16	25	254
Зыряновский	5	5	5	1	34
Катонкарагайский	6	8	8	14	10
Кокпектинский	17	24	22	1	189
Куршумский	14	20	21	15	433
г. Риддер	2	2	2		3
г. Семипалатинск	12	20	34	2	318
Тарбагатайский	8	9	10	43	60
Уланский	17	19	17	6	176
Уржарский	24	52	42	4	1666
Шемонаихинский	10	23	9	9	81
г. Усть-Каменогорск	1	2	1	3	6
Всего	197	296	278	137	4286

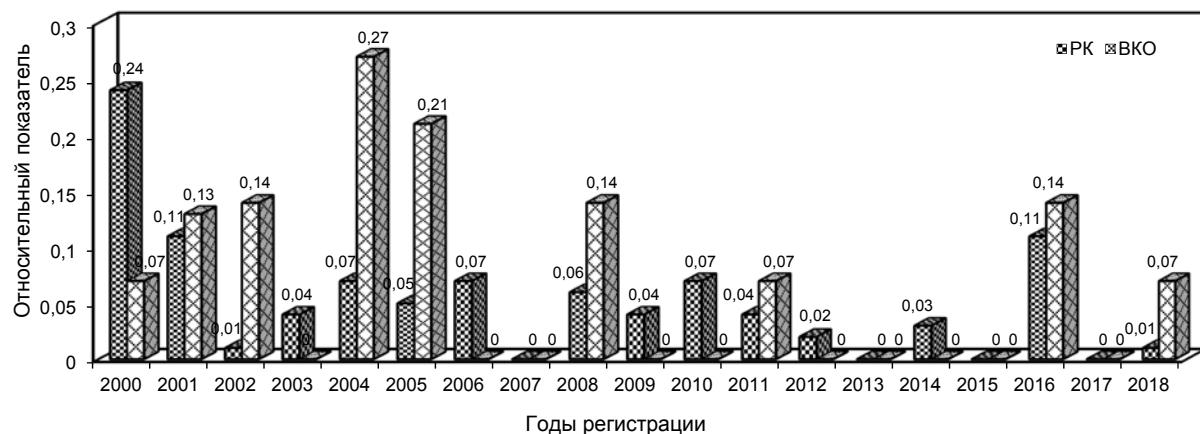


Рис. 1. Относительный показатель заболеваемости людей сибирской язвой в Республике Казахстан и Восточно-Казахстанской области с 2000 по 2018 г.

Fig. 1. Relative incidence rate of people suffering from anthrax in the Republic of Kazakhstan and East Kazakhstan region from 2000 to 2018.

С 1938 г. почти ежегодно или с интервалом в 3–4 года на территории области регистрируют случаи заболевания людей и сельскохозяйственных животных сибирской язвой [6]. Относительный показатель заболеваемости людей сибирской язвой в ВКО составляет 0,07– 0,27, с 2001 г. выше, чем республиканский показатель (рис. 1).

Обзор случаев заболевания людей сибирской язвой свидетельствует, что заражение людей происходит при тайном вынужденном убое больных сельскохозяйственных животных из частных хозяйств (табл. 2, рис. 2).

Нами были использованы архивные данные о вспышке сибирской язвы в ВКО в 1997 г., когда в период с 27 августа по 22 сентября заболели сибирской язвой 18 человек, пало 19 голов сельскохозяйственных животных. Из них 16 случаев заболевания выявлены в селе Акжар Тарбагатайского района, по одному случаю – в посёлке Красина (г. Усть-Каменогорск) и г. Серебрянске. У всех заболевших была диагностирована кожная карбункулёзная форма заболевания сибирской язвой, в одном случае (5,5 %), осложнённая вторичным сепсисом и летальным исходом. У 77,7 % заболевших людей сибиреязвенная инфекция протекала в лёгкой форме, с локализацией карбункулов на кистях рук и предплечье, у 16,6 % – диагностирована средняя тяжесть заболевания. Случаи сибирской язвы, протекавшие в лёгкой и средней тяжести формах, закончились выздоровлением.

В период с 2000 по 2002 г. на территории области были зарегистрированы зимние вспышки сибирской язвы. В 2000 г. случай сибирской язвы выявлен в Аягозском районе у жителя села Мынбулак, заболевание закончилось летальным исходом. Заражение произошло 31 ноября 2000 г., когда он участвовал в убое и разделке вынужденно забитой овцы из личного хозяйства. Смерть больного наступила в результате позднего обращения за медицинской помощью.

В 2001 г. зарегистрировано два случая заболевания людей сибирской язвой в селе Маканчи Урджауского района. Жители села участвовали в вынужденном убое коровы из частного хозяйства. У одного больного сибиреязвенный карбункул был на правом предплечье, у второго – на месте пореза между 1-м и 2-м пальцами левой кисти. Заболевания людей закончились выздоровлением.

Из карбункула больного выделен возбудитель сибирской язвы *B. anthracis*.

В 2002 г. в Аягозском и Урджауском районах зарегистрировано два случая заболевания людей сибирской язвой, заражение людей произошло при вынужденном убое и разделке коровы. В обоих случаях локализация сибиреязвенных карбункулов отмечалась на кистях рук. У больных отмечалась умеренная интоксикация, субфебрильная температура. Заболевания людей протекали в лёгкой форме и закончились выздоровлением. Из карбункулов больных и проб мяса выделен возбудитель сибирской язвы *B. anthracis* [7]. В Урджауском и Аягозском районах, в 1960-е годы проходила скотопрогонная трасса, и в прошлом часто регистрировали вспышки сибирской язвы среди животных.

В 2004 г. в сёлах Усть-Таловка (Шемонаихинский район) и Знаменка (г. Семей) при убое собственной коровы, больной сибирской язвой, заболели четыре человека. Заболевания протекали в кожной среднетяжёлой форме, закончились выздоровлением. Из карбункулов больных, проб мяса и места забоя животных выделен возбудитель сибирской язвы *B. anthracis*. У штаммов сибирской язвы, выделенных от людей, отсутствовала капсула.

В дальнейшем на территории ВКО сибирскую язву у людей и животных регистрировали каждые два-три года на территориях высокого риска заражения (Аягозский, Урджауский, Уланский, Жарминский районы).

Так, в июле 2005 г. в Жарминском районе, селе Ушибик заболели сибирской язвой три человека, которые 7 июля произвели вынужденный, тайный убой бычка из частного владения. Из карбункулов больных выделен возбудитель сибирской язвы *B. anthracis*.

В 2008 г. вновь зарегистрировано два случая сибирской язвы у людей в Уланском (с. Ново-Канайка) и Жарминском (п.г.т. Ауэзов) районах. Диагноз «сибирская язва» был поставлен на основании клинико-эпидемиологических данных и положительных результатов в ПЦР [8].

В 2011 г. зарегистрирован один случай заболевания сибирской язвой, заражение человека произошло в Урджауском районе, с. Маканчи, при тайном вынужденном убое коровы. Из карбункула больного выделен возбудитель сибирской язвы *B. anthracis*.

Вспышки сибирской язвы в ВКО в период с 1997 по 2018 г.

Table 2

Outbreaks of anthrax in the East Kazakhstan region in the period from 1997 to 2018

Дата заболевания людей	Район/город, село или аул (неблагополучные пункты)	Заболели/умерли	
		Люди	Сельскохозяйственные животные
с 27 августа по 22 сентября 1997 г.	Тарбагатайский район, с. Аюкар; п. Красина, г. Усть-Каменогорск; г. Серебрянск Зыряновского района	16/1 1 1	20/20 КРС
Декабрь, 2000 г.	Аягозский район, с. Мынбулак	1/1	1/1 МРС
Февраль, 2001 г.	Урдярский район, с. Маканчи	2/0	1/1 МРС
16.02.2002 г.	Аягозский, с. Нарын	1/0	1/1 КРС
25.02.2002 г.	Урдярский, с. Кайынды	1/0	1/1 КРС
24.06.2004 г.	г. Семей, с. Знаменка	2/0	1/1 лошадь
01.06.2004 г.	Шемонаихинский, с. Усть-Таловка	2/0	1/1 КРС
12.07.2005 г.	Жарминский, с. Уш-Биик	3/0	1/1 КРС
02.07.2008 г.	Жарминский, п.г.т. Ауэзов	1/0	1/1 КРС
21.08.2008 г.	Уланский, с. Новая Канайка	2/0	1/1 КРС
25.09.2011 г.	Урдярский, с. Маканчи	1/0	1/1 КРС
10.06.2016 г.	Жарминский, с. Калбатау	2/0	1/1 КРС
09.09 2018 г.	Катон-Карагайский район, с. Мало- Нарымка	1/1	2/2 КРС



Рис. 2. Локализация вспышек сибирской язвы в период с 1997 по 2018 г. на территории ВКО.

Fig. 2. Localization of anthrax outbreaks from 1997 to 2018 in the territory of East Kazakhstan region.

В 2016 г. в Жарминский районе, с. Калбатау зарегистрировано два случая заболевания людей сибирской язвой. Диагноз «Сибирская язва» подтверждён в ПЦР, выявлением генов *rag* и *cap*, характерных для возбудителя сибирской язвы, выделением штаммов *B. anthracis*. Заражение людей произошло при тайном вынужденном забое коровы. Вероятным источником инфицирования животного являлось пастбище, расположенное на участке Айган кезен в 35 км от села Калбатау. На данной территории расположен скотогильник, в котором в 1967, 1969 г. были захоронены тушки животных, павших от сибирской язвы. Возможно, из-за дождей произошёл размыт почвы, и, споры возбудителя оказались на поверхности [2]. Корова была инфицирована, несмотря на плановую вакцинацию в апреле. Последующее введение карантина и эпизоотические мероприятия исключили распространение инфекции.

В 2018 г. случай заболевания человека сибирской язвой зарегистрирован в селе Мало-Нарымка Катон-Ка-

рагайский район. В селе Мало-Нарымка Катон-Ка-

рагайского района. Как выяснилось, житель села 9 сентября участвовал в тайном вынужденном убое телёнка, где повредил руку осколком кости. Было позднее обращение за медицинской помощью (на седьмые сутки). Двадцать первого сентября, несмотря на лечение, больной скончался. Диагноз «сибирская язва» подтверждён в ПЦР и выделением штаммов *B. anthracis* из язвы больного и проб мяса забитого животного. Выявлен возможный источник заражения животного. Это почвенный очаг сибирской язвы (в 5 км от села Мало-Нарымка), где в 1972 году был захоронен труп животного, павшего от сибирской язвы, на территории которого выпасались животные.

Архивные материалы свидетельствуют о высокой заболеваемости животных сибирской язвой в ВКО в летне-осенний период. Но наибольшее количество заболевших животных зарегистрировано в августе-сентябре. Сезонность проявления сибирской язвы у сельскохозяйственных животных имеет выраженный характер. Большинство исследователей сходятся во мнении о том, что начало подъёма заболеваемости сельскохозяйственных животных сибирской язвой связано с заражением их на инфицированных в прошлом участках почвы, после выгона скота на пастбище. При пастьбе выдёргиваются стебли с корнями, где, по-видимому, находятся споры сибирской язвы. При этом образуется много пыли, вместе с которой животные заглатывают и вдыхают споры возбудителя болезни. Инфицирование людей, как правило, происходит при убое и разделке больных сибирской язвой животных. Фактически случаи сибирской язвы среди людей являются индикаторами состояния поголовья сельскохозяйственных животных.

Ретроспективный анализ вспышек заболеваний сибирской язвы, проведённый Б.Х. Шушаевым [9], говорит о том, что в ВКО возможно возникновение заболеваний животных и людей в зимнее время, что подтверждается зимними вспышками сибирской язвы в декабре 2000 г. и феврале 2002 г.

Зимние вспышки сибирской язвы среди сельскохозяйственных животных связаны с их круглогодичным выпасом на пастбищах. Заражение животных в это время года возможно при наличии обсеменённых сибириеязвенным микробом участков почв, ослаблении организма животного, напряжённости противосибириеязвенного иммунитета.

Зимой поверхностная часть растений покрывается ледяной коркой, которая ранит слизистые оболочки ротовой полости животного, и при наличии вышеперечисленных факторов происходит заражение животных сибирской язвой. Зима 2002 г. в Восточно-Казахстанской области была относительно тёплой и малоснежной. В Аягозском районе животных всю зиму выпасали на пастбищах. В совхозах Нарын, Айгыз, Кайынды произошло заражение животных сибирской язвой, при вынужденном забое которых заразились этой инфекцией два человека. В данном случае механизм заражения животных жарким летом и тёплой зимой имеет сходные черты.

Заражение животных зимой сибирской язвой может происходить и при условии контаминации возбудителем кормов, собранных с мест, где на поверхностных слоях почвы имелись споры сибирской язвы, что подтверждается заболеванием мелкого рогатого скота сибирской язвой в декабре 2000 г. в совхозе Мынбулак. Зима 2000 г. была снежной, животные, заразившиеся сибирской язвой,

находились на стойловом содержании. При разделке вынужденно забитого животного заболел сибирской язвой житель этого села. Заболевание закончилось летальным исходом.

Опасность для заражения сельскохозяйственных животных представляют почвенные очаги сибирской язвы. На территории ВКО выявлено 265 почвенных очагов сибирской язвы [8]. Почвенные очаги сибирской язвы – это старые места захоронения в почву трупов животных, павших от сибириеязвенной инфекции (без сжигания, со сжиганием), биотермические ямы, т. е. места для длительного захоронения трупов животных. Это территории с площадью в среднем 0,01 км², которые необходимо содержать в надлежащем ветеринарно-санитарном состоянии, которые имеют существенное значения в эпизоотологии сибирской язвы. В большинстве случаев содержание почвенных очагов не соответствует правилам [10]. Природные катаклизмы, такие как сильные дожди и затопления, могут привести к выносу спор возбудителя на поверхность и вспышкам заболеваний на территориях, где долгое время не регистрировался падёж животных, и населённый пункт считался относительно благополучным в отношении сибирской язвы. Особенно большую опасность в возникновении заболевания представляют старые, заброшенные почвенные очаги сибирской язвы, которые попадают в сферу хозяйственной деятельности человека, или подвергаются природным ландшафтным изменениям.

В Жарминском, Урджаарском, Аягозском районах больше всего почвенных очагов сибирской язвы. Эти же районы наиболее неблагополучные по сибирской язве. В 67 % случаев вспышки сибирской язвы от общего количества зарегистрированы на территории этих областей. Нами определено, что более чем в 90 % случаев на территории ВКО захоронения в почву были проведены до 1996 г., когда было разрешено захоронение в землю трупов животных, павших от сибирской язвы без сжигания [8].

Во время вспышек сибирской язвы в период с 2001 по 2018 г. было выделено 38 штаммов возбудителя сибирской язвы.

В 39 % случаев штаммы были выделены от людей (карбункулы, кровь), в 21 % – от животных, в 23 % случаев – с места убоя животных, в 16 % – с подстилки со стойла, шерсти и др. Выделенные штаммы имеют типичные культурально-морфологические свойства, в том числе типичную морфологию при окрашивании по Граму, специфическими флуоресцирующими сибириеязвенными иммуноглобулинами.

Штаммы *B. anthracis* формируют колонии в R-форме на плотных питательных средах и придонный рост с сохранением прозрачности среды в питательном бульоне, обладают способностью к спорообразованию. У штаммов отсутствует фосфатазная, лецитиназная, гемолитическая активность, штаммы обладают способностью к капсулобразованию *in vitro* и *in vivo*. Штаммы чувствительны к сибириеязвенному бактериофагу, широкому спектру антибиотиков, в ПЦР выявлены гены *rag* и *cap*.

У трёх штаммов сибирской язвы отсутствует капсула. Эти штаммы выделены в 2004 г. из крови больных сибирской язвой людей. Штаммы сибирской язвы по результатам MLVA-8 (мультилокусный анализ вариабельности числа тандемных повторов) входят в A1a, A3b кластеры [6].

Результаты исследования штаммов *B. anthracis*, выделенных в 2016 г. в ВКО и Алматинской области, показали высокую идентичность. Данные штаммы отличаются между собой по плазмидному гипервариабельному локусу pX01. Штаммы группируются с рядом европейских, азиатских и африканских штаммов из Франции, Германии, Италии, Таджикистана, Пакистана, Кореи и Намибии. Данная группа представлена штаммами, относящимися к линии A сублиний A.Br 008/009, A.Br.Volum и A.Br.WNA по canSNP.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённые ретроспективные исследования по сибирской язве в Восточно-Казахстанской области показали, что область расположена на территории выраженного неблагополучия, с высоким риском заражения возбудителем сибирской язвы (индекс эпизоотичности – 0,30), где почти ежегодно регистрируют случаи заболевания людей и животных. Относительный показатель заболеваемости людей сибирской язвой в ВКО составляет от 0,07 до 0,27 (с 2001 г. выше, чем республиканский показатель).

В ВКО период с 1997 по 2018 г. заболели сибирской язвой 37 человек. Форма заболевания – кожная, осложнённая у 3 человек (8,1 %) вторичным сепсисом, с летальным исходом. Летальный исход связан с поздним обращением за медицинской помощью. У остальных больных заболевания протекали, в основном, в лёгкой форме (70,3 %), в 21,6 % случаев – в среднетяжёлой, которые окончились выздоровлением.

С 2000 г. по настоящее время в ВКО с интервалом в 1–2 года (до 5 лет) регистрируют 1–3 случая заболевания людей сибирской язвой. Источником заражения людей служит, в основном, крупный рогатый скот, факторы передачи – мясо и мясное сырьё, обсеменённое возбудителем сибирской язвы.

Контактный механизм передачи возбудителя сибирской язвы людям реализуется в условиях несанкционированного вынужденного убоя, разделки туши забитых домашних животных из частных владений. Заражение животных зарегистрированы, в основном, в летне-осенне время при выпасе их на пастбищах.

Выделенные от больных людей, животных, мест убоя животных штаммы *B. anthracis* имеют типичные культурально-морфологические свойства, входят в кластер A1a, A3b (MLVA-8). Штаммы, выделенные в 2016 г., имеют сходство со штаммами, выделенными на территории Алматинской области (MLVA-25). Штаммы группируются с рядом европейских, азиатских и африканских штаммов из Франции, Германии, Италии, Таджикистана, Пакистана, Кореи и Намибии. Данная группа представлена штаммами, относящимися к линии A сублиний A.Br 008/009, A.Br.Volum и A.Br.WNA по canSNP.

Наличие значительного количества почвенных очагов сибирской язвы на территории, несоответствие правил содержания почвенных очагов, несоблюдение санитарно-защитной зоны при выпасе сельскохозяйственных животных, тайный вынужденный убой животных из собственных частных хозяйств, приводит к обострению эпизоотической и эпидемической ситуации по сибирской язве в Казахстане.

Конфликт интересов

Авторы статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Статья написана в рамках НТП «Разработка научных основ единой для Республики Казахстан системы мониторинга, диагностики и микробного коллекционирования возбудителей особо опасных, «возвращающихся», вновь возникающих и завозных инфекций» и гранта «Сравнительный анализ молекулярно-генетических особенностей геномов у возбудителей сибирской язвы и туляремии в Казахстане» АР05131460.

ЛИТЕРАТУРА

- Избанова У.А., Лухнова Л.Ю., Куниса Т.Н., и др. Современная эпизоотолого-эпидемиологическая ситуация по особо опасным инфекциям (сибирская язва, туляремия, бруцеллез). *Окружающая среда и здоровье человека (Алматы)*. 2017; (1): 23-37.
- Лухнова Л.Ю., Избанова У.А., Мека-Меченко Т.В., Некрасова Л.Е., Атшабар Б.Б., Казаков В.С. и др. Сибирская язва в 2016 году в Казахстане. *Медицина (Алматы)*. 2017; (5): 56-62.
- Черкасский Б.Л. *Руководство по общей эпидемиологии*. М: Медицина; 2001.
- Лухнова Л.Ю., Пазылов Е.К., Мека-Меченко Т.В. и др. *Молекулярно-генетические методы в лабораторной диагностике сибирской язвы: методические рекомендации*. Алматы; 2013.
- Законодательство Республики Казахстан в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения. *Об усилении мер профилактики сибирской язвы в РК*. Приказ МЗ и МСХ РК № 501/306 от 10.10.97. Алматы; 1997.
- Атшабар Б.Б., Бурделов Л.А., Избанова У.А., Лухнова Л.Ю. Паспорт регионов. *Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане*. 2015. (1): 178.
- Айкимбаев А.М., Лухнова Л.Ю., Оспанов К.С. и др. *Краткие сведения о стационарно неблагополучных по сибирской язве населенных пунктах в Республике Казахстан (справочник)*. Алматы; 2009.
- Султанов А.А., Адбыбекова А.М., Сущих В.Ю. (ред.). *Кадастровые очаги сибирской язвы на территории Республики Казахстан*. Алматы: ТОО «КазНИВИ»; 2017.
- Шушаев Б.Х. *Сибирская язва животных в Республике Казахстан*. Автореферат диссертации на соискание доктора ветеринарных наук. Алматы; 1993.
- Султанов А.А., Сущих В.Ю., Горелов Ю.М. Почвенные очаги сибирской язвы в Карагандинской области. *Окружающая среда и здоровье населения*. (Алматы). 2018; (3): 13-19.

REFERENCES

- Izbanova UA, Lukhnova LYu, Kunitsa TN, et al. Modern epizootiology and epidemiological situation with especially dangerous infections (anthrax, tularemia, brucellosis). *Okruzhayushchaya sreda i zdorov'e cheloveka*. (Almaty). 2017; (1): 23-37. (In Russ.)
- Lukhnova LYu, Izbanova UA, Meka-Mechenko TV, Nekrasova LE, Atshabar BB, Kazakov VS, et al. Anthrax in 2016 in Kazakhstan. *Medicine (Almaty)*. 2017; (5): 56-62. (In Russ.)
- Cherkassky BL. *A Guide to General Epidemiology*. Moscow: Medicine; 2001. (In Russ.)
- Lukhnova LYu, Pazylov EK, Meka-Mechenko TV, et al. *Molecular genetic methods in laboratory diagnosis of anthrax: methodical recommendations*. Almaty; 2013. (In Russ.)
- Ministry of Health and the Ministry of Agriculture the Republic of Kazakhstan. *For strengthening measures for the prevention of anthrax in the Republic of Kazakhstan*. Order No 501/306 from 10.10.97. Almaty; 1997. (In Russ.)
- Atshabar BB, Burdelov LA, Izbanova UA, Lukhnova LYu. Passport of Regions. *Quarantine and Zoonotic Infections in Kazakhstan*. 2015; (1): 178. (In Russ.)

7. Aykimbayev AM, Lukhnova LYu, Ospanov KS, et al. *Brief information about permanently unfavorable for anthrax populated areas in the Republic of Kazakhstan (book of reference)*. Almaty; 2009. (In Russ.)
8. Sultanov AA, Adbybekova AM, Sushchikh VYu (eds.). *Cadastr of soil foci of anthrax in the Republic of Kazakhstan*. Almaty: TSO KazNIVI; 2017. (In Russ.)
9. Shushaev BKh. *Siberian plague of animals in the Republic of Kazakhstan*. Abstract of dissertation for the Doctor of Veterinary Sciences. Almaty; 1993. (in Russ.)
10. Sultanov AA, Sushchy VYu, Gorelov YuM. *Soil foci of anthrax in the Karaganda region. Okrughayushchaya sreda i zdorov'e cheloveka*. (Almaty). 2018; (3): 13-19. (in Russ.)

Сведения об авторах

Лухнова Лариса Юрьевна – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории зоонозных бактериальных инфекций, РГП на ПХВ «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. Масгута Айкимбаева» М3 РК, e-mail: larissa.lukhnova@mail.ru

Ербаев Токтасын Кенжеканович – доктор медицинских наук, директор РГП на ПХВ «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. Масгута Айкимбаева» М3 РК, e-mail: ncorg@kscqzd.kz

Избанова Уйнкуль Айтебеновна – кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией зоонозных бактериальных инфекций, РГП на ПХВ «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. Масгута Айкимбаева» М3 РК, e-mail: uizbanova@gmail.com

Мека-Меченко Татьяна Владимировна – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории чумы, РГП на ПХВ «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. Масгута Айкимбаева» М3 РК, e-mail: tmeka-mechenko@kscqzd.kz

Сансызбаев Ерлан Байсалович – кандидат медицинских наук, заместитель директора РГП на ПХВ «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. Масгута Айкимбаева» М3 РК, Алматы, e-mail: ncorg@kscqzd.kz

Кирьянова Юлия – главный специалист Департамента охраны общественного здоровья по Восточно-Казахстанской области М3 РК, e-mail: y.kiryanova@mail.ru

Илюбаев Хамид – начальник отдела Департамента охраны общественного здоровья по Восточно-Казахстанской области М3 РК, e-mail: y.kiryanova@mail.ru

Сущих Владлена Юрьевна – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник вакцинной лаборатории, РГП на ПХВ «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. Масгута Айкимбаева» М3 РК, e-mail: vladasali@mail.ru

Садовская Вероника Петровна – заведующая ГИС-лабораторией, РГП на ПХВ «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. Масгута Айкимбаева» М3 РК, e-mail: versad@mail.ru

Шевцов Александр Борисович – заведующий лабораторией биотехнологии, РГП на ПХВ «Национальный центр биотехнологии» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, e-mail: ncbshevtsov@gmail.com

Information about the authors

Larisa Yu. Lukhnova – Dr. Sc. (Med.), Senior Research Officer, Laboratory of Zoonotic Bacterial Infections, Masgut Aykimbayev's Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Diseases, Ministry of the Healthcare Republic of Kazakhstan, e-mail: larissa.lukhnova@mail.ru

Toktasyn K. Erubaev – Dr. Sc. (Med.), Director, Masgut Aykimbayev's Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Diseases Ministry of Health the Republic of Kazakhstan, e-mail: ncorg@kscqzd.kz

Uinkul A. Izbanova – Cand. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Zoonotic Bacterial Infections, Masgut Aykimbayev's Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Diseases, Ministry of the Healthcare Republic of Kazakhstan, e-mail: uizbanova@gmail.com

Tatyana V. Meka-Mechenko – Dr. Sc. (Med.), Senior Research Officer, Plague Laboratory, Masgut Aykimbayev's Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Diseases, Ministry of the Healthcare Republic of Kazakhstan. Kazakhstan, e-mail: tmeka-mechenko@kscqzd.kz

Erlan B. Sansyzaev – Cand. Sc. (Med.), Deputy Director, Masgut Aykimbayev's Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Diseases Ministry of Health the Republic of Kazakhstan, e-mail: ncorg@kscqzd.kz

Julia S. Kiryanova – Senior Specialist of the Department of Public Health in the East Kazakhstan region of the Ministry of health of the Republic of Kazakhstan, e-mail: y.kiryanova@mail.ru

Khamid Zh. Ilyubaev – Head of the Department of Public Health in the East Kazakhstan region of the Ministry of health of the Republic of Kazakhstan, e-mail: y.kiryanova@mail.ru

Vladlena Yu. Sushchikh – Cand. Sc. (Vet.), Senior Research Officer at the Vaccine Laboratory, Masgut Aykimbayev's Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Diseases, Ministry of the Healthcare Republic of Kazakhstan, e-mail: vladasali@mail.ru

Veronika P. Sadowskaya – Head of GIS laboratory, Masgut Aykimbayev's Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Diseases, Ministry of the Healthcare Republic of Kazakhstan, e-mail: versad@mail.ru

Alexander B. Shevtsov – Head of the Laboratory of Biotechnology of the RSE on the REU "National Center for Biotechnology" of the Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, e-mail: ncbshevtsov@gmail.com

Вклад авторов

Лухнова Л.Ю., Избанова У.А., Мека-Меченко Т.В., Сансызбаев Е.Б. – работа с архивными данными, «Кадастром стационарно неблагополучных по сибирской язве населенных пунктов» (Астана, 2002 г.), «Кадастром почвенных очагов сибирской язвы на территории Республики Казахстан» (Алматы, 2017 г.); подготовка обзора, заключения, проведение ретроспективного анализа вспышек сибирской язвы по результатам данных официальной статистической регистрации и собственных результатов при расследовании вспышек сибирской язвы в период 2000–2016 гг.; изучение штаммов сибирской язвы, выделенных на территории Восточно-Казахстанской области с использованием микробиологических методов исследования; написание статьи.

Кирьянова Ю.С., Илюбаев Х.Ж., Сущих В.Ю. – проведение анализа вспышек сибирской язвы по собственным результатам расследования вспышек сибирской язвы в период 1997–2018 гг.; корректирование статьи, внесение данных по вспышкам сибирской язвы.

Садовская В.П. – работа в программе ArcGis-10 для составления карты по локализации вспышек сибирской язвы в период 1997–2018 гг. на территории ВКО, дифференциации территории ЮКО по степени риска заражения возбудителем сибирской язвы.

Шевцов А.Б. – изучение штаммов возбудителя сибирской язвы с использованием генетических методов исследования (ПЦР, МЛВА-8).

Статья получена: 13.03.2019. Статья принята: 04.09.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 13.03.2019. Accepted: 04.09.2019. Published: 26.10.2019.

СЛУЧАЙ ИЗ ПРАКТИКИ CASE REPORTS

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.5.21

Анализ клинического случая соматоформного болевого расстройства позднего возраста с алгиями челюстно-лицевой области как пример необоснованности стоматологических вмешательств

Шестакова Р.А., Воронина Е.О., Гончарова С.А., Антропова Е.А.

ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) (119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2)

Автор, ответственный за переписку: Раиса Андреевна Шестакова, e-mail: Raya-predsedatel@mail.ru

Резюме

В статье описан клинический случай соматоформного болевого расстройства на примере пациентки 58 лет с алгическими проявлениями в челюстно-лицевой области. Пациентка обращалась к врачам различных специальностей, проходила многочисленные медицинские обследования, не выявляющие значительных отклонений, подвергалась необоснованным медицинским манипуляциям, среди которых экстирпация нескольких зубов и удаление ранее установленных металлокерамических конструкций. В исследованиях последних лет отмечено, что с увеличением возраста у пациентов отмечается динамика смещения болевых ощущений в область полости рта, а также изменения в характере ипохондрических переживаний с ростом доли сверхценных образований, что делает описанное состояние труднодиагностируемым расстройством, представляющим собой медико-социальную проблему в отношении ранней диагностики и лечения. С каждым годом в связи с увеличением продолжительности жизни, а также с повышением доступности и разнообразия стоматологических вмешательств проблема диагностики соматоформных болевых расстройств челюстно-лицевой области в старших возрастных группах становится всё более актуальной. Клинический пример иллюстрирует накопленный практический опыт по лечению соматоформных состояний у возрастных пациентов сочетанием антидепрессантов с небольшими дозами антипсихотических препаратов, но оставляет значительные вопросы в отношении этиопатогенеза развивающегося состояния, которое было расценено как ноцицептивная, невропатическая, а затем как психогенная боль. Поздняя диагностика состояния в конкретном клиническом примере обосновывает необходимость мультидисциплинарного подхода ведения данных пациентов для выработки критерии, возможных к применению в амбулаторной практике, а также оптимизации диагностических механизмов и фармакотерапевтического воздействия на ранних этапах выявленных расстройств.

Ключевые слова: соматоформные расстройства, алгии, поздний возраст

Для цитирования: Шестакова Р.А., Воронина Е.О., Гончарова С.А., Антропова Е.А. Анализ клинического случая соматоформного болевого расстройства позднего возраста с алгиями челюстно-лицевой области как пример необоснованности стоматологических вмешательств. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 135-138. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.21

Clinical Analysis of Late Age Somatoform Algetic Disorder Case Following with Pain in Maxillofacial Area: Example of Dental Treatment Groundlessness

Shestakova R.A., Voronina E.O., Goncharova S.A., Antropova E.A.

Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) (Trubetskaya str. 8, building 2, Moscow 119991, Russian Federation)

Corresponding author: Raisa A. Shestakova, e-mail: Raya-predsedatel@mail.ru

Abstract

Case of somatoform algetic disorder with pain in maxillofacial region is described on a 58 years old patient. The patient have been observed by different specialists and underwent numerous medical examinations which led as a result to groundless medical manipulations such as several teeth extirpation, removal of previously mounted metalloceramic constructions.

Latest observations show that there is a link between age and pain localization rate at mouth area as well as changes in hypochondriac experience to the increase of supervaluable generations. Thus condition described becomes a disorder which is hard to diagnose and a social problem concerning early diagnostics and treatment. With time and increase of life expectancy as well as increase of assortment and affordability of dental procedures problem of somatoform algetic disorder diagnostics in late age becomes more urgent. Clinical case illustrates accumulated practical experience of late age somatoform disorders treatment by combinations of antidepressants and small doses of antipsychotics. Etiopathogenesis of this condition assessed as nociceptive, neuropathologic and then as psychogenic pain is still

to be investigated. Late diagnostics in this case points to a necessity of multidisciplinary approach to such patients' treatment in order to develop criteria to apply in practice for diagnostic mechanisms optimization and pharmacologic effect on early disorder stages.

Key words: somatoform disorders, algia, late age

For citation: Shestakova R.A., Voronina E.O., Goncharova S.A., Antropova E.A. Clinical Analysis of Late Age Somatoform Algic Disorder Case Following with Pain in Maxillofacial Area: Example of Dental Treatment Groundlessness. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 135-138. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.21

Диагностика состояний, проявляющихся алгиями, локализованными в челюстно-лицевой области является важной медико-социальной проблемой. Распространённость идиопатических лицевых болей, по данным литературы, достаточно велика – 20–26 % [1, 2, 3]. Данные пациенты обращаются к врачам самых различных специальностей – неврологам, стоматологам, оториноларингологам, проходят многочисленные необоснованные медицинские обследования и стоматологические манипуляции. В крупном эпидемиологическом исследовании, включавшем 34242 пациента из различных стоматологических центров Германии, было показано, что подобные болевые расстройства, не имеющие в патогенезе значимой соматической причины, встречаются в 5,2 % случаев при обращении за стоматологической помощью [4]. Особую трудность в диагностике данного состояния представляют пациенты старшей возрастной группы, т. к. данный возраст совпадает с возрастными изменениями микроэлементного состава зуба, протезированием зубов и установкой других вспомогательных стоматологических конструкций. Неправильная диагностика влечёт за собой неоправданные оперативные вмешательства, среди которых экстирпация одного или нескольких зубов, снятие зубных коронок, удаление ранее использованных стоматологических материалов, ортодонтическое лечение, прежде чем будет поставлен правильный диагноз.

Учитывая постепенное увеличение продолжительности жизни (согласно отчёту Организации Объединённых Наций, ожидается, что число пожилых людей возрастёт более чем в два раза к 2050 году – с 962 млн до 2,1 млрд и в три раза – к 2100 году) [5], а также увеличение доступности и разнообразия стоматологических манипуляций, проблема алгий челюстно-лицевой области становится все более актуальной.

В клинике психиатрии им. С.С. Корсакова было проведено исследование группы женщин старше 50 лет с ипохондрическими расстройствами. Неоднократно клиническая картина состояния проявлялась болевыми симптомами в челюстно-лицевой области и характеризовалась изолированными или сочетанными алгиями.

Приведём клиническую историю болезни пациентки, которая иллюстрирует данное состояние и демонстрирует диагностическую значимость проблемы.

Пациентка К., 58 лет, пол женский, впервые обратилась в клинику психиатрии им. С.С. Корсакова. Предъявляет жалобы на постоянное «жжение» и «покалывание» в зубах, кончике языка, «как будто окунает его в кипяток». Ощущения периодически усиливаются до степени «жжения от жгучего перца», а также распространяются на глотку, пищевод, провоцируя позывы на рвоту. Сопутствующие жалобы на тревогу в утренние часы при пробуждении, эмоциональную нестабильность, которые сама пациентка связывает с длительным течением основного состояния.

История жизни пациентки. Наследственность психическими заболеваниями не отягощена. Мать умерла в возрасте 72 лет от острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), по профессии была медсестрой, по характеру тихой, спокойной, уравновешенной. Отец умер в 76 лет, также от ОНМК, по профессии был шофером, по характеру пациентка характеризует отца эмоциональным, взрывным, но «быстро отходчивым». Пациентка – средняя из троих детей, родилась от второй беременности, в срок, роды самопроизвольные. Имеет старшую сестру (старше на 10 лет) и младшего брата (младше на 10 лет). Раннее развитие – без особенностей. Из детских инфекций перенесла ветряную оспу, эпидемический паротит. По характеру росла очень открытой, общительной, весёлой, была склонна к ярким эмоциональным реакциям – «от души смеялась», «плакала, когда расстраивалась». Детские дошкольные учреждения посещала, легко адаптировалась в детском коллективе. Всегда была уверенной в себе, целеустремлённой. В школу пошла с 7 лет. Окончила 10 классов с хорошей успеваемостью, уделяла много внимания общественной жизни, спорту. После школы продолжила обучение в университете, получив специальность агронома. По профессии никогда не работала. На протяжении всей жизни трудилась бухгалтером в компании мужа, ушла с работы в 2017 году по собственному желанию (в связи с частыми обследованиями по причине вышеупомянутых жалоб). Замужем с 24 лет, муж старше на 1 год, отношения в семье тёплые, дружеские. В браке родила единственного сына (32 года), проживает отдельно, со своей собственной семьёй.

Гинекологический анамнез. Менструации с 16 лет, регулярные, безболезненные, цикл сохраняется до настоящего времени. Около 7 лет назад у больной стали возникать сильные приливы жара и потливости, ухудшилось общее самочувствие, после обращения к гинекологу был рекомендован постоянный приём препарата «Фемостон», на фоне приёма которого состояние нормализовалось.

Вредные привычки отрицает, при приёме малых доз алкоголя отмечает, что ощущение жжения в полости рта усиливается. Травм не было. Аллергоанамнез не отягощён. Операции: аппендэктомия в 16 лет

История развития настоящего заболевания. Считает себя больной около 4 лет, когда в 2014 году без видимых причин появилась повышенная чувствительность зубной эмали, отмечала невозможность приёма горячей и холодной пищи, поскольку это вызывало сильную боль. Пациентка была сильно озадачена данным обстоятельством, поскольку многие из зубов были денервированы под установку металлокерамических конструкций и не могли вызывать болевых ощущений. Через некоторое время после еды у пациентки стало возникать ощущение болезненности и жжения в кончике языка и дёснах. В зависимости от вида пищи ощущения

могли усиливаться. Пациентка отмечала, что 3–4 раза в месяц жжение становилось практически непереносимым, будто «наелась перца чили». Данные ощущения распространялись на область глотки, пищевода, могли вызывать рвотные позывы. Также пациентка отметила, что жжение вызывало посещение бани и перемена температуры в помещении. Со временем пациентка отметила появление во рту металлического привкуса. Прошла полное обследование в отделениях гастроэнтерологии, неврологии, но патологии выявлено не было. В дальнейшем обратилась к стоматологу-ортодонту, который после осмотра высказал заключение о том, что у пациентки развилась аллергическая реакция на металлокерамические мости, установленные в ротовой полости. После удаления металлокерамических конструкций патологические ощущения не уменьшились. При повторном обращении к стоматологу пациентке было рекомендовано удаление 4 верхних моляров, ранее подготовленных под установку мостов, поскольку было предположено, что причиной ощущений служат сформировавшиеся участки воспаления. Удаление зубов также не возымело положительного эффекта, и у больной продолжали возникать болезненные ощущения в полости рта. Пациентка отмечала, что они развиваются вскоре после пробуждения и приёма первых глотков воды, сохраняются на протяжении всего дня и стихают лишь ко времени отхода ко сну. Вочные часы появления этих ощущений пациентка не отмечала.

За период 24 месяцев до госпитализации пациентка прошла неоднократные полные обследования в районном центре, амбулаторно обращалась к следующим специалистам: гастроэнтеролог – 7 обращений, 3 проведённых фиброгастродуоденоскопии, находилась на лечении в гастроэнтерологическом отделении с предположительным диагнозом «парестезия слизистой оболочки полости рта на фоне рефлюкс-эзофагита и синдрома сниженного прикуса», который впоследствии также не подтвердился, из заключения – поверхностный гастрит; оториноларинголог – 3 обращения, заключение – без патологии (проведён соскоб с языка: заключение – незначительное количество грибов); allergolog-стоматолог – патологии не выявлено; невролог – 4 обращения. Заключение невролога: высшие мозговые функции сохранены. Поля зрения (ориентировано) в норме, зрачки D = S, фотореакции сохранены, конвергенция в норме, глазные щели D = S. Движения глазных яблок в полном объёме, диплопии, нистагм в крайних отведениях. Точки выхода тройничного нерва безболезненны. Надбровные рефлексы D = S, мимические мышцы без асимметрии. Симптомы орального автоматизма отрицательные. Слух не нарушен. Фонация, глотание не нарушены, нёбный и глоточный рефлексы живые, язык по средней линии. Мышечных атрофий, гипотрофий нет, мышечный тонус в конечностях не изменён. Ульнарный дефект по Вендеровичу справа. Глубокие рефлексы живые, с верхних конечностей не изменены. Ульнарный дефект по Вендеровичу справа. Глубокие рефлексы живые, с верхних конечностей D = S, коленные D = S, ахилловы D = S. Нарушений чувствительности нет. Пальценосовую пробу выполняет удовлетворительно. В позе Ромберга неустойчива с тенденцией к падению назад и вправо. Менингеальные симптомы отрицательные. Симптомы натяжения отрицательные. Пальпация

остистых отростков безболезненна в шейном и грудном отделах позвоночника. Выполнено МРТ позвоночника, по заключению которого МР-картина межпозвонкового остеохондроза, спондилеза и начальных проявлений спондилоартроза пояснично-крестцового отдела позвоночника. Дорзальные протрузии межпозвонковых дисков L3–L4, L4–L5.

При поступлении в клинику психиатрии им. С.С. Корсакова общее состояние удовлетворительное. Нормостенический тип телосложения. Рост – 1 м 67 см, вес 69 кг; температура тела – 36,6 °C; пульс – 85 уд./мин., ритмичный; АД – 120/80 мм рт. ст. Кожные покровы чистые, бледно-розовые. Тургор, эластичность кожи сохранены. Подкожно-жировая клетчатка развита умеренно, равномерно распределена по всему телу. Лимфатические узлы не увеличены. Система органов дыхания, пищеварительная система, мочеполовая система и эндокринная система – без особенностей.

Особенности психического статуса: во время беседы с врачом несколько фиксирована на болезненных переживаниях. Тяготится болями в челюстно-лицевой области, рассказывает о собственных ощущениях, говорит, что «вконец от них измучилась», сожалеет о напрасно проведённых стоматологических вмешательствах, из-за которых теперь испытывает значительные неудобства во время приёма пищи. Эмоционально несколько лабильна, на глазах выступают слезы, когда начинает подробно рассказывать обо всех «периптиях» у врачей и безрезультатности проведённых обследований и вмешательств.

При поступлении в стационар: общий анализ крови, мочи, биохимический анализ крови – в пределах нормы. Электрокардиограмма: ритм правильный, синусовый, ЧСС 66/мин, ЭОС: горизонтальное положение, умеренно выраженные изменения миокарда.

В время пребывания в стационаре принимала терапию по схеме: Перфеназин 5 мг утром и вечером, Амитриптилин 6,25 мг × 4 раза/день.

На 10-й день пребывания в стационаре состояние значительно улучшилось. Пациентка отметила уменьшение интенсивности и длительности болевых ощущений в челюстно-лицевой области, которые изменили характер с практически постоянных до эпизодических. К 21-му дню терапии отметила полное исчезновение болевых ощущений, с исчезновением которых редуцировалась тревога и аффективная лабильность.

На контрольном приёме через 3 и 6 месяцев отрицательной динамики в виде возвращения болевых ощущений не отмечала.

Данный клинический случай иллюстрирует накопленный практический опыт по лечению соматоформных состояний у возрастных пациентов сочетанием антидепрессантов с небольшими дозами антипсихотических препаратов. Несмотря на значительное улучшение состояния пациентки в достаточно короткий период времени, данный клинический случай оставляет значительные вопросы в отношении этиопатогенеза состояния.

В дебюте заболевания алгические проявления были рассмотрены амбулаторными специалистами как ноцицептивная боль, что привело к неоправданным медицинским вмешательствам – удалению четырёх верхних моляров и всех ранее установленных металло-

керамических конструкций. Помимо этого, несвоевременное выявление первопричины состояния привело к многочисленным диагностическим манипуляциям, финансовым затратам со стороны пациентки, элементам социальной дезадаптации в виде потери работы. Интерес данного случая заключается в возможном сочетании психогенных проявлений и невропатических болей. В литературе встречаются данные о сочетании глоссодинии с заболеваниями аффективного и тревожного спектра, утяжеляющем взаимное течение расстройств или протекающих параллельно друг другу [6]. Получены данные о врождённой дисфункции периферических и центральных отделов тригеминальной системы, обусловленной каналопатией, вызванной мутацией гена SCN9A, кодирующему потенциалзависимые натриевые каналы у данной группы пациентов [7], а также установлена связь с другими болевыми синдромами, затрагивающими слизистые оболочки, однако эпигенетические механизмы, определяющие локализацию болевого синдрома, пока не установлены. Состояние, описанное в данном клиническом примере, должно явиться предметом дальнейшего мультидисциплинарного изучения психиатров, стоматологов, неврологов, физиологов и генетиков для выработки диагностических механизмов и оптимизации фармакотерапевтического воздействия.

ЛИТЕРАТУРА

REFERENCES

- Koopman JS, Dieleman JP, Huygen FJ, de Mos M, Martin CG, Sturkenboom MC. Incidence of facial pain in the general population. *Pain*. 2009; 147(1-2-3): 122-127. doi: 10.1016/j.pain.2009.08.023
- Wong MC, McMillan AS, Zheng J, Lam CL. The consequences of orofacial pain symptoms: a population-based study in Hong Kong. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2008; 36(5): 417-424. doi: 10.1111/j.1600-0528.2007.00422.x
- Nóbrega JC, Siqueira SR, Siqueira JT, Teixeira MJ. Differential diagnosis in atypical facial pain: a clinical study. *Arq Neuropsiquiatr*. 2007; 65(2A): 256-261. doi: 10.1590/s0004-282x2007000200013
- Wirz S, Ellerkmann RK, Buecheler M, Putensen C, Nadst-awek J, Wartenberg HC. Management of chronic orofacial pain: a survey of general dentists in German university hospitals. *Pain Med*. 2010; 11(3): 416-424. doi: 10.1111/j.1526-4637.2010.00805.x
- United Nations. *World Population Prospects. The 2017 Revision*. URL: <https://www.un.org/development/desa/publications/world-population-prospects-the-2017-revision.html>.
- Abetz LM, Savage NW. Burning mouth syndrome and psychological disorders. *Aust Dent J*. 2009; 54(2): 84-93. doi: 10.1111/j.1834-7819.2009.01099.x
- Fertleman CR, Baker MD, Parker KA, Moffatt S, Elmslie FV, Abrahamsen B, et al. SCN9A Mutations in paroxysmal extreme pain disorder: allelic variants underlie distinct channel defects and phenotypes. *Neuron*. 2006; 52(5), 767-774. doi: 10.1016/j.neuron.2006.10.006

Сведения об авторах

Шестакова Раиса Андреевна – аспирант кафедры психиатрии и наркологии, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), e-mail: raya-predsedatel@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5485-0997>

Воронина Екатерина Олеговна – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры психиатрии и наркологии, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), e-mail: ekaterinadolores@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-5751-0579>

Гончарова Светлана Анатольевна – заведующая общепсихиатрическим отделением № 2 Клиники психиатрии им. С.С. Корсакова, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), e-mail: s.a.goncharova2@mail.ru

Антропова Екатерина Андреевна – врач-психиатр общепсихиатрического отделения № 2 Клиники психиатрии им. С.С. Корсакова, ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), e-mail: Pchelochka@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9828-1514>

Information about the author

Raisa A. Shestakova – Postgraduate at the Department of Psychiatry and Narcology, Sechenov First Moscow State Medical University, e-mail: raya-predsedatel@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5485-0997>

Ekaterina O. Voronina – Cand. Sc. (Med.), Teaching Assistant at the Department of Psychiatry and Narcology, Sechenov First Moscow State Medical University, e-mail: ekaterinadolores@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-5751-0579>

Svetlana A. Goncharova – Head of the Psychiatric Department N 2 of Korsakov Psychiatric Hospital, Sechenov First Moscow State Medical University, e-mail: s.a.goncharova2@mail.ru

Ekaterina A. Antropova – Psychiatrist at the Psychiatric Department N 2 of Korsakov Psychiatric Hospital, Sechenov First Moscow State Medical University, e-mail: Pchelochka@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9828-1514>

Статья получена: 07.07.2019. Статья принята: 09.09.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 07.07.2019. Accepted: 09.09.2019. Published: 26.10.2019.

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

BRIEF REPORTS

DOI: 10.29413/ABS.2019-4.5.22

Морфологические, физиологические и генетические особенности популяций основного носителя чумы *Rhombomys opimus* Licht., 1823 в Центрально-Азиатском пустынном природном очаге чумы

Нуртазин С.Т.¹, Шевцов А.², Луцай В.², Раманкулов Е.М.², Саякова З.З.³, Абдирасилова А.А.³, Жунусова А.С.³, Кабышева Н.П.³, Рысбекова А.К.³, Садовская В.П.³, Есжанов А.Б.³, Утепова И.Б.³, Бердебеков А.Т.⁴, Кулемин М.В.⁵, Катуова Ж.У.⁶, Атшабар Б.Б.³

¹ Казахский Национальный университет им. аль-Фараби Министерства образования и науки РК (050040, г. Алматы, проспект Аль-Фараби, 71, Казахстан); ² Национальный центр биотехнологии Министерства образования и науки РК (010000, г. Нур-Султан, Кургальжинское шоссе 13/5, Казахстан); ³ РГП «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева» МЗ РК (А35РОК3, г. Алматы, ул. Жахангер, 14, Казахстан); ⁴ РГУ «Талдыкорганская противочумная станция» КККБТУ МЗ РК (040000, г. Талдыкорган, проспект Нурсултан Назарбаев, 104, Казахстан); ⁵ РГУ «Шымкентская противочумная станция» КККБТУ МЗ РК (160013, г. Шымкент, ул. Дулати М., 114, Казахстан); ⁶ РГУ «Актюбинская противочумная станция» КККБТУ МЗ РК (030000, г. Актобе, п. Заречный-2, ул. Кайдауыл батыра, 10, Казахстан)

Автор, ответственный за переписку: Атшабар Бакыт Бахияулы, e-mail: batshabar@gmail.com

Резюме

Описывается выявленное разнообразие популяций основного носителя чумы *Rhombomys opimus* Licht., 1823 в пустынном природном очаге Центральной Азии по морфологическим (круениометрическим) признакам, физиологическому статусу и генетическому разнообразию.

Выявлены отличия в параметрах черепа *R. opimus* из различных популяций ареала. Показано, что песчанки из Мойынкумов являются отдельной автономной группой популяций. Образцы из Мойынкумов и Манышлака отличались от других образцов. В Балхаш-Алакольской впадине существует два региональных комплекса: Прибалхашский и Джунгарский.

Результаты изучения уровня свободных аминокислот в сыворотке крови *R. opimus*, полученные при газо-жидкостной хроматографии сывороток крови *R. opimus*, отловленных в разных зонах Центрально-Азиатского пустынного очага чумы, дают статистически значимые различия содержания свободных аминокислот. Филогенетический анализ последовательностей от *R. opimus* кластеризовал в три крупных кластера. Первый кластер объединил последовательности *R. opimus*, отловленных в Казахстане и Китае, при этом большая песчанка, отловленная в Казахстане, располагается отдельной кладой. Второй и третий кластер включает последовательности большой песчанки, отловленной в Иране.

Ключевые слова: природный очаг, чума, большая песчанка, популяция, ДНК, секвенирование

Для цитирования: Нуртазин С.Т., Шевцов А., Луцай В., Раманкулов Е.М., Саякова З.З., Абдирасилова А.А., Жунусова А.С., Кабышева Н.П., Рысбекова А.К., Садовская В.П., Есжанов А.Б., Утепова И.Б., Бердебеков А.Т., Кулемин М.В., Катуова Ж.У., Атшабар Б.Б. Морфологические, физиологические и генетические особенности популяций основного носителя чумы *Rhombomys opimus* Licht., 1823 в Центрально-Азиатском пустынном природном очаге чумы. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 139-143. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.22

Morphological, Physiological and Genetic Characteristics of Populations of the Main Plague Host *Rhombomys opimus* Licht., 1823 in the Central Asian Desert Natural Focus of Plague

Nurtazin S.T.¹, Shevtsov A.², Lutsay V.², Ramankulov E.M.², Sayakova Z.Z.³, Abdirasilova A.A.³, Zhunusova A.S.³, Kabysheva N.P.³, Rysbekova A.K.³, Sadovskaya V.P.³, Yeszhanov A.B.³, Utepova I.B.³, Berdibekov A.T.³, Kulemin M.V.⁵, Katuova Zh.U.³, Atshabar B.B.³

¹ Al-Farabi Kazakh National University of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan (Al-Farabi av. 71, Almaty 050040, Kazakhstan); ² National Center for Biotechnology of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan (Kurgalzhinskoye Highway 13/5, Nur-Sultan 010000, Kazakhstan); ³ M. Aikimbaev's Kazakh Scientific Centre for Quarantine and Zoonotic Diseases (Zhakhanger str. 14 Almaty A35ROK3, Kazakhstan); ⁴ Taldykorgan Anti-Plague Station (Nursultan Nazarbayev av. 104, 040000, Taldykorgan, Kazakhstan); ⁵ Shymkent Anti-Plague Station (M. Dulati str. 114, Shymkent 160013, Kazakhstan); ⁶ Aktyubinsk Anti-Plague Station (Kaidauly Batyr str. 10, Zarechny-2, Aktobe 030000, Kazakhstan)

Corresponding author: Bakyt B. Atshabar, e-mail: batshabar@gmail.com

Abstract

Revealed by morphological characters, physiological status, and genetic diversity of populations of the main plague host *Rhombomys opimus* Licht., 1823 in Central Asia desert natural focus is described.

Differences in the skull parameters of *R. opimus* from different populations were revealed. It's shown that gerbils from Moyunkum are separate autonomous populations group. Samples from Moyunkum and Mangyshlak differed from other samples. In Balkhash-Alakol depression found two regional complexes: Pre-Balkhash and Dzungarian.

Study results of free amino acids level in *R. opimus* blood serum obtained by gas-liquid chromatography of blood sera from animals captured in different zones of Central Asian focus gave statistically significant differences.

To determine genetic variability in ecological and geographical isolation of *R. opimus* populations the DNA was genotyped. DNA samples analysis combined the studied gerbil from the desert focus into four clusters with eighteen haplotypes. *R. opimus* sequence analysis taking into account data from territories of Iran, Kazakhstan and China, clustered into three large clusters. First cluster combined the sequences of Kazakhstan and China samples, while great gerbil captured in Kazakhstan is located in a separate treasure. Second and third clusters include sequences of a great gerbil captured in Iran.

Key words: natural focus, plague, great gerbil, populations, DNA, sequencing

For citation: Nurtazin S.T., Shevtsov A., Lutsay V., Ramankulov E.M., Sayakova Z.Z., Abdirasilova A.A., Zhunussova A.S., Kabysheva N.P., Rysbekova A.K., Sadovskaya V.P., Yeszhanov A.B., Utepova I.B., Berdibekov A.T., Kulemin M.V., Katuova Zh.U., Atshabar B.B. Morphological, Physiological and Genetic Characteristics of Populations of the Main Plague Host *Rhombomys opimus* Licht., 1823 in the Central Asian Desert Natural Focus of Plague. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 139-143. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.22

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что функционирование природных очагов инфекций как сложных многоуровневых паразитарных систем определяется взаимодействием членов энзоотийной триады (популяций носителей, переносчиков и возбудителя) в конкретных экологических условиях на основе процессов саморегуляции.

Основным носителем чумы в Центрально-Азиатском пустынном очаге чумы является *Rhombomys opimus* [1]. Активное вовлечение в эпизоотию второстепенных носителей имеет обычно более локальный характер, тогда как, к примеру, в Кызылкумском и Устюртском очагах в целом от *R. opimus* за время обследования, с 1949 по 1990 гг., выделено 95,6 % всех штаммов [2].

Большая песчанка в силу массовости, семейно-колониального образа жизни, наличия сложных нор-колоний, активной роющей деятельности является ландшафтообразующим видом. Богатая фауна эктопаразитов в её норах и посещение их практически всеми животными, являющимися потенциальными носителями чумной инфекции, создают благоприятные условия для межвидового обмена эктопаразитами, прежде всего блохами [3].

Неравнозначность для жизнедеятельности чумного микробы отдельных внутрипопуляционных группировок основного носителя и связанных с ним сообществ переносчиков обуславливает тот или иной характер эпизоотической активности очага, его пространственную организацию и эпидемическую значимость [4]. Это обуславливает важность изучения сформировавшихся в ходе ко-эволюции популяций возбудителя, переносчика и носителя в природном очаге.

Доказано, что, опираясь на краинометрические показатели, возможно выявить достоверные различия между популяциями [5].

Ареал *R. opimus* охватывает зону пустынь умеренного пояса. Она встречается на территории Казахстана, Туркмении, Узбекистана, а также в пустынях северной Монголии, северо-западном Китае, на востоке Ирана, севере Афганистана и Пакистана [3].

Популяции *R. opimus*, обитающие на территории Ирана и Китая, генотипированы [6, 7]. Типирование генома *R. opimus* Центрально-Азиатского пустынного очага чумы не проводилось.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследованы черепа половозрелых больших песчанок (самцов и самок) из музейной коллекции Казахского научного центра карантинных и зоонозных инфекций. Параметры черепов больших песчанок сравнивались по методу сравнительных компонент и критерию Колмогорова-Смирнова. Расчет значений статистики проводился при помощи функции ks.test из пакета R [R Documentation. Kolmogorov – Smirnov Tests; <https://stat.ethz.ch/R-manual/R-devel/library/stats/html/ks.test.html>]. Для расчета критических значений использовалась аппроксимация [8].

Метод определения свободных аминокислот основан на получении летучих N-бутил-N-трифторацетиловых эфиров аминокислот с последующим введением их в газо-жидкостный хроматограф [9].

Количество аминокислот определяли методом газо-жидкостной хроматографии на одной стеклянной колонке с параметрами 1,5 м \times 4 мм на хроматографе Chrome-4 (Czech Republic) с водородным пламенно-ионизационным детектором [10].

В работе использовалась ДНК выделенная из печени 90 особей *R. opimus*, отловленных из трёх основных ареалов.

Определение нуклеотидной последовательности *cytB* гена

Фрагмент *cytB* гена протяжённостью 583 п.н. (без учёта праймеров) был амплифицирован и секвенирован с праймерами UNFOR403 (5'-TGAGGACAAATCATTCTGAGG-3') и UNREV1025 (5'-GGTTGTCCTCCAATTCTGTTA-3') [11]. Условия амплификации ранее описаны Н. Bakhshi с соавт. [7]. Секвенирование проводили с использованием BigDye v. 3.1 с последующим разделением на автоматическом генетическом анализаторе 3730xl. Филогенетический анализ выполняли с MEGA 6.0, используя метод «ближайших соседей» (NJ-метод).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На основе морфометрических методов были изучены краинометрические показатели большой песчанки, принадлежащей к различным региональным комплексам и популяциям из низовий р. Урал, пустыни Мойынкум, Таукумского, Прибалхашского, Илийского

межгорного и Приалакольского очагов чумы, расположенных в Балхаш-Алакольской впадине юго-востока Казахстана.

Показано, что песчанки из Мойынкумов являются отдельной автономной группой популяций, а в Балхаш-Алакольской впадине существует два региональных комплекса: Прибалхашский и Джунгарский.

По результатам изучения уровня свободных аминокислот в сыворотке крови *R. opimus* получены данные газо-жидкостной хроматографии сывороток крови *R. opimus*, отловленных в разных зонах Центрально-Азиатского пустынного очага чумы: Устюрта, песков Мойынкумов и пустыни Кызылкум, дают статистически

значимые различия содержания свободных аминокислот (более чем двукратное превышение содержания в мг%). Амплитуда колебаний значений доходила до 150–200 % и более. Это подтверждает физиологические особенности популяций грызунов одного вида.

Филогенетический анализ проб ДНК объединил 90 исследуемых образцов в 4 кластера с 18 гаплотипами (рис. 1). Первый кластер включает в себя 20 образцов от особей, отловленных в Южном Прибалхашье. Данные образцы кластеризовались в 6 гаплотипов, три из которых представлены единичными особями, два гаплотипа объединили в себя по 3 особи, самый крупный гаплотип объединил 11 особей.

Второй кластер объединил 29 особей, из которых 25 отловлены в Западной Бетпакдале и 4 – в Восточном Предустюрье. 25 особей из Западной Бетпакдале дифференцируются на 3 гаплотипа, самый крупный гаплотип объединяет 16 особей, 2 оставшихся гаплотипа сформировались 5 и 4 особями соответственно. 4 особи, отловленные в Восточном Предустюрье второго кластера, представляют отдельный гаплотип.

Третий кластер представлен 23 особями, 5 из которых отловлены в Западной Бетпакдале, остальные – в Восточном Предустюрье. В данном кластере два гаплотипа с характерной кластеризацией особей относительно географической локализации.

Четвёртый кластер формируется последовательностями сутB гена от 18 особей, отловленных в Восточном Предустюрье. Данный кластер представлен 7 гаплотипами, 4 из которых представлены отдельными особями: 2 гаплотипа по 2 особи, 1 гаплотип – 3 особи, самый крупный генотип – 7 особей.

Таким образом, наблюдается корреляция гаплотипов *R. opimus* с географическим распределением. Последующий анализ с географическими координатами отлова песчанок и динамики численности позволит лучше понять распределение гаплотипов.

Финансирование

Исследования выполнены в рамках гранта Министерства образования и науки Республики Казахстан АР05133153 «Популяционные экологические варианты носителя, переносчика и возбудителя чумы в Среднеазиатском природном пустынном очаге чумы».

ЛИТЕРАТУРА

- Бурделов А.С., Петров В.С., Хрущевский В.П. Место большой песчанки в биоценозах пустынь СССР. *Материалы VII научной конференции противочумных учреждений Средней Азии и Казахстана*. Алма-Ата; 1971. с. 283–285.
- Асенов Г.А., Кенжебаев А.Я., Сабилаев А.С., Копцев Л.С., Кудеков М.К., Руденко Р.Д. Место и значение отдельных видов носителей в эпизоотологии Кызылкумского и Устюртского очагов чумы. *Современные аспекты эпидемиологического надзора за особо опасными инфекциями: Тезисы XIII конференции противочумных учреждений Средней Азии и Казахстана*. Алматы; 1990: 12-14.
- Атшабар Б.Б., Бурделов Л.А., Садовская В.П. *Атлас распространения особо опасных инфекций в Республике Казахстан*. Алматы; 2012.
- Попков А.Ф., Вержуцкий Д.Б., Корzon В.М., Инокентьев Т.И., Чипанин Е.В., Вершинин Е.А., и др. Итоги популяционно-экологических исследований природной очаговости чумы в Сибири. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2007; (2): 33-36.
- Есжанов А.Б., Нуртазин С.Т., Атшабар Б.Б., Бурделов Л.А., Сапожников В.И., Беляев А.И. Проблема изучения

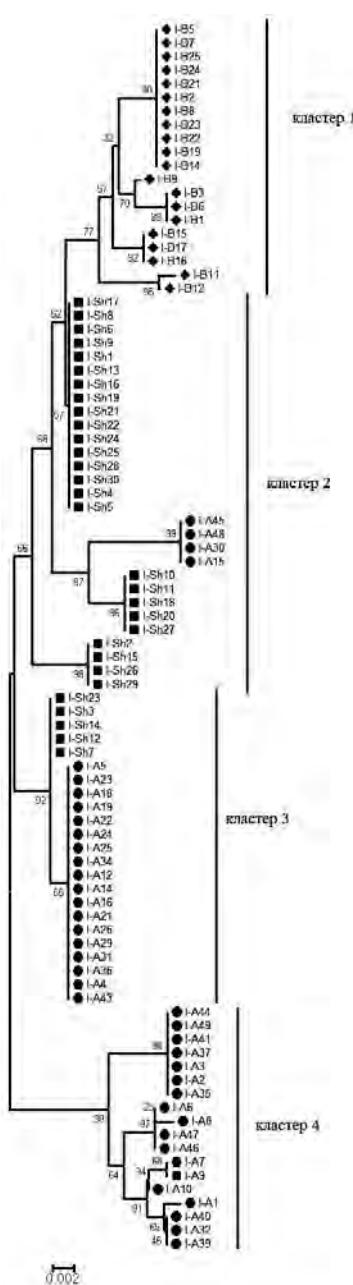


Рис. 1. Филогенетический анализ 90 образцов ДНК *R. opimus* из трёх автономных очагов Центрально-Азиатского пустынного очага чумы.

Fig. 1. Phylogenetic analysis of 90 DNA samples of *R. opimus* from three autonomous foci of the Central Asian desert foci of plague.

подвидовой структуры большой песчанки (*Rhombomys opimus* Licht). *Вестник КазНУ им. аль-Фараби. Серия экологическая*. 2013; 3(39): 66.

6. Wang Y, Liu W, Wang GM, Zhong W, Wan X. Genetic consequences of group living in Mongolian gerbils. *Journal of Heredity*. 2011; 102(5): 554-561. doi: 10.1093/jhered/esr069

7. Bakhshi H, Oshaghi MA, Abai MR, Rassi Y, Akhavan AA, Mohebali M, et al. MtDNA CytB structure of *Rhombomys opimus* (Rodentia: Gerbellidae), the main reservoir of cutaneous Leishmaniasis in the borderline of Iran-Turkmenistan. *J Arthropod Borne Dis*. 2013; 7(2): 173-184.

8. Мюллэр П., Нойман П., Шторм Р. *Таблицы по математической статистике*. М.: Финансы и статистика; 1982.

9. Gehrke CW, Kuo K, Zumwalt RW. The complete gas-liquid chromatographic separation of the twenty protein amino acids. *J Chromatogr*. 1971; 57: 209-217. doi: 10.1016/0021-9673(71)80034-1

10. Атчабаров Б.Б., Мартиневский И.Л., Исин Ж.М., Узбеков Б.К., Попов В.С., Алманиязова К.К. Аминокислотный состав сыворотки крови большой песчанки. *Материалы XI международной конференции по противочумным учреждениям Средней Азии и Казахстана*. Алматы; 1981: 20-22.

11. Kent RJ, Norris DE. Identification of mammalian blood meals in mosquitoes by a multiplexed polymerase chain reaction targeting cytochrome B. *Am J Trop Med Hyg*. 2005; 73(2): 336-342

REFERENCES

1. Burdelov AS, Petrov VS, Khrustselevsky VP. The place of the great gerbil in the biocenoses of the USSR deserts. *Materialy VII nauchnoy konferentsii protivochumnykh uchrezhdeniy Sredney Azii i Kazakhstana*. Alma-Ata; 1971: 283-285. (In Russ.)
2. Asenov GA, Kenzhebaev AYa, Sabilayev AS, Koptsev LS, Kudekov MK, Rudenko RD. The place and importance of certain species of hosts in the epizootiology of the Kyzylkum and Ustyurt plague foci. *Sovremennye aspekty epidemiologicheskogo nadzora za osobu opasnymi infektsiyami: Tezisy XIII konferentsii protivochumnykh uchrezhdeniy Sredney Azii i Kazakhstana*. Alma-Ata; 1981: 20-22.
3. Atshabar BB, Burdelov LA, Sadovskaya VP. *Atlas of the spread of especially dangerous infections in the Republic of Kazakhstan*. Almaty; 2012. (In Russ.)
4. Popkov AF, Verzhutsky DB, Korzun VM, Innokentieva TI, Chipanin EV, Vershinin EA, et al. Summing-up the results of the populational and ecological investigations into plague natural foci in Siberia carried out in 2001-2005. *Problemy osobu opasnykh infektsii*. 2007; (2): 33-36. (In Russ.)
5. Yeszhanov AB, Nurtazin ST, Atshabar BB, Burdelov LA, Sapozhnikov VI, Belyaev AI. The problem of studying the subspecies structure of the large gerbil (*Rhombomys opimus* Licht). *Vestnik Kazakhskogo natsionalnogo universiteta. Seriya ekologicheskaya*. 2013; 3(39): 66. (In Russ.)
6. Wang Y, Liu W, Wang GM, Zhong W, Wan X. Genetic consequences of group living in Mongolian gerbils. *Journal of Heredity*. 2011; 102(5): 554-561. doi: 10.1093/jhered/esr069
7. Bakhshi H, Oshaghi MA, Abai MR, Rassi Y, Akhavan AA, Mohebali M, et al. MtDNA CytB structure of *Rhombomys opimus* (Rodentia: Gerbellidae), the main reservoir of cutaneous Leishmaniasis in the borderline of Iran-Turkmenistan. *J Arthropod Borne Dis*. 2013; 7(2): 173-184.
8. Muller P, Neumann P, Storm R. *Math statistics tables*. Moscow: Finansy i statistika. 1982. (In Russ.)
9. Gehrke CW, Kuo K, Zumwalt RW. The complete gas-liquid chromatographic separation of the twenty protein amino acids. *J Chromatogr*. 1971; 57: 209-217. doi: 10.1016/0021-9673(71)80034-1
10. Atchabarov BB, Martinevsky IL, Isin JM, Uzbekov BK, Popov VS, Almamayzova KK. Amino acid composition of the blood serum of the great gerbil. *Materialy XI mezhrespublikanskoy konferentsii protivochumnykh uchrezhdeniy Sredney Azii i Kazakhstana*. Alma-Ata; 1981: 20-22. (In Russ.)
11. Kent RJ, Norris DE. Identification of mammalian blood meals in mosquitoes by a multiplexed polymerase chain reaction targeting cytochrome B. *Am J Trop Med Hyg*. 2005; 73(2): 336-342

Сведения об авторах

Нуртазин Сабир Темиргалиевич – доктор биологических наук, профессор кафедры биоразнообразия и биоресурсов, Казахский Национальный университет им. аль-Фараби Министерства образования и науки РК, e-mail: sabyr.nurtazin@kaznu.kz; nurtazin.sabir@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4969-6323>

Шевцов Александр Борисович – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией прикладной генетики, Национальный центр биотехнологии Министерства образования и науки РК, e-mail: ncbshevtsov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0307-1053>

Луцай Виктория Борисовна – младший научный сотрудник лаборатории прикладной генетики, Национальный центр биотехнологии Министерства образования и науки РК, e-mail: shvedyk_vika@mail.ru

Раманкулов Ерлан Мирхайдарович – PhD, Генеральный директор, Национальный центр биотехнологии Министерства образования и науки РК, e-mail: ramankulov@biocenter.kz, <https://orcid.org/0000-0001-6791-4497>

Саякова Зауре Зинуровна – кандидат биологических наук, заведующая лабораторией зоологии и паразитологии с музеем и инсектиарием, РГП «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева» М3 РК, e-mail: zzsayakova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1107-6345>

Абдирасилова Айгүль Ақзатовна – заведующая лабораторией молекулярной диагностики и генетики, РГП «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева» М3 РК, e-mail: aigul.abdirassilova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7308-2113>

Жұнусова Айгүль Сағындықыновна – врач-микробиолог лаборатории молекулярной диагностики и генетики, РГП «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева» М3 РК, e-mail: aigul700@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3569-0569>

Кабышева Наиль Патигулаевна – врач-микробиолог лаборатории молекулярной диагностики и генетики, РГП «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева» М3 РК, e-mail: nailya.kabysheva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5507-4045>

Рысбекова Алтын Канатовна – врач-микробиолог лаборатории молекулярной диагностики и генетики, РГП «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева» М3 РК, e-mail: rysbekova23@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8684-3425>

Садовская Вероника Петровна – заведующая лабораторией, РГП «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева» М3 РК, e-mail: versadovskaya@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8389-9362>

Есжанов Айданы Бауржанович – PhD, ведущий научный сотрудник лаборатории зоологии и паразитологии с музеем и инсектиарием, РГП «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева» М3 РК, e-mail: aidyn.eszhanov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6572-5668>

Утепова Ирина Балапановна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биологической безопасности и биологической защиты, РГП «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева» М3 РК, e-mail: utepib@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8088-638X>

Бердібеков Алмас Токтамысович – руководитель, РГУ «Талдыкорганская противочумная станция» КККБТУ М3 РК, e-mail: almas_74_18@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8296-8362>

Кулемин Максим Владимиевич – заведующий лабораторией эпизоотологии и профилактики особо опасных инфекций, РГУ «Шымкентская противочумная станция» КККБТУ М3 РК, e-mail: kmaxim.75@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8839-9276>

Катуова Жанылдык Умирзакована – зоолог, РГУ «Актюбинская противочумная станция» КККБТУ М3 РК, e-mail: katuova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5210-5347>

Атшабар Бакыт Бахиляулы – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник, РГП «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М. Айкимбаева» М3 РК, e-mail: batshabar@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5533-8805>

Information about the authors

- Sabir T. Nurtazin** – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Biodiversity and Bioresources, Al-Farabi Kazakh National University of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, e-mail: sabyr.nurtazin@kaznu.kz; nurtazin.sabir@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4969-6323>
- Aleksandr B. Shevtsov** – Cand. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Applied Genetics, National Center for Biotechnology of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, e-mail: ncbshevtsov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-0307-1053>
- Viktoria B. Lutsay** – Junior Research Officer at the Laboratory of Applied Genetics, National Center for Biotechnology of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, e-mail: shivedyk_vika@mail.ru
- Erlan M. Ramankulov** – PhD, Executive Director, National Center for Biotechnology of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan, e-mail: ramankulov@biocenter.kz, <https://orcid.org/0000-0001-6791-4497>
- Zaure Z. Sayakova** – Cand. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Zoology and Parasitology with Museum and Insectarium, M. Aikimbaev's Kazakh Scientific Centre for Quarantine and Zoonotic Diseases, e-mail: zssayakova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1107-6345>
- Aigul A. Abdrasilova** – Head of the Laboratory of Molecular Diagnostics and Genetics, M. Aikimbaev's Kazakh Scientific Centre for Quarantine and Zoonotic Diseases, e-mail: aigul.abdrasilova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7308-2113>
- Aigul S. Zhunussova** – Microbiologist at the Laboratory of Molecular Diagnostics and Genetics, M. Aikimbaev's Kazakh Scientific Centre for Quarantine and Zoonotic Diseases, e-mail: aigul700@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3569-0569>
- Nailya P. Kabysheva** – Microbiologist at the Laboratory of Molecular Diagnostics and Genetics, M. Aikimbaev's Kazakh Scientific Centre for Quarantine and Zoonotic Diseases, e-mail: nailya.kabysheva@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5507-4045>
- Altyn K. Rysbekova** – Microbiologist at the Laboratory of Molecular Diagnostics and Genetics, M. Aikimbaev's Kazakh Scientific Centre for Quarantine and Zoonotic Diseases, e-mail: rysbekova23@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8684-3425>
- Veronika P. Sadowskaya** – Head of the Laboratory, M. Aikimbaev's Kazakh Scientific Centre for Quarantine and Zoonotic Diseases, e-mail: versadovskaya@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8389-9362>
- Aidyn B. Eszhanov** – PhD, Leading Research Officer at the Laboratory of Zoology and Parasitology with Museum and Insectarium, M. Aikimbaev's Kazakh Scientific Centre for Quarantine and Zoonotic Diseases, e-mail: aidyn.eszhanov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-6572-5668>
- Irina B. Utepova** – Cand. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Laboratory of Biosecurity and Biological Control, M. Aikimbaev's Kazakh Scientific Centre for Quarantine and Zoonotic Diseases, e-mail: utepib@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8088-638X>
- Almas T. Berdibekov** – Head, Taldykorgan Anti-Plague Station, e-mail: almas_74_18@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8296-8362>
- Maksim V. Kulemin** – Head of the Laboratory of Epizootiology and Prevention of Highly Infectious Diseases, Shymkent Anti-Plague Station, e-mail: kmaxim.75@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8839-9276>
- Zhandyldyk U. Katuova** – Zoologist, Aktyubinsk Anti-Plague Station, e-mail: katuova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5210-5347>
- Bakyt B. Atshabar** – Dr. Sc. (Med.), Chief Research Officer, M. Aikimbaev's Kazakh Scientific Centre for Quarantine and Zoonotic Diseases, e-mail: batshabar@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-5533-8805>

Статья получена: 13.03.2019. Статья принята: 04.09.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.
Received: 13.03.2019. Accepted: 04.09.2019. Published: 26.10.2019.

Формат 60×84/8. Бумага офсетная.

Сдано в набор 22.10.2019. Подписано в печать 25.10.2019. Опубликовано 26.10.2019.
Печ. л. 17,9. Усл. печ. л. 16,6. Уч. изд. л. 14,9. Зак. 044-19. Тир. 500.

Отпечатано в редакционно-издательском отделе ИНЦХТ.
Адрес типографии: 664003, Иркутск, ул. Борцов Революции, 1.
Тел. 29-03-37, 29-03-70. E-mail: arleon58@gmail.com

