

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



ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

(East Siberian Biomedical Journal)

2020

Tom 5

№ 6

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



ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

(East Siberian Biomedical Journal)

Том 5

№6

2020

ИРКУТСК

Главный редактор

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

Зам. главного редактора

Рычкова Л.В., член-корр. 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., член-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); Кривошапкин А.Л., член-корр. РАН. (Россия, Москва); Мазуцава Т., доктор наук, профессор (Япония, Чита); Макаров Л.М., д.м.н., профессор (Россия, Москва); Малышев В.В., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск); Манчук В.Т., член-корр. РАН (Россия, Красноярск); Огарков О.Б., д.м.н. (Россия, Иркутск); Осипова Е.В., д.б.н., профессор (Россия, Иркутск); Петрова А.Г., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск); Плеханов А.Н., д.м.н. (Россия, Улан-Удэ); Погодина А.В., д.м.н. (Россия, Иркутск); Протопопова Н.В., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск); Прохоренко В.М., д.м.н., профессор (Россия, Новосибирск); Савченков М.Ф., академик РАН (Россия, Иркутск); Саяев Р.К., член-корр. РАН (Россия, Иркутск); Сутурина Л.В., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск); Сэргэлэн О., д.м.н. профессор (Монголия, Улан-Батор); Такакура К., доктор наук, профессор (Япония, Токио); Уварова Е.В., д.м.н., профессор (Россия, Москва); Хохлов А.Л., член-корр. РАН (Россия, Ярославль); Эпштейн О.И., член-корр. РАН (Россия, Москва); Янг Йонгхонг, иностранный член РАН (Китай, Пекин).

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 ВИНТИ. Сведения о журнале публикуются в международной справочной системе по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals Directory».

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

Двухлетний импакт-фактор РИНЦ 2018 г. – 0,384.

Подписной индекс 24347. Цена издания свободная.

ISSN 2541-9420 (Print)

ISSN 2587-9596 (Online)

Ключевое название: *Acta Biomedica Scientifica*

© ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», 2020 г.

© Оригинал-макет РИО ИНЦХТ, 2020 г.

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



ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

(East Siberian Biomedical Journal)

Vol. 5

N6

2020

IRKUTSK

Chief Editor

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

Deputy Chief Editor

Rychkova L.V., Corresponding Member 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); Krivoshapkin A.L., Corresponding Member of RAS (Russia, Moscow) 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); Prokhorenko 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); Epshtein O.I., Corresponding Member of RAS (Russia, Moscow); Yang Yonghong, Foreign Member of the RAS, (China, Beijing).

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: journallirk@gmail.com

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

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

Acta Biomedica Scientifica has been founded in 1993.

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 2018 – 0,384.

Subscription index 24347. Free price.

ISSN (Print) 2541-9420

ISSN (Online) 2587-9596

Key title: Acta Biomedica Scientifica

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

- Молекулярные механизмы функционирования эндометрия у женщин с синдромом поликистозных яичников. *Самбялова А.Ю.* 9
- Особенности функционального состояния гипофизарно-овариально-надпочечниковой системы и процессов ПОЛ–АОЗ у женщин с синдромом поликистозных яичников в раннем репродуктивном периоде. *Круско О.В., Рашидова М.А., Бричагина А.С., Шарифулин Э.М., Беленькая Л.В.* 20
- Особенности хронического эндометрита у женщин репродуктивного возраста с синдромом поликистозных яичников. *Шарифулин Э.М., Изумнов И.А., Круско О.В., Аталян А.В., Сутурина Л.В.* 27
- Преждевременная недостаточность яичников в популяционной выборке женщин Прибайкальского региона: распространённость и возрастные особенности. *Салимова М.Д., Наделяева Я.Г.* 37
- Современные представления о клинико-диагностических критериях преждевременной недостаточности яичников (обзор литературы). *Салимова М.Д., Наделяева Я.Г., Данусевич И.Н.* 42

ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ

- Современное представление о кишечной микробиоте у пациентов с сахарным диабетом. *Чугунова Е.В., Даренская М.А.* 51

ГЕНЕТИКА, ПРОТЕОМИКА И МЕТАБОЛОМИКА

- Ассоциации полиморфизмов гена интерлейкина-10 с язвенным колитом. *Жилин И.В., Чашкова Е.Ю., Жилина А.А., Марковский А.В., Ким А.Д.* 58

ДИСКУССИОННЫЕ СТАТЬИ, ЛЕКЦИИ, НОВЫЕ ТРЕНДЫ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ

- Клеточные технологии в травматологии: от клетки до тканевой инженерии. *Дремина Н.Н., Трухан И.С., Шурыгина И.А.* 66

ЛЕКЦИИ

- Роль лизосом в онкогенезе: акцент на деградацию внеклеточного матрикса. *Трухан И.С., Дремина Н.Н., Шурыгина И.А.* 77

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

- Идентификация возбудителей инфекционных заболеваний при совместном использовании бактериологической диагностики и MALDI Biotyper. *Воропаева Н.М., Белькова Н.Л., Немченко У.М., Григорова Е.В., Кунгурцева Е.А., Носкова О.А., Чemezova Н.Н., Савилов Е.Д.* 88
- Карбапенемы как фактор устойчивости к антибактериальным препаратам. *Невежина А.В.* 95

OBSTETRICS AND GYNECOLOGY

- Molecular Mechanisms of Endometrial Functioning in Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Sambyalova A.Yu.*
- Features of the Functional State of the Hypophysis-Ovarian System and Processes of Lipid Peroxidation – Antioxidant Protection in Women with Hyperandrogenism of Ovary Genesis in the Early Reproductive Period. *Krusko O.V., Rashidova M.A., Brichagina A.S., Sharifulin E.M., Belenkaya L.V.*
- Features of Chronic Endometritis in Women of Reproductive Age with Polycystic Ovary Syndrome. *Sharifulin E.M., Igumnov I.A., Krusko O.V., Atalyan A.V., Suturina L.V.*
- Premature Ovarian Insufficiency in a Popular Sample of Women in the Pribaykalsky Region: Prevalence and Age Features. *Salimova M.D., Nadelyaeva Ya.G.*
- Modern Concepts of Clinical and Diagnostic Criteria for Premature Ovarian Failure (Literature Review). *Salimova M.D., Nadelyaeva Y.G., Danusevich I.N.*

INTERNAL DISEASES

- Modern Understanding of the Gut Microbiota in Patients with Diabetes Mellitus. *Chugunova E.V., Darenkaya M.A.*

GENETICS, PROTEOMICS AND METABOLOMICS

- Association of Interleukin-10 Gene Polymorphisms with Ulcerative Colitis. *Zhilin I.V., Chashkova E.Yu., Zhilina A.A., Markovskiy A.V., Kim A.D.*

DISCUSSION PAPERS, LECTURES, NEW TRENDS IN MEDICAL SCIENCE

- Cellular Technologies in Traumatology: from Cells to Tissue Engineering. *Dremina N.N., Trukhan I.S., Shurygina I.A.*

LECTURES

- The Role of Lysosomes in the Cancer Progression: Focus on the Extracellular Matrix Degradation. *Trukhan I.S., Dremina N.N., Shurygina I.A.*

MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

- Identification of Infectious Diseases Patterns in the Combined Use of Bacteriological Diagnostics and MALDI Biotyper. *Voropaeva N.M., Belkova N.L., Nemchenko U.M., Grigorova E.V., Kungurtseva E.A., Noskova O.A., Chemezova N.N., Savilov E.D.*
- Carbapenemases as Factors of Resistance to Antibacterial Drugs. *Nevezhina A.V.*

Особенности состава микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами. Григорова Е.В., Рычкова Л.В., Шолохов Л.Ф., Белькова Н.Л., Немченко У.М., Кунгурцева Е.А., Воронаева Н.М., Савелькаева М.В.

106

Features of the Composition of the Colon Microbiota in Children of the First Year of Life with Functional Gastrointestinal Disorders. Grigorova E.V., Rychkova L.V., Sholokhov L.F., Belkova N.L., Nemchenko U.M., Kungurtseva E.A., Voropaeva N.M., Savelkaeva M.V.

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ

Активность генов рецепторов к паратиреоидному гормону в биоптатах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне. Родионова Л.В., Самойлова Л.Г., Сороковиков В.А.

113

Activity of Parathyroid Hormone Receptor Genes in *Ligamentum Flavum* Biopsies of Patients with Spinal Canal and Dural Sac Stenosis at the Lumbar Level. Rodionova L.V., Samoilova L.G., Sorokovikov V.A.

Активность реакций липопероксидации – антиоксидантной защиты у больных с ВИЧ-инфекцией (обзор). Никитина О.А.

124

Activity of Lipoperoxidation – Antioxidant Protection Reactions in Patients with HIV Infection (Review). Nikitina O.A.

Система глутатиона при нарушениях сна (обзор литературы). Бричагина А.С., Семёнова Н.В., Мадаева И.М.

133

Glutathione System in Sleep Disorders (Literature Review). Brichagina A.S., Semenova N.V., Madaeva I.M.

НЕВРОЛОГИЯ И НЕЙРОХИРУРГИЯ

Исследование интраоперационных биоптатов *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала методом полимеразной цепной реакции. Родионова Л.В., Самойлова Л.Г., Богородская С.Л., Горохова В.Г., Сороковиков В.А.

144

Molecular Genetic Studies of Intraoperative *Ligamentum Flavum* Biopsies of Patients with Spinal Canal Stenosis. Rodionova L.V., Samoilova L.G., Bogorodskaya S.L., Gorokhova V.G., Sorokovikov V.A.

Мультиспиральная компьютерная томография в оценке сроков формирования острых травматических внутричерепных гематом. Семенов А.В., Крылов В.В., Сороковиков В.А., Галеева О.П.

151

Multispiral Computed Tomography in the Assessment of the Timing of Acute Traumatic Intracranial Hematoma. Semenov A.V., Krylov V.V., Sorokovikov V.A., Galeeva O.P.

Одномоментное тотальное удаление шванномы спинного мозга типа «песочные часы» с распространением в грудную клетку из заднего паравертебрального доступа без вскрытия плевральной полости (клиническое наблюдение). Васильев И.А., Пендюрин И.В., Бузунов А.В., Цветовский С.Б., Ступак Е.В., Ступак В.В.

157

An Hourglass-Type Spinal Schwannoma Spreading to the Chest Treated with One-Stage Total Removal through Posterior Paravertebral Approach without Opening the Pleural Cavity (Clinical Observation). Vasilyev I.A., Pendyurin I.V., Buzunov A.V., Tsvetovskiy S.B., Stupak E.V., Stupak V.V.

Хирургическое лечение поражения Андерссона при анкилозирующем спондилите, возникшего после корригирующей вертебротомии в отдалённом периоде (клинический случай). Рерих В.В., Дубинин Е.В.

165

Surgical Treatment of Andersson's Lesion in Ankylosing Spondylitis after Corrective Vertebrotoomy in the Long Term (Clinical Observation). Rerikh V.V., Dubinin E.V.

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ

Дифференциальная реорганизация структурных элементов иридоцилиарной и перилентикулярной зоны в формировании гидродинамических блоков. Щуко А.Г., Новожилова Е.Т., Розанова О.И., Шолохов Л.Ф.

171

Differential Reorganization of Structural Elements of the Iridociliary and Perenticular Zones in the Hydrodynamic Blocks Formation. Shchuko A.G., Novozhilova E.T., Rozanova O.I., Sholokhov L.F.

ПЕДИАТРИЯ

Подросток с ожирением: социально-психологический портрет. Романица А.И., Поляков В.М., Погодина А.В., Мясичев Н.А., Климкина Ю.Н., Рычкова Л.В.

179

Obese Adolescent: Social and Psychological Portrait. Romanitsa A.I., Polyakov V.M., Pogodina A.V., Myasishchev N.A., Klimkina Yu.N., Rychkova L.V.

ПСИХОЛОГИЯ И ПСИХИАТРИЯ

Развитие стратегий совладающего поведения: основные подходы. Кузьмин М.Ю., Сутурина Л.В.

188

The Development of Coping Strategies: Main Approaches. Kuzmin M.Yu., Sutura L.V.

MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

Activity of Parathyroid Hormone Receptor Genes in *Ligamentum Flavum* Biopsies of Patients with Spinal Canal and Dural Sac Stenosis at the Lumbar Level. Rodionova L.V., Samoilova L.G., Sorokovikov V.A.

Activity of Lipoperoxidation – Antioxidant Protection Reactions in Patients with HIV Infection (Review). Nikitina O.A.

Glutathione System in Sleep Disorders (Literature Review). Brichagina A.S., Semenova N.V., Madaeva I.M.

NEUROLOGY AND NEUROSURGERY

Molecular Genetic Studies of Intraoperative *Ligamentum Flavum* Biopsies of Patients with Spinal Canal Stenosis. Rodionova L.V., Samoilova L.G., Bogorodskaya S.L., Gorokhova V.G., Sorokovikov V.A.

Multispiral Computed Tomography in the Assessment of the Timing of Acute Traumatic Intracranial Hematoma. Semenov A.V., Krylov V.V., Sorokovikov V.A., Galeeva O.P.

An Hourglass-Type Spinal Schwannoma Spreading to the Chest Treated with One-Stage Total Removal through Posterior Paravertebral Approach without Opening the Pleural Cavity (Clinical Observation). Vasilyev I.A., Pendyurin I.V., Buzunov A.V., Tsvetovskiy S.B., Stupak E.V., Stupak V.V.

Surgical Treatment of Andersson's Lesion in Ankylosing Spondylitis after Corrective Vertebrotoomy in the Long Term (Clinical Observation). Rerikh V.V., Dubinin E.V.

OPHTHALMOLOGY

Differential Reorganization of Structural Elements of the Iridociliary and Perenticular Zones in the Hydrodynamic Blocks Formation. Shchuko A.G., Novozhilova E.T., Rozanova O.I., Sholokhov L.F.

PEDIATRICS

Obese Adolescent: Social and Psychological Portrait. Romanitsa A.I., Polyakov V.M., Pogodina A.V., Myasishchev N.A., Klimkina Yu.N., Rychkova L.V.

PSYCHOLOGY AND PSYCHIATRY

The Development of Coping Strategies: Main Approaches. Kuzmin M.Yu., Sutura L.V.

ТРАВМАТОЛОГИЯ

- Артроскопически-ассоциированная транспозиция широчайшей мышцы спины при лечении пациентов с массивными разрывами вращательной манжеты плеча (клинический случай). Пономаренко Н.С., Монастырёв В.В., Куклин И.А., Меньшова Д.В. 194
- Использование алгоритма выбора хирургической тактики при перипротезной инфекции крупных суставов. Гришчук А.Н., Леонова С.Н., Камека А.Л. 199
- Использование аутотрансплантата из диафиза малоберцовой кости при хирургическом лечении пациентов с переломами проксимального отдела плечевой кости на фоне критического остеопороза. Монастырёв В.В., Пономаренко Н.С., Тишков Н.В. 205
- Комбинированный чрескостный остеосинтез перелома диафиза плечевой кости при нарушениях репаративного процесса (клинический случай). Тишков Н.В. 211
- Лечение пациентов с повреждениями вращательной манжеты плеча (обзор литературы). Меньшова Д.В., Куклин И.А., Пономаренко Н.С. 216
- Применение комбинированного остеосинтеза в практике травматолога при диафизарных повреждениях предплечья. Пусева М.Э., Бутаев Ч.З., Рудаков А.Н. 224
- Применение нового способа подготовки аутотрансплантата для пластики передней крестообразной связки. Леонова С.Н., Монастырёв В.В., Пономаренко Н.С. 230
- Проблемы хирургического лечения молоткообразной деформации пальцев стопы (обзор литературы). Косарева М.А., Леонова С.Н. 235
- Способ хирургического лечения молоткообразной деформации второго пальца стопы. Леонова С.Н., Усольцев И.В., Косарева М.А. 243

ХИРУРГИЯ

- Успешный опыт применения фекальной трансплантации у пациентки с тяжёлым псевдомембранозным колитом. Шедоева Л.Р., Чашкова Е.Ю., Рубцов А.С. 248

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Вовлечение ERK MAPK каскада в формирование спаечного процесса в брюшной полости. Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Родионова Л.В., Чепурных Е.Е., Аюшинова Н.И. 254
- Изменение формы дурального мешка на модели ламинэктомии на разных сроках репаративного процесса в эксперименте. Гольдберг О.А., Животенко А.П., Самойлова Л.Г., Сороковиков В.А., Шурыгина И.А. 259
- К механизму адреналинового повреждения сердечной ткани и механизму кардиопротекции неонатальными, ксеногенными, сердечными клетками. динамика креатинфосфата, лактата и малонового диальдегида. Богородская С.Л., Рунович А.А. 265
- Особенности репродукции вируса клещевого энцефалита в новой перевиваемой линии клеток сибирской ночницы *Myotis sibiricus* (Kastschenko, 1905). Ляпунова Н.А., Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А. 271

TRAUMATOLOGY

- Arthroscopically Assisted Transposition of the Latissimus Dorsi in the Treatment of Patients with Massive Ruptures of the Rotator Cuff (Clinical Observation). Ponomarenko N.S., Monastyrev V.V., Kuklin I.A., Menshova D.V.
- Using an Algorithm to Choose the Surgical Tactics for the Treatment of Periprosthetic Infection of Large Joints. Grishchuk A.N., Leonova S.N., Kameka A.L.
- Using an Autograft from the Fibula Diaphysis in the Surgical Treatment of Patients with Fractures of the Proximal Humerus on the Background of Critical Osteoporosis. Monastyrev V.V., Ponomarenko N.S., Tishkov N.V.
- Combined Transosseous Osteosynthesis of Fracture of Humerus Diaphysis in Case of Reparative Process Disorder (Clinical Observation). Tishkov N.V.
- Treatment of Patients with Rotator Cuff Injuries (Review of Literature). Menshova D.V., Kuklin I.A., Ponomarenko N.S.
- Using Combined Osteosynthesis in Trauma Practice in the Treatment of Diaphyseal Forearm Injuries. Puseva M.E., Butaev Ch.Z., Rudakov A.N.
- Using a New Method for Preparing an Autograft for Anterior Cruciate Ligament Plasty. Leonova S.N., Monastyrev V.V., Ponomarenko N.S.
- Problems of Surgical Treatment of Hammer Toes (Review of Literature). Kosareva M.A., Leonova S.N.
- Method for Surgical Treatment of Hammer Deformity of the Second Toe. Leonova S.N., Usoltsev I.V., Kosareva M.A.

SURGERY

- Successful Experience of Fecal Transplantation in a Patient with Severe Pseudomembranous Colitis. Shedoeva L.R., Chashkova E.Yu., Rubtsov A.S.

EXPERIMENTAL RESEARCHES

- Involvement of the ERK MAPK Cascade in the Formation of Adhesions in the Abdominal Cavity. Shurygina I.A., Shurygin M.G., Rodionova L.V., Chepurnykh E.E., Ayushinova N.I.
- Change of the Shape of the Dural Sac in the Laminectomy Model at Different Stages of the Reparation in the Experiment. Goldberg O.A., Zhivotenko A.P., Samoilova L.G., Sorokovikov V.A., Shurygina I.A.
- To the Mechanism of Adrenaline Damage to the Heart Tissue and the Mechanism of Cardioprotection by Neonatal, Xenogenic, Cardiac Cells. Dynamics of Creatine Phosphate, Lactate and Malondialdehyde. Bogorodskaya S.L., Runovich A.A.
- Features of Reproduction of Tick-Borne Encephalitis Virus in a New Cell Line of the Siberian Bat *Myotis sibiricus* (Kastschenko, 1905). Liapunova N.A., Khasnatinov M.A., Danchinova G.A.

Оценка эффективности воздействия VEGF на регенерацию передней поверхности трахеи в раннем послеоперационном периоде. *Курганский И.С., Лепехова С.А., Гольдберг О.А., Коробейникова Л.В., Иноземцев Е.О., Пивоваров Ю.И., Григорьев Е.Г.*

276

Evaluation of the Effectiveness of VEGF Effect on the Regeneration of the Anterior Tracheal Surface in the Early Postoperative Period. *Kurganskiy I.S., Lepekhova S.A., Goldberg O.A., Korobeynikova L.V., Inozemtsev E.O., Pivovarov Y.I., Grigoryev E.G.*

Способ изготовления лекарственной плёнки пролонгированного действия, содержащей VEGF. *Курганский И.С.*

282

A Method of Manufacturing a Long-Acting Medicinal Film Containing VEGF. *Kurganskiy I.S.*

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

Приверженность родителей и врачей г. Иркутска вакцинопрофилактике клещевого вирусного энцефалита. *Казанцева Е.Д., Петрова А.Г., Ваняркина А.С., Баянова Т.А., Новикова Е.А.*

286

EPIDEMIOLOGY

Commitment of Parents and Doctors of Irkutsk City to Vaccination against Tick-Borne Encephalitis. *Kazantseva E.D., Petrova A.G., Vanyarkina A.S., Bayanova T.A., Novikova E.A.*

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.1

Молекулярные механизмы функционирования эндометрия у женщин с синдромом поликистозных яичников*

Самбялова А.Ю.

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

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

Резюме

Эндокринологические и метаболические нарушения, проявляющиеся у женщин с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ), оказывают комплексное воздействие на эндометрий, приводя к низкой частоте имплантации эмбриона, увеличению частоты самопроизвольных выкидышей и бесплодию. Данный обзор даёт общее представление о молекулярных механизмах функционирования эндометрия у женщин с данной патологией. Проведённый анализ литературных данных показывает, что у женщин с СПКЯ наблюдаются изменения эффектов эстрогена и прогестерона в эндометрии, нарушение пространственной и временной экспрессии стероидных рецепторов. Изменения уровня экспрессии ERα и соотношения ERα : ERβ считаются основными факторами, лежащими в основе ряда гинекологических заболеваний, включая нарушение фертильности, гиперплазию и карциному эндометрия. Отсутствие индуцированной прогестероном PR-опосредованной пролиферации стромальных клеток может быть следствием резистентности к прогестерону, проявляющейся у женщин с СПКЯ, но не влияет на повышенную пролиферацию эпителиальных клеток. Дисбаланс в жировой ткани усугубляет повышение уровня эстрогенов и его патологические эффекты. Кроме того, ожирение и СПКЯ индуцируют провоспалительную среду, увеличивая изменения в сигнальном пути инсулина. Гиперандрогения и гиперинсулинемия приводят к нарушению процессов клеточной пролиферации и апоптоза, влияют на трансдукцию инсулинового сигнала и метаболизм глюкозы, нарушая энергетический гомеостаз эндометрия. Воспаление и окислительный стресс в эндометрии тесно связаны между собой и приводят к усилению патологических изменений в эндометрии. Выявление молекулярных механизмов, лежащих в основе инициации и развития гиперплазии, а также снижения фертильности эндометрия в условиях СПКЯ, даст возможность разработать новые методы профилактики, диагностики и лечения пациенток с риском развития рака эндометрия и бесплодия.

Ключевые слова: эндометрий, синдром поликистозных яичников, СПКЯ, бесплодие, децидуализация, экспрессия генов

Для цитирования: Самбялова А.Ю. Молекулярные механизмы функционирования эндометрия у женщин с синдромом поликистозных яичников. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 9-19. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.1.

Molecular Mechanisms of Endometrial Functioning in Women with Polycystic Ovary Syndrome

Sambyalova A.Yu.

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

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

Abstract

Endocrinologic and metabolic abnormalities in polycystic ovary syndrome (PCOS) may have complex effects on the endometrium, contributing to the infertility and endometrial disorders observed in women with this syndrome. The consequences of PCOS on endometrial homeostasis and pathophysiology have not been comprehensively understood. This review provides an overview of the molecular mechanisms of endometrial function in women with this pathology. Analysis of the literature data found that women with PCOS have changes in the effects of estrogen and progesterone in the endometrium, violation of the spatial and temporal expression of steroid receptors. In PCOS impaired follicle maturation and consequent anovulation cause a chronic progesterone-deficient state that affects the endometrial milieu. Furthermore, even with ovulation (and thus progesterone acting on endometrium), the PCOS endometrium has several abnormalities including altered expression pattern of receptivity markers during the period of implantation and glucose transporter 4 (GLUT4) expression as well as progesterone-resistance. These pathological phenomena explain the possible mechanisms of increasing endometrial cell proliferation. An imbal-

* Статья опубликована по материалам доклада на IV Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 16 октября 2020 года).

ance in adipose tissue worsens the increase in estrogen levels and its pathological effects. Hyperandrogenia and hyperinsulinemia lead to disruption of cellular proliferation and apoptosis, affect insulin signaling and glucose metabolism, disrupting endometrial energy homeostasis. Inflammation and oxidative stress in the endometrium are closely related, and lead to increased pathological changes in the endometrium. Inflammation can induce production of inflammatory cytokines in this syndrome and directly stimulates excess ovarian androgen production. The potential mechanisms underlying these disorders, specifically in women with PCOS, are complex and await additional transdisciplinary research for their complete elucidation.

Key words: polycystic ovary syndrome, endometrium, infertility, decidualization, gene expression

For citation: Sambyalova A.Yu. Molecular Mechanisms of Endometrial Functioning in Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 9-19. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.1.

ВВЕДЕНИЕ

Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) – это распространённая гетерогенная патология у женщин репродуктивного возраста, встречающаяся с частотой 5–10 % [1]. Согласно клиническим рекомендациям МЗ РФ по СПКЯ от 2016 г., ведущими признаками СПКЯ являются гиперандрогения, менструальная и/или овуляторная дисфункция и поликистозная морфология яичников [2]. Современная диагностика СПКЯ основана на критериях Европейского общества репродукции и эмбриологии человека и Американского общества репродуктивной медицины (ASRM/ESHRE) от 2003 г., а также на пересмотренных в 2012 г. критериях Национального института здоровья США (NIH). На основании критериев диагностики NIH от 2012 г. выделяют четыре фенотипа СПКЯ: фенотип А (классический) – наличие гиперандрогении (ГА), хронической ановуляции (АНО), ультразвуковых признаков поликистозных яичников (ПКЯ) (ГА + АНО + ПКЯ); фенотип В (ановуляторный) – сочетание ГА и АНО, но без ПКЯ (ГА + АНО); фенотип С (овуляторный) – присутствие ГА и ПКЯ, но при регулярном овуляторном цикле (ГА + ПКЯ); фенотип D (неандрогенный) – при хронической АНО и ПКЯ, но без клинических или биохимических проявлений ГА (АНО + ПКЯ) [3, 4]. Женщины с СПКЯ имеют высокий риск развития сопутствующих заболеваний, связанных с метаболической и эндокринологической дисфункцией, которые определяют фенотипы заболевания [5, 6, 7, 8]. Бесплодие является важной проблемой для женщин с СПКЯ, и считается, что ановуляция – самая очевидная его причина. Существуют данные, что патологические изменения, возникающие в эндометрии, вносят свой вклад в развитие бесплодия [9]. Хроническая ановуляция приводит к тому, что эндометрий у женщин с СПКЯ подвергается повышенному риску развития гиперплазии и рака [3]. Морфофункциональные изменения эндометрия подтверждаются гистологически в исследованиях, проведённых у женщин с СПКЯ [10]. Таким образом, существует всё больше доказательств того, что эндокринологические и метаболические нарушения при СПКЯ могут оказывать комплексное воздействие на эндометрий, способствуя морфофункциональным изменениям в эндометрии, приводящим к невынашиванию, увеличению частоты выкидышей, нарушению маточной рецептивности во время имплантации, гиперплазии и раку эндометрия. В настоящем обзоре рассматриваются некоторые аспекты функционирования эндометрия у женщин с СПКЯ.

РАЗДЕЛ 1.

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ЭНДОМЕТРИЯ В НОРМЕ

Эндометрий человека – это сложная гормонозависимая ткань, клеточные компоненты которой пред-

ставлены эпителиальными, стромальными и иммунными клетками, а также кровеносными сосудами [11]. Он функционально разделён на два слоя – поверхностный функциональный и более глубокий базальный. Функциональный слой состоит из люминального эпителия, поверхностного железистого эпителия и стромы, который каждый месяц полностью отторгается и восстанавливается во время менструального цикла и после родов. В свою очередь базальный слой примыкает к миометрию, и за счёт этого слоя происходит восстановление функционального слоя эндометрия. Под воздействием стероидных гормонов эндометрий претерпевает циклические изменения в процессах роста, дифференцировки и апоптоза клеток [12]. В фолликулярной фазе, когда происходит рост и созревание фолликулов в яичниках, повышается уровень циркулирующего эстрадиола, который оказывает пролиферативное действие на клетки эндометрия, способствуя росту ткани эндометрия [13]. S. Talbi et al. в 2006 г. показали профиль экспрессии генов в фолликулярную фазу, которые свидетельствуют о репликации ДНК, пролиферации клеток и ремоделировании тканей эндометрия [14]. Эстроген вызывает множество различных реакций в женских репродуктивных тканях, включая яичники и матку, а также в других тканях, таких как мозг, жировая ткань и печень. Хорошо известно, что многие эффекты эстрогенов опосредуются связыванием с двумя ядерными рецепторами эстрогенов (estrogen receptor, ER) – ER α и ER β , которые одновременно являются ядерными рецепторами и транскрипционными факторами. Две изоформы рецепторов ER α и ER β имеют общие структурные и функциональные домены, но различаются степенью экспрессии в эпителиальных и стромальных клетках эндометрия во время менструального цикла. ER α представляет собой наиболее экспрессируемый рецепторный тип в эпителиальных и стромальных клетках эндометрия во время менструального цикла, тогда как ER β обнаруживается преимущественно в стромальных клетках эндометрия в поздней секреторной фазе. По принципу каскадного механизма возрастающая концентрация циркулирующего эстрадиола увеличивает экспрессию ER α и ER β , что в свою очередь через связывание и активацию ER α с эстрадиолом увеличивает экспрессию рецепторов прогестерона (progesterone receptor, PR) [15]. После овуляции жёлтое тело выделяет высокий уровень прогестерона, который через PR оказывает противоположное действие на эндометрий, ингибируя пролиферацию клеток, синтез ДНК, подавляя митотическую активность клеток. Следует отметить, что PR имеет, по меньшей мере, две изоформы – PR α и PR β , которые регулируют транскрипцию генов-мишеней [16]. Две изоформы рецептора прогестерона не являются функционально

эквивалентными, и при коэкспрессии в клетках эндометрия PR α проявляет транскрипционное ингибирование PR β [17]. С помощью специфичных генов прогестерон снижает экспрессию ER и индуцирует метаболизм эстрогенов с помощью ферментов сульфотрансферазы и 17 β -гидроксистероиддегидрогеназы (HSD), которые снижают эффекты эстрогена в эпителиальной ткани [14]. Прогестерон регулирует рецептор андрогена (androgen receptor, AR) в эпителиальных и стромальных клетках. Самым главным эффектом прогестерона является поддержание восприимчивости эндометрия к оплодотворению через 7–10 дней после овуляции во временном периоде, называемом «окном имплантации». Во время секреторной фазы менструального цикла (после овуляции до менструации) прогестерон действует на эндометрий, который находится под влиянием эстрогенов. Это вызывает децидуализацию – преобразование удлиненных стромальных клеток эндометрия в сферические децидуальные клетки [18]. Децидуализация инициируется циклическим аденозинмонофосфатом (цАМФ) и начинается в периваскулярных стромальных клетках, прежде чем распространиться на другие клетки через стромальный компартмент. Этот процесс запускают или усиливают пролактин, инсулиноподобные факторы роста (insulinlike growth factors, IGFs), IGF-связывающие белки (IGF binding proteins, IGFbps), рецепторы инсулина, релаксин и др. [13]. Децидуализация эндометрия – важный процесс для скоординированной регуляции инвазии трофобласта и формирования плаценты за счёт создания цитокиновой среды в стромальных клетках при имплантации эмбриона [19]. При отсутствии эмбриональной имплантации снижение концентрации противовоспалительных эффектов эстрадиола и прогестерона инициирует местную воспалительную реакцию в эндометрии, включающую инфильтрацию лейкоцитов, высвобождение цитокинов, отёк и активацию матричных металлопротеиназ и простагландинов, что приводит к десквамации тканей эндометрия и менструации [20]. Данный воспалительный процесс в эндометрии во время менструации физиологичен и регулируется клетками эндометрия, чтобы предотвратить потерю его функции [21]. Во время менструации в эндометрии увеличиваются медиаторы воспаления, такие как циклооксигеназа-2 (ЦОГ-2), интерлейкин-8 (ИЛ-8) и ядерный транскрипционный фактор NF-kB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells – ядерный фактор «каппа-би») [22].

Таким образом, циклический эндометрий демонстрирует серию периодических переходов, уникальных для этой слизистой ткани, которые включают пролиферацию клеток, секреторную трансформацию, физиологический ангиогенез, интерстициальный отёк и менструальное кровотечение с отторжением функционального слоя. К числу таких свойств эндометрия относят воспалительные изменения, которые происходят динамически в течение всего менструального цикла. Иммунокомпетентный состав клеток и характер экспрессии воспалительных генов в эндометрии человека циклически изменяются от пролиферативной фазы к секреторной фазе, особенно в период овуляции. Указанные местные иммунные реакции регулируются стероидными гормонами яичников – эстрадиолом и прогестероном, которые необходимы для успешной имплантации бластоцисты.

РАЗДЕЛ 2.

ВЛИЯНИЕ АНОВУЛЯЦИИ ИЛИ ГИПООВУЛЯЦИИ НА ЭНДОМЕТРИЙ

У больных с СПКЯ на фоне гипо- или ановуляции наблюдается нарушение регуляции гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси, которое приводит к постоянному повышенному уровню эстрадиола, сравнимому с ранней фолликулярной фазой [23]. Это приводит к недостаточному регуляторному снижению уровней эстрадиола и прогестерона и, как следствие, к избыточной пролиферации клеток, дифференцировке и десквамации эндометрия. Прямые доказательства существенной роли сигнального пути эстрогена в физиологии матки и её заболеваниях дают различные исследования нокаута и мутаций ER у мышей и крыс. Продемонстрировано, что самки ER α β -/- и ER α -/- мышей и самки ER α -/- крыс нечувствительны к стимуляции эстрадиолом и проявляют гипоплазию матки и бесплодие, что в отличие от потери ER β -/- у самок мышей приводит к субфертильности [24, 25]. У женщин с СПКЯ коэкспрессия ER α и ER β ниже и обнаруживается преимущественно в ядре эпителиальных клеток эндометрия. Эндометриальная экспрессия мембранного рецептора эстрогенов GPR30 (G protein-coupled receptor – рецептор, сопряжённый с G-белком), ER α и ER β снижена во время «окна имплантации» у больных с СПКЯ и сопровождается нарушением маточной рецептивности, увеличением частоты выкидышей [26]. Таким образом, изменения уровня экспрессии ER α и соотношения ER α : ER β считаются основными факторами, лежащими в основе ряда гинекологических заболеваний, включая нарушение фертильности, гиперплазию и карциному эндометрия. Одну из возможных причин возникновения гиперплазии демонстрируют результаты исследования T. Wang et al., которые показывают, что снижение гликолиза и повышение митохондриальной активности в клетках эндометрия могут способствовать возникновению ER α -зависимой гиперплазии эндометрия [27]. Необходимо учитывать, что через связывание и активацию ER α с эстрадиолом увеличивается экспрессия рецепторов прогестерона. Имеются исследования, которые описывают нарушение прогестеронового ответа в эндометрии у женщин с СПКЯ, но мало что известно о молекулярных механизмах, лежащих в основе эндометриальной резистентности к прогестерону [28]. Резистентность к прогестерону определяется как наличие сниженной чувствительности тканей-мишеней к биодоступному прогестерону [29]. Известно, что женщины с СПКЯ имеют резистентность к прогестерону [28, 29], и экспрессия рецептора прогестерона в эндометрии у ановуляторных женщин с СПКЯ выше, чем у овуляторных пациенток с СПКЯ [30]. Существуют данные, что женщины с СПКЯ демонстрируют более высокую экспрессию PR в эпителиальных клетках, чем в стромальных клетках [31]. Эти результаты и тот факт, что исследования на животных показывают, что функциональные стромальные клетки необходимы для пролиферации и дифференцировки эпителиальных клеток в матке [32], могут объяснить, почему у пациенток с СПКЯ наблюдается повышенная пролиферация эпителия. Важно отметить, что в стромальных клетках больных с СПКЯ повышенная общая экспрессия рецептора прогестерона ассоциируется со снижением экспрессии маркера пролиферации клеток – Ki-67 [33]. Повышенная экспрессия обеих изоформ PR зависит от наличия СПКЯ и свидетель-

стует о том, что нарушенная регуляция изоформ PR является патологическим исходом дефектного эндометрия у больных с СПКЯ [34]. Одним из механизмов развития бесплодия у женщин с СПКЯ является нарушение экспрессии прогестерон-регулируемого муцина 1 (MUC1), который имеет селективные лиганды, распознаваемые человеческой бластоцистой, и экспрессируется в эндометрии фертильных женщин. Изменённая экспрессия MUC1 во время имплантации эмбриона может способствовать снижению восприимчивости эндометрия и бесплодию. Результаты работы L. Margarit et al., проведённой в 2010 г., свидетельствуют о том, что экспрессия внеклеточной субъединицы MUC1-ND (extracellular domain ND) значительно выше при овulatoryном типе СПКЯ, чем при фертильном и ановуляторном, даже после стимуляции прогестероном. Экспрессия MUC1-ND и цитоплазматической субъединицы (cytoplasmic domain, CD) ниже при ановуляторном СПКЯ, чем у фертильных пациенток. Прогестерон регулирует экспрессию гидроксистероид-дегидрогеназы 1-го типа (HSD1), которая индуцирует метаболизм эстрогенов и уменьшает его эффекты в эпителиальной ткани. Экспрессия HSD1 значительно выше при ановуляторном СПКЯ, чем у фертильных пациенток [30]. Таким образом, эндометрий находится в состоянии относительно усиленного ответа на эстрадиол и не претерпевает последовательных изменений в экспрессии генов и связанных с ними биохимических процессах, которые приводят к нормальной клеточной пролиферации эндометрия, дифференцировке и десквамации тканей. В совокупности эти данные позволяют выдвинуть гипотезу о том, что отсутствие индуцированной прогестероном PR-опосредованной пролиферации стромальных клеток может быть следствием резистентности к прогестерону, проявляющейся у женщин с СПКЯ, но это не влияет на повышенную пролиферацию эпителиальных клеток.

РАЗДЕЛ 3. ГИПЕРАНДРОГЕНИЯ И ЭНДОМЕТРИЙ

Неясно, является ли более низкая восприимчивость женщин с СПКЯ следствием изменённого эффекта прогестерона или чрезмерной андрогенной (и/или инсулиновой) сигнализации. В модели мышей с СПКЯ продемонстрировано, что гиперандрогения способна изменять иммунные, окислительные, апоптотические и воспалительные состояния мышей, чья эндометриальная ткань остаётся в пролиферативной фазе [35]. Показано, что у женщин с СПКЯ экспрессия AR в эндометрии остаётся выше, чем у здоровых женщин [36]. Исследования демонстрируют, что повышенный уровень андрогенов в клетках с СПКЯ оказывают влияние на замедленную и неполную децидуальную трансформацию клеток эндометрия через AR-корегулятор MAGEA11 (melanoma-associated antigen 11 – меланома-ассоциированный антиген 11). Это известный усилитель эффектов AR, который конститутивно сверхэкспрессируется в течение всего менструального цикла у пациенток с СПКЯ, ко-локализован в ядре стромальной ткани и клеток СПКЯ и образует молекулярный комплекс с AR. Геномный анализ AR в стромальных клетках СПКЯ показал, что AR-мишени включают гены, участвующие в гибели клеток и апоптозе, а также гены, нарушающие их регуляцию при раке эндометрия [37]. Результаты эффектов гиперандрогении (ГА) у женщин с СПКЯ показывают достоверное

повышение уровня дегидроэпиандростерон-сульфата (ДГЭА-S), снижение уровня эстрадиола и прогестерона в ранней фолликулярной фазе, по сравнению с контрольной группой, и увеличение массы тела на 37,5 %. При гистологическом исследовании эндометрия на 5–7-й день менструального цикла наблюдается отставание пролиферативных изменений эндометрия, а у трети женщин гиперпластический процесс протекает на фоне снижения пролиферативной активности. При ГА наблюдается выраженное нарушение экспрессии рецепторов как эстрогенов, так и прогестерона в стромальных клетках на всех стадиях менструального цикла [38]. Микрочипы мРНК показали, что дигидротестостерон (ДГТ) дизрегулирует различные наборы генов, включая клеточный цикл и метаболизм глюкозы, в клетках с СПКЯ. ДГТ подавлял экспрессию GLUT1 (glucose transporter 1 – глюкозный транспортёр тип 1) и GLUT12, а также маркеров децидуализации, IGFBP1 и пролактина во время децидуализации *in vitro* [39]. Интересные данные получены в исследовании, где индекс свободного андрогена, уровень инсулина, индекс массы тела, но не индекс свободного эстрогена, отрицательно коррелировали с эндометриальной экспрессией транскрипционных факторов, регулирующих процессы аутофагии у больных СПКЯ. Аутофагия – процесс контролируемого клеточного «самосварения» – вовлечена в циклическое ремоделирование эндометрия человека. Уровни мРНК транскрипционного фактора FOXO1 (forkhead box protein O1) и нескольких молекул, участвующих в формировании аутофагосомы (Autophagy-related protein 13 – ATG13; retinoblastoma protein 1 – RB1), нуклеации аутофагосомы (ATG14, beclin 1, SH3 domain GRB2-like endophilin B1 – SH3GLB1), удлинении аутофагосомы (ATG3, ATG5, gamma-aminobutyric acid receptor-associated protein – GABARAP) и доставке убиквитинированных белков в аутофагосомы (sequestosome – SQSTM1), значительно снижаются при ановуляторном СПКЯ, по сравнению со здоровым эндометрием [40]. Эти данные свидетельствуют о том, что повышенная доступность андрогенов при СПКЯ связана со способностью снижать транскрипционную регуляцию аутофагии эндометрия. Одним из эффектов ГА является увеличение экспрессии цитохрома P450 в эндометриальной ткани, что на данный момент вызывает споры исследователей. Некоторые группы исследователей сообщают, что эндометрий у больных с СПКЯ проявляет повышенную экспрессию ароматазы P450, фермента, преобразующего тестостерон в эстрадиол, а стимуляция андрогенами усиливает синтез мРНК ароматазы P450 и продукцию эстрадиола в клетках эндометрия *in vitro* [41]. С другой стороны, K. Bacallao et al. в 2008 г. не обнаружили экспрессии генов или белков ароматазы P450 в эндометрии [42]. Таким образом, андрогенные рецепторы и коактиваторы стероидных рецепторов чрезмерно экспрессируются в эндометрии у женщин с СПКЯ. Наблюдается тесная корреляция между биохимической формой доминирования андрогенов, овulatoryной дисфункцией, иммуногистохимическим и морфологическим строением эндометрия. Гиперандрогенная среда влияет на профили экспрессии генов, включая наборы генов, участвующие в трансдукции инсулинового сигнала, клеточном цикле, метаболизме глюкозы и/или транспорте, в эндометрии человека и во время децидуализации *in vitro*. Усиленная MAGEA11 и AR-опосредованная транскрипционная

регуляция воздействует на процессы децидуализации эндометрия, впоследствии влияя на восприимчивость эндометрия у бесплодных женщин. MAGEA11 и AR чрезмерно экспрессируются у гиперандрогенных пациенток с СПКЯ и коррелируют с задержкой децидуализации в эндометрии. AR непосредственно регулирует уникальный набор генов, контролирующих дифференцировку генов.

РАЗДЕЛ 4.

ГИПЕРИНСУЛИНИЗМ И ЭНДОМЕТРИЙ

Гиперинсулинизм, характерная для ановуляторных женщин с СПКЯ, понижает регуляцию глобулина, связывающего половые гормоны (ГСПГ), который повышает уровень свободного тестостерона [43]. У женщин с СПКЯ также наблюдаются повышенные уровни концентрации инсулина в сыворотке крови и соотношения тестостерон/ГСПГ. Эти результаты и тот факт, что у женщин с СПКЯ наблюдается более низкий уровень IGFBP по сравнению со здоровыми контрольными группами, способствуют увеличению концентрации свободных IGF и тестостерона, что приводит к суперстимуляции эндометриальной ткани, теряющей циклическую десквамацию. Обнаружены сниженные уровни и активность нескольких молекул сигнального пути инсулина, таких как insulin receptor substrate-1 (IRS-1/AS160/PKC ζ). Одновременно индуцируется дефект синтеза и транслокация GLUT4 (glucose transporter type 4) на клеточную поверхность. Пероральное введение метформина (инсулинового сенситизатора) пациенткам с СПКЯ повышает уровень GLUT4 в эндометрии, улучшая фертильность этих пациенток. Ещё одной важной особенностью является высокий процент ожирения у женщин с СПКЯ; адипонектин является маркером ожирения и проявляет инсулино-сенситизирующее действие, снижаясь в плазме у тучных женщин с СПКЯ по аналогии с его эндометриальным уровнем, адипонектиновыми рецепторами и APPL1 (adaptor protein, phosphotyrosine interacting with PH domain and leucine zipper 1), молекулой-адаптером адипонектинового пути. Кроме того, ожирение и СПКЯ индуцируют провоспалительную среду, увеличивая изменения в сигнальном пути инсулина [44]. Дисбаланс в жировой ткани, проявляющийся у больных СПКЯ [45], повышает циркулирующие уровни эстрадиола и тестостерона. В исследовании M.H. Lee et al., проведённом в 2019 г., показано влияние патофизиологической среды СПКЯ на профили экспрессии генов, связанных с сигнализацией инсулина и стимулирующих транспортеры глюкозы (GLUT) в эндометрии человека и/или во время децидуализации *in vitro*. В результате продемонстрировано, что у пациенток с СПКЯ значительно повышены уровни мессенджерной РНК (мРНК) рецепторов инсулина IRS1 и IRS2. Кроме того, GLUT1 и GLUT12 были абберрантно увеличены. Хроническое воздействие инсулина или ДГТ абберрантно увеличивает фосфорилирование IRS1/IRS2 и уровни белков GLUT1 и GLUT12 в эндометрии с СПКЯ, исходя из чего можно предположить, что не только гиперинсулинемические, но и гиперандрогенные состояния влияют на сигнализацию инсулина и метаболизм глюкозы [39]. Возможным усугубляющим фактором развития инсулинорезистентности в эндометрии у женщин с СПКЯ является избыточный уровень кортизола, полученный в результате снижения уровня 11 β -HSD2 (11-бета-гидроксистероиддегидрогеназы тип 2), путём ингибирования

сигнального пути инсулина через индукцию экспрессии фермента PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10) [46].

РАЗДЕЛ 5.

ВОСПАЛЕНИЕ И ЭНДОМЕТРИЙ

Известно о тесной связи между СПКЯ и патологическим воспалением эндометрия. Более того, патологическое воспаление эндометрия возникает как у женщин с нормальным весом, так и у полных женщин с СПКЯ. Кроме того, экспрессия эндометриального транскрипционного фактора NF- κ B p65 положительно коррелирует с уровнем инсулина в сыворотке крови и ГА у женщин с избыточным весом при СПКЯ. Известно, что ожирение и ГА оказывают неблагоприятное воздействие как на развитие фолликулов, так и на эндометрий при синдроме поликистозных яичников. Инсулинорезистентность также вносит свой вклад в эту дилемму как причина или следствие и приводит к ухудшению клинической картины СПКЯ [47]. Одна из причин возникновения воспаления эндометрия – это окислительный стресс. Установлены нарушения процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) у женщин с различными патологиями репродуктивной системы, в том числе с СПКЯ [48–51]. Результаты L.I. Kolesnikova et al., полученные в 2017 г., показывают, что процессы ПОЛ у больных СПКЯ имеют компенсаторный характер и проявляются в повышении концентрации α -токоферола и ретинола и умеренном снижении активности супероксиддисмутазы [52]. Женщины с СПКЯ имеют повышенную концентрацию малонового диальдегида (МДА) и общего окислительного статуса по сравнению с контрольной группой. Уровни общей антиоксидантной ёмкости и тиоловых групп ниже при СПКЯ по сравнению с контролем. Пациентки с СПКЯ имеют более высокую концентрацию интерлейкинов (ИЛ-6, ИЛ-8) и фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α) по сравнению с контрольной группой. Концентрация ИЛ-10 ниже при СПКЯ по сравнению с контролем. Обнаружены значимые корреляции между концентрацией малонового диальдегида и общего окислительного статуса с ФНО- α и между уровнями ИЛ-6 и МДА, ИЛ-8 и общей антиоксидантной ёмкостью, ИЛ-10 и общего окислительного статуса, а также между уровнями ИЛ-10 и общей антиоксидантной ёмкости. Так и тиоловые группы отрицательно коррелируют с ФНО- α . Повышенный окислительный стресс при СПКЯ связан с воспалением, которые тесно связаны между собой. Воспаление может индуцировать выработку воспалительных цитокинов при этом синдроме и непосредственно стимулирует избыточную выработку андрогенов яичниками [53]. Эндометрий у женщин с СПКЯ характеризуется высоким уровнем ФНО- α и изменённой сигнализацией инсулина. Важно отметить, что ФНО- α и ИЛ-6 способствуют активации киназ S6K и JNK; ФНО- α увеличивает, а ИЛ-6 снижает уровень киназы фосфо-AKT-S473 [54]. Таким образом, провоспалительные цитокины в эндометрии негативно влияют на трансдукцию инсулинового сигнала по различным механизмам: ФНО- α способствует активации IRS1-инактивирующих киназ, тогда как ИЛ-6 снижает активацию IRS1 и AKT. Более того, при наличии ожирения и СПКЯ нарушение трансдукции инсулинового сигнала усугубляется. Эти эффекты могут объяснить нарушение репродуктивной функции эндометрия за счёт нарушения энергетического гомеостаза, наблюдаемые у женщин с ожирением и СПКЯ.

РАЗДЕЛ 6. ИМПЛАНТАЦИЯ И СПКЯ

Дисфункция яичников является очевидной причиной бесплодия у пациенток с СПКЯ. Бесплодие, вызванное дисфункцией яичников, возможно вылечить с помощью индукторов овуляции. Даже после того, как овуляция фармакологически восстановлена, пациентки показывают снижение частоты наступления беременности и демонстрируют более высокую частоту неудач имплантации эмбриона и самопроизвольного выкидыша. Гиперандрогения, инсулинорезистентность, ожирение и дислипидемия, характерные для СПКЯ, оказывают неблагоприятное влияние на процесс инвазии трофобласта и плацентации [55]. Предыдущие исследования показали, что транскрипционные факторы *homeobox protein NOXA10*, *NOXA-11* и *IGFBP1*, регулирующие клеточную дифференцировку, снижаются в течение секреторной фазы у пациенток с СПКЯ [56, 57]. Поэтому ановуляция – это не единственная причина бесплодия. Эндометриальная среда может быть связана с низкой фертильностью у женщин с СПКЯ. Ключевым фактором, определяющим адекватную восприимчивость эндометрия к имплантации эмбриона, является уровень эстрогена и прогестерона. Исследования показали, что некоторые гены имеют решающее значение для имплантации у мышей. На 4-й день беременности *Indian hedgehog (Ihh)*, являющийся сигнальной молекулой и медиатором действия прогестерона в матке, участвующий во взаимодействии между эпителиальными и стромальными клетками эндометрия, необходимый для имплантации эмбриона [58], экспрессируется на высоких уровнях в люминальном эпителии и железах эндометрия [59]. *SGK1* – киназа, участвующая в ионном транспорте в эпителии и выживании клеток, высоко экспрессируется при необъяснимом бесплодии, особенно в люминальном эпителии [60]. Транскрипционный фактор *MSX1 (Msh homeobox)* экспрессируется в эпителии матки в рецептивной фазе, и нокаут гена *MSX1* вызывает нарушение рецептивности матки [61]. *Hand2 (Heart- and neural crest derivatives-expressed protein 2)* является критическим регулятором маточной стромально-эпителиальной связи, который направляет правильную стероидную регуляцию, способствующую установлению беременности [62]. Кроме того, уровень фосфорилирования и ядерная транслокация *Stat3 (signal transducer and activator of transcription 3)* в люминальном эпителии матки мыши являются хорошим показателем восприимчивости [63]. Экспрессия генов, связанных с имплантацией, дисрегулируется у мышей с СПКЯ. Высокий уровень эстрогена и потенциально нарушенный путь *LIF-STAT3 (leukemia inhibitory factor - signal transducer and activator of transcription 3)* могут привести к неудаче имплантации эмбриона у мышей с СПКЯ [64]. Цитокины в окружающей среде репродуктивного тракта при зачатии опосредуют диалог между эмбрионом и материнскими тканями, оказывая глубокое влияние на развитие эмбриона и успех имплантации. Воздействуя на экспрессию генов и реакцию клеток на стресс, цитокины вызывают эпигенетическое воздействие с последующими эффектами для развития плаценты и роста плода, которые в свою очередь влияют на метаболический фенотип потомства. Имеются существенные доказательства того, что провоспалительные цитокины, такие как *GM-CSF (granulocyte-macrophage colony*

stimulating factor 2), *CSF1 (colony stimulating factor 1)*, *LIF (leukemia inhibitory factor)*, *HB-EGF (heparin-binding EGF-like growth factor)* и *IGF-II*, поддерживают оптимальное развитие эмбрионов. Меньше внимания уделяется цитокинам, которые отрицательно влияют на развитие эмбриона, в том числе провоспалительным цитокинам *TNF (tumor necrosis factor)*, *TNFSF10 (tumor necrosis factor ligand superfamily member 10 или TRAIL)* и *IFNG (interferon gamma)*. Данные агенты вызывают клеточный стресс, ухудшают выживаемость клеток и замедляют развитие бластоцисты, а при достаточно высоких концентрациях могут вызвать гибель эмбриона. Эксперименты на мышах показывают, что данные «эмбриотоксические» цитокины могут вредить эмбрионам через проапоптотические и неблагоприятные программные эффекты, а также косвенно подавлять восприимчивость матки через материнский иммунный ответ. Эмбриотрофические факторы защищают от этих неблагоприятных воздействий. Таким образом, баланс между эмбриотрофными и эмбриотоксическими цитокинами оказывает влияние на развитие эмбриона и его имплантацию, а также может способствовать «биосенсорной» функции эндометрия, опосредующей отбор эмбрионов. Эмбриотоксические цитокины могут повышаться в плазме крови и тканях репродуктивного тракта при воспалительных состояниях, включая инфекцию, ожирение, СПКЯ и эндометриоз [65].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённый анализ литературных данных свидетельствует о том, что персистирующая гипо- или ановуляция у женщин с СПКЯ, которые часто имеют гиперинсулинемию и гиперандрогению, приводит к относительно постоянным циркулирующим уровням эстрадиола, сопоставимым с ранней фолликулярной фазой. Умеренно повышенные уровни эстрадиола встречаются из-за повышения периферического превращения андростендиона в эстрон в жировой ткани. В условиях гиперинсулинемии уровни эстрадиола и тестостерона повышаются, частично из-за снижения инсулиновой регуляции ГСПГ. Таким образом, на рост и дифференцировку эндометрия у женщин с СПКЯ оказывают влияние андрогены, инсулин и не встречающиеся сопротивления эстрогены. При отсутствии овуляции и регуляторных эффектов прогестерона эндометрий не подвергается секреторной трансформации и постоянно подвергается стимулирующему и митогенному воздействию эстрадиола, что может привести к избыточному росту эндометрия, непредсказуемым кровотечениям, гиперплазии и раку. Кроме того, инсулиноподобные факторы роста (*IGF*) и их связывающие белки регулируются и действуют на клеточные компоненты эндометрия, а гиперинсулинемия регулирует *IGFBP-1*, что приводит к повышению свободного *IGF-I* в клетках эндометрия. Провоспалительная среда, наблюдаемая у женщин с СПКЯ, через секрецию цитокинов отрицательно влияет на действие инсулина, усугубляя нарушения энергетического гомеостаза эндометрия. Рассмотренные механизмы ясно указывают на то, что эти молекулярные дефекты могут частично объяснить репродуктивные неудачи данной категории пациенток, в связи с этим необходимы дальнейшие исследования, которые помогут разработать эффективные методы лечения дисфункции эндометрия у женщин с СПКЯ.

Конфликт интересов

Автор данной статьи сообщает об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Naz MSG, Tehrani FR, Majd HA, Ahmadi F, Ozgoli G, Fakari FR, et al. The prevalence of polycystic ovary syndrome in adolescents: A systematic review and meta-analysis. *Int J Reprod Biomed*. 2019; 17(8): 533-542. doi: 10.18502/ijrm.v17i8.4818
- Российская ассоциация эндокринологов, Российское общество акушеров-гинекологов. Синдром поликистоза яичников. Клинические рекомендации. М.: Минздрав России; 2016.
- The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod*. 2004; 19(1): 41-47. doi: 10.1093/humrep/deh098
- National Institutes of Health. Evidence-based Methodology Workshop on Polycystic Ovary Syndrome December 3–5, 2012. Final report. URL: <https://prevention.nih.gov/sites/default/files/2018-06/FinalReport.pdf>
- Mykhalchenko K, Lizneva D, Trofimova T, Walker W, Suturina L, Diamond MP, et al. Genetics of polycystic ovary syndrome. *Expert Rev Mol Diagn*. 2017; 17(7): 723-733. doi: 10.1080/14737159.2017.1340833
- Lizneva D, Suturina L, Walker W, Brakta S, Gavrilova-Jordan L, Azziz R. Criteria, prevalence, and phenotypes of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2016; 106(1): 6-15. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.05.003
- Lizneva D, Kirubakaran R, Mykhalchenko K, Suturina L, Cherkukha G, Diamond MP, et al. Phenotypes and body mass in women with polycystic ovary syndrome identified in referral versus unselected populations: Systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2016; 106(6): 1510-1520.e2. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.07.1121
- Панарина О.В., Рашидова М.А., Беленькая Л.В., Трофимова Т.А., Шолохов Л.Ф. Современные представления о патогенезе синдрома поликистозных яичников (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2017; 2(4): 9-14. doi: 10.12737/article_59fad50f053c20.99807656
- Amjadi F, Mehdizadeh M, Ashrafi M, Nasrabadi D, Taleahmad S, Mirzaei M, et al. Distinct changes in the proteome profile of endometrial tissues in polycystic ovary syndrome compared with healthy fertile women. *Reproductive BioMedicine Online*. 2018; 37(2): 184-200. doi: 10.1016/j.rbmo.2018.04.043
- Шарифулин Э.М., Лазарева Л.М., Каня О.В., Стефаненкова А.А., Белых Д.В., Сутурина Л.В. Состояние эндометрия при синдроме поликистозных яичников в репродуктивном возрасте. *Acta biomedica scientifica*, 2018; 3(3): 136-142. doi: 10.29413/ABS.2018-3.3.21
- Kim JJ, Kurita T, Bulun SE. Progesterone action in endometrial cancer, endometriosis, uterine fibroids, and breast cancer. *Endocr Rev*. 2013; 34(1): 130-162. doi: 10.1210/er.2012-1043
- Critchley HO, Saunders PT. Hormone receptor dynamics in a receptive human endometrium. *Reprod Sci*. 2009; 16(2): 191-199. doi: 10.1177/1933719108331121
- Giudice LC. Elucidating endometrial function in the post-genomic era. *Hum Reprod Update*. 2003; 9(3): 223-235. doi: 10.1093/humupd/dmg019
- Talbi S, Hamilton AE, Vo KC, Overgaard MT, Dosiou C, Le Shay N, et al. Molecular phenotyping of human endometrium distinguishes menstrual cycle phases and underlying biological processes in normo-ovulatory women. *Endocrinology*. 2006; 147(3): 1097-1121. doi: 10.1210/en.2005-1076
- Mehasseb MK, Panchal R, Taylor AH, Brown L, Bell SC, Habiba M. Estrogen and progesterone receptor isoform distribution through the menstrual cycle in uteri with and without adenomyosis. *Fertil Steril*. 2011; 95(7): 2228-2235.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.02.051
- Al-Sabbagh M, Lam EW, Brosens JJ. Mechanisms of endometrial progesterone resistance. *Mol Cell Endocrinol*. 2012; 358(2): 208-215. doi: 10.1016/j.mce.2011.10.035
- Kastner P, Krust A, Turcotte B, Stropp U, Tora L, Gronemeyer H, et al. Two distinct estrogen-regulated promoters generate transcripts encoding the two functionally different human progesterone receptor forms A and B. *EMBO J*. 1990; 9(5): 1603-1614. doi: 10.1002/j.1460-2075.1990.tb08280.x
- Wetendorf M, De Mayo FJ. The progesterone receptor regulates implantation, decidualization, and glandular development via a complex paracrine signaling network. *Mol Cell Endocrinol*. 2012; 357(1-2): 108-118. doi: 10.1016/j.mce.2011.10.028
- Maruyama T, Yoshimura Y. Molecular and cellular mechanisms for differentiation and regeneration of the uterine endometrium. *Endocr J*. 2008; 55: 795-810. doi: 10.1507/endocrj.k08e-067
- Luchetti CG, Mikó E, Szekeres-Bartho J, Paz DA, Motta AB. Dehydroepiandrosterone and metformin modulate progesterone-induced blocking factor (PIBF), cyclooxygenase 2 (COX2) and cytokines in early pregnant mice. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2008; 111(3-5): 200-207. doi: 10.1016/j.jsbmb.2008.06.007
- Critchley HO, Brenner RM, Henderson TA, Williams K, Nayak NR, Slayden OD, et al. Estrogen receptor beta, but not estrogen receptor alpha, is present in the vascular endothelium of the human and nonhuman primate endometrium. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86(3): 1370-1378. doi: 10.1210/jcem.86.3.7317
- Critchley HO, Kelly RW, Brenner RM, Baird DT. Antiprogestins as a model for progesterone withdrawal. *Steroids*. 2003; 68(10-13): 1061-1068. doi: 10.1016/j.steroids.2003.07.001
- Venturoli S, Porcu E, Fabbri R, Magrini O, Gammi L, Paradisi R, et al. Episodic pulsatile secretion of FSH, LH, prolactin, oestradiol, oestrone, and LH circadian variations in polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1988; 28(1): 93-107. doi: 10.1111/j.1365-2265.1988.tb01208.x
- Krege JH, Hodgin JB, Couse JF, Enmark E, Warner M, Mahler JF, et al. Generation and reproductive phenotypes of mice lacking estrogen receptor beta. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998; 95: 15677-15682. doi: 10.1073/pnas.95.26.15677
- Hewitt SC, Deroo BJ, Hansen K, Collins J, Grissom S, Afshari CA, et al. Estrogen receptor-dependent genomic responses in the uterus mirror the biphasic physiological response to estrogen. *Mol Endocrinol*. 2003; 17: 2070-2083. doi: 10.1210/me.2003-0146
- Wang A, Ji L, Shang W, Li M, Chen L, White RE, et al. Expression of GPR30, ERα and ERβ in endometrium during window of implantation in patients with polycystic ovary syndrome: A pilot study. *Gynecol Endocrinol*. 2011; 27(4): 251-255. doi: 10.3109/09513590.2010.487584
- Wang T, Zhang J, Hu M, Zhang Y, Cui P, Li X, et al. Differential expression patterns of glycolytic enzymes and mitochondria-dependent apoptosis in PCOS patients with endometrial hyperplasia, an early hallmark of endometrial cancer, in vivo and the impact of metformin in vitro. *Int J Biol Sci*. 2019; 15(3): 714-725. doi: 10.7150/ijbs.31425
- Ferreira SR, Motta AB. Uterine function: From normal to polycystic ovarian syndrome alterations. *Curr Med Chem*. 2018; 25(15): 1792-1804. doi: 10.2174/0929867325666171205144119
- Chrousos GP, MacLusky NJ, Brandon DD, et al. Progesterone resistance. *Adv Exp Med Biol*. 1986; 196: 317-328. doi: 10.1007/978-1-4684-5101-6_21
- Margarit L, Taylor A, Roberts MH, Hopkins L, Davies C, Brenton AG, et al. MUC1 as a discriminator between endometrium from fertile and infertile patients with PCOS and endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010; 95(12): 5320-5329. doi: 10.1210/jc.2010-0603
- Quezada S, Avellaira C, Johnson MC, Gabler F, Fuentes A, Vega M. Evaluation of steroid receptors, coregulators, and molecules associated with uterine receptivity in secretory endometria from untreated women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2006; 85(4): 1017-1026. doi: 10.1016/j.fertnstert.2005.09.053
- Kim JJ, Kurita T, Bulun SE. Progesterone action in endometrial cancer, endometriosis, uterine fibroids, and breast cancer. *Endocr Rev*. 2013; 34(1): 130-162. doi: 10.1210/er.2012-1043
- Kim JY, Song H, Kim H, Kang HJ, Jun JH, Hong SR, et al. Transcriptional profiling with a pathway-oriented analysis identi-

fies dysregulated molecular phenotypes in the endometrium of patients with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94(4): 1416-1426. doi: 10.1210/jc.2008-1612

34. Hu M, Li J, Zhang Y, Brännström M, Shao LR, Billig H. Endometrial progesterone receptor isoforms in women with polycystic ovary syndrome. *Am J Transl Res.* 2018; 10(8): 2696-2705.

35. Elia EM, Pustovrh C, Amalfi S, Devoto L, Motta AB. Link between metformin and the peroxisome proliferator-activated receptor γ pathway in the uterine tissue of hyperandrogenized prepubertal mice. *Fertil Steril.* 2011; 95(8): 2534-2537.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.02.004

36. Younas K, Quintela M, Thomas S, Garcia-Parra J, Blake L, Whiteland H, et al. Delayed endometrial decidualisation in polycystic ovary syndrome: The role of AR-MAGEA11. *J Mol Med (Berl).* 2019; 97(9): 1315-1327. doi: 10.1007/s00109-019-01809-6

37. Apparao KB, Lovely LP, Gui Y, Lininger RA, Lessey BA. Elevated endometrial androgen receptor expression in women with polycystic ovarian syndrome. *Biol Reprod.* 2002; 66(2): 297-304. doi: 10.1095/biolreprod66.2.297

38. Semeniyuk LM, Likhachov VK, Yuzvenko TY, Dobrovol'ska LM, Makarov OG. Risk markers of reproductive loss in women with hyperandrogenism. *Wiad Lek.* 2018; 71(8): 1550-1553.

39. Lee MH, Yoon JA, Kim HR, Kim YS, Lyu SW, Lee BS, et al. Hyperandrogenic milieu dysregulates the expression of insulin signaling factors and glucose transporters in the endometrium of patients with polycystic ovary syndrome. *Reprod Sci.* 2019; 1933719119833487. doi: 10.1177/1933719119833487

40. Sumarac-Dumanovic M, Apostolovic M, Janjetovic K, Janjetovic K, Jeremic D, Popadic D, et al. Downregulation of autophagy gene expression in endometria from women with polycystic ovary syndrome. *Mol Cell Endocrinol.* 2017; 440: 116-124. doi: 10.1016/j.mce.2016.11.009

41. Zhao PL, Zhang QF, Yan LY, Huang S, Chen Y, Qiao J. Functional investigation on aromatase in endometrial hyperplasia in polycystic ovary syndrome cases. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014; 15(20): 8975-8979. doi: 10.7314/apjcp.2014.15.20.8975

42. Bacallao K, Leon L, Gabler F, Soto E, Romero C, Valadares L, et al. In situ estrogen metabolism in proliferative endometria from untreated women with polycystic ovarian syndrome with and without endometrial hyperplasia. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008; 110(1-2): 163-169. doi: 10.1016/j.jsbmb.2008.03.031

43. Robinson S, Kiddy D, Gelding SV, Willis D, Niththyanathan R, Bush A, et al. The relationship of insulin insensitivity to menstrual pattern in women with hyperandrogenism and polycystic ovaries. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1993; 39(3): 351-355. doi: 10.1111/j.1365-2265.1993.tb02376.x

44. Oróstica L, Rosas C, Plaza-Parrochia F, Astorga I, Gabler F, García V, et al. Altered steroid metabolism and insulin signaling in PCOS endometria: Impact in tissue function. *Curr Pharm Des.* 2016; 22(36): 5614-5624. doi: 10.2174/1381612822666160810111528

45. Diamanti-Kandarakis E, Kandaraki E, Christakou C, Panidis D. The effect of pharmaceutical intervention on lipid profile in polycystic ovary syndrome. *Obes Rev.* 2009; 10(4): 431-441. doi: 10.1111/j.1467-789X.2009.00588.x

46. Qi J, Wang W, Zhu Q, He Y, Lu Y, Wang Y, et al. Local cortisol elevation contributes to endometrial insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018; 103(7): 2457-2467. doi: 10.1210/jc.2017-02459

47. Koc O, Ozdemirici S, Acet M, Soyuturk U, Aydin S. Nuclear factor- κ B expression in the endometrium of normal and overweight women with polycystic ovary syndrome. *J Obstet Gynaecol.* 2017; 37(7): 924-930. doi: 10.1080/01443615.2017.1315563

48. Колесникова Л.И., Петрова В.А., Корнакова Н.В., Лобыгина А.В., Сутурина Л.В. Пероксидация липидов и система антиоксидантной защиты у женщин с эндокринными факторами бесплодия. *Журнал акушерства и женских болезней.* 2008; 57(1): 52-56.

49. Колесникова Л.И., Данусевич И.Н., Курашова Н.А., Сутурина Л.В., Гребенкина Л.А., Долгих М.И. Особенности перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты

у женщин с хроническим эндометритом и репродуктивными нарушениями. *Фундаментальные исследования.* 2013; (9-5): 829-832.

50. Колесникова Л.И., Корнакова Н.В., Лобыгина А.В., Петрова В.А., Шолохов Л.Ф., Долгих М.И. и др. Состояние гормонально-метаболических процессов у женщин с поликистозом яичников и бесплодием. *Бюллетень СО РАМН.* 2008; 28(1): 21-25.

51. Даренская М.А., Колесников С.И., Гребенкина Л.А., Данусевич И.Н., Лазарева Л.М., Надеяева Я.Г. и др. Анализ про- и антиоксидантной активности крови у женщин с различными фенотипами синдрома поликистозных яичников и бесплодием. *Акушерство и гинекология.* 2017; (8): 86-91. doi: 10.18565/aig.2017.8.86-91

52. Kolesnikova LI, Kolesnikov SI, Darenkaya MA, Grebenkina LA, Nikitina OA, Lazareva LM, et al. Activity of LPO processes in women with polycystic ovarian syndrome and infertility. *Bull Exp Biol Med.* 2017; 162(3): 320-322. doi: 10.1007/s10517-017-3605-5

53. Artimani T, Karimi J, Mehdizadeh M, Yavangi M, Khanlari-zadeh E, Ghorbani M, et al. Evaluation of pro-oxidant-antioxidant balance (PAB) and its association with inflammatory cytokines in polycystic ovary syndrome (PCOS). *Gynecol Endocrinol.* 2018; 34(2): 148-152. doi: 10.1080/09513590.2017.1371691

54. Oróstica L, Poblete C, Romero C, Vega M. Pro-inflammatory markers negatively regulate IRS1 in endometrial cells and endometrium from women with obesity and PCOS. *Reprod Sci.* 2020; 27(1): 290-300. doi: 10.1007/s43032-019-00026-3

55. Ананьев Е.В. Синдром поликистозных яичников и беременность. *Акушерство и гинекология.* 2017; (9): 5-11. doi: 10.18565/aig.2017.9.5-11

56. Cermik D, Selam B, Taylor HS. Regulation of HOXA-10 expression by testosterone in vitro and in the endometrium of patients with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88(1): 238-243. doi: 10.1210/jc.2002-021072

57. Daftary GS, Kayisli U, Seli E, Bukulmez O, Arici A, Taylor HS. Salpingectomy increases peri-implantation endometrial HOXA10 expression in women with hydrosalpinx. *Fertil Steril.* 2007; 87(2): 367-372. doi: 10.1016/j.fertnstert.2006.06.041

58. Lee K, Jeong J, Kwak I, Yu CT, Lanske B, Soegiarto DW, et al. Indian hedgehog is a major mediator of progesterone signaling in the mouse uterus. *Nat Genet.* 2006; 38(10): 1204-1209. doi: 10.1038/ng1874

59. Paria BC, Ma W, Tan J, Raja S, Das SK, Dey SK, et al. Cellular and molecular responses of the uterus to embryo implantation can be elicited by locally applied growth factors. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001; 98(3): 1047-1052. doi: 10.1073/pnas.98.3.1047

60. Salker MS, Christian M, Steel JH, Nautiyal J, Lavery S, Trew G, et al. Deregulation of the serum- and glucocorticoid-inducible kinase SGK1 in the endometrium causes reproductive failure. *Nat Med.* 2011; 17(11): 1509-1513. doi: 10.1038/nm.2498

61. Daikoku T, Cha J, Sun X, Tranguch S, Xie H, Fujita T, et al. Conditional deletion of Msx homeobox genes in the uterus inhibits blastocyst implantation by altering uterine receptivity. *Dev Cell.* 2011; 21(6): 1014-1025. doi: 10.1016/j.devcel.2011.09.010

62. Li Q, Kannan A, DeMayo FJ, Lydon JP, Cooke PS, Yamagishi H, et al. The antiproliferative action of progesterone in uterine epithelium is mediated by Hand2. *Science.* 2011; 331(6019): 912-916. doi: 10.1126/science.1197454

63. Cheng JG, Chen JR, Hernandez L, Alvord WG, Stewart CL. Dual control of LIF expression and LIF receptor function regulate Stat3 activation at the onset of uterine receptivity and embryo implantation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001; 98(15): 8680-8685. doi: 10.1073/pnas.151180898

64. Li SY, Song Z, Song MJ, Qin JW, Zhao ML, Yang ZM. Impaired receptivity and decidualization in DHEA-induced PCOS mice. *Sci Rep.* 2016; 6: 38134. doi: 10.1038/srep38134

65. Robertson SA, Chin PY, Femia JG, Brown HM. Embryotoxic cytokines – potential roles in embryo loss and fetal programming. *J Reprod Immunol.* 2018; 125: 80-88. doi: 10.1016/j.jri.2017.12.003

REFERENCES

1. Naz MSG, Tehrani FR, Majd HA, Ahmadi F, Ozgoli G, Fakari FR, et al. The prevalence of polycystic ovary syndrome in adolescents: A systematic review and meta-analysis. *Int J Reprod Biomed*. 2019; 17(8): 533-542. doi: 10.18502/ijrm.v17i8.4818
2. Russian Association of Endocrinologists, Russian Society of Obstetricians and Gynecologists. *Polycystic ovary syndrome. Clinical guidelines*. Moscow: Ministry of Health of Russia; 2016. (In Russ.)
3. The Rotterdam ESHRE/ASRM-sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod*. 2004; 19(1): 41-47. doi: 10.1093/humrep/deh098
4. National Institutes of Health. *Evidence-based Methodology Workshop on Polycystic Ovary Syndrome December 3–5, 2012. Final report*. URL: <https://prevention.nih.gov/sites/default/files/2018-06/FinalReport.pdf>
5. Mykhalchenko K, Lizneva D, Trofimova T, Walker W, Suturina L, Diamond MP, et al. Genetics of polycystic ovary syndrome. *Expert Rev Mol Diagn*. 2017; 17(7): 723-733. doi: 10.1080/14737159.2017.1340833
6. Lizneva D, Suturina L, Walker W, Brakta S, Gavrilova-Jordan L, Azziz R. Criteria, prevalence, and phenotypes of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2016; 106(1): 6-15. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.05.003
7. Lizneva D, Kirubakaran R, Mykhalchenko K, Suturina L, Chernukha G, Diamond MP, et al. Phenotypes and body mass in women with polycystic ovary syndrome identified in referral versus unselected populations: Systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2016; 106(6): 1510-1520.e2. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.07.1121
8. Panarina OV, Rashidova MA, Belenkaya LV, Trofimova TA, Sholokhov LF. Modern concepts of the pathogenesis of polycystic ovary syndrome (literature review). *Acta biomedica scientifica*. 2017; 2(4): 9-14. doi: 10.12737/article_59fad50f053c20.99807656. (In Russ.)
9. Amjadi F, Mehdizadeh M, Ashrafi M, Nasrabadi D, Taleahmad S, Mirzaei M, et al. Distinct changes in the proteome profile of endometrial tissues in polycystic ovary syndrome compared with healthy fertile women. *Reproductive BioMedicine Online*. 2018; 37(2): 184-200. doi: 10.1016/j.rbmo.2018.04.043
10. Sharifulin EM, Lazareva LM, Kanya OV, Stefanenkova AA, Belykh DV, Suturina LV. Endometrial morphology in women of reproductive age with PCOS. *Acta biomedica scientifica*. 2018; 3(3): 136-142. doi: 10.29413/ABS.2018-3.3.21. (In Russ.)
11. Kim JJ, Kurita T, Bulun SE. Progesterone action in endometrial cancer, endometriosis, uterine fibroids, and breast cancer. *Endocr Rev*. 2013; 34(1): 130-162. doi: 10.1210/er.2012-1043
12. Critchley HO, Saunders PT. Hormone receptor dynamics in a receptive human endometrium. *Reprod Sci*. 2009; 16(2): 191-199. doi: 10.1177/1933719108331121
13. Giudice LC. Elucidating endometrial function in the post-genomic era. *Hum Reprod Update*. 2003; 9(3): 223-235. doi: 10.1093/humupd/dmg019
14. Talbi S, Hamilton AE, Vo KC, Overgaard MT, Dosiou C, Le Shay N, et al. Molecular phenotyping of human endometrium distinguishes menstrual cycle phases and underlying biological processes in normo-ovulatory women. *Endocrinology*. 2006; 147(3): 1097-1121. doi: 10.1210/en.2005-1076
15. Mehaseb MK, Panchal R, Taylor AH, Brown L, Bell SC, Habiba M. Estrogen and progesterone receptor isoform distribution through the menstrual cycle in uteri with and without adenomyosis. *Fertil Steril*. 2011; 95(7): 2228-2235.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.02.051
16. Al-Sabbagh M, Lam EW, Brosens JJ. Mechanisms of endometrial progesterone resistance. *Mol Cell Endocrinol*. 2012; 358(2): 208-215. doi: 10.1016/j.mce.2011.10.035
17. Kastner P, Krust A, Turcotte B, Stropp U, Tora L, Gronemeyer H, et al. Two distinct estrogen-regulated promoters generate transcripts encoding the two functionally different human progesterone receptor forms A and B. *EMBO J*. 1990; 9(5): 1603-1614. doi: 10.1002/j.1460-2075.1990.tb08280.x
18. Wetendorf M, De Mayo FJ. The progesterone receptor regulates implantation, decidualization, and glandular development via a complex paracrine signaling network. *Mol Cell Endocrinol*. 2012; 357(1-2): 108-118. doi: 10.1016/j.mce.2011.10.028
19. Maruyama T, Yoshimura Y. Molecular and cellular mechanisms for differentiation and regeneration of the uterine endometrium. *Endocr J*. 2008; 55: 795-810. doi: 10.1507/endocrj.k08e-067
20. Luchetti CG, Mikó E, Szekeres-Bartho J, Paz DA, Motta AB. Dehydroepiandrosterone and metformin modulate progesterone-induced blocking factor (PIBF), cyclooxygenase 2 (COX2) and cytokines in early pregnant mice. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2008; 111(3-5): 200-207. doi: 10.1016/j.jsbmb.2008.06.007
21. Critchley HO, Brenner RM, Henderson TA, Williams K, Nayak NR, Slayden OD, et al. Estrogen receptor beta, but not estrogen receptor alpha, is present in the vascular endothelium of the human and nonhuman primate endometrium. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86(3): 1370-1378. doi: 10.1210/jcem.86.3.7317
22. Critchley HO, Kelly RW, Brenner RM, Baird DT. Antiprogesterins as a model for progesterone withdrawal. *Steroids*. 2003; 68(10-13): 1061-1068. doi: 10.1016/j.steroids.2003.07.001
23. Venturoli S, Porcu E, Fabbri R, Magrini O, Gammi L, Paradisi R, et al. Episodic pulsatile secretion of FSH, LH, prolactin, oestradiol, oestrone, and LH circadian variations in polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1988; 28(1): 93-107. doi: 10.1111/j.1365-2265.1988.tb01208.x
24. Kregel JH, Hodgin JB, Couse JF, Enmark E, Warner M, Mahler JF, et al. Generation and reproductive phenotypes of mice lacking estrogen receptor beta. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998; 95: 15677-15682. doi: 10.1073/pnas.95.26.15677
25. Hewitt SC, Deroo BJ, Hansen K, Collins J, Grissom S, Afshari CA, et al. Estrogen receptor-dependent genomic responses in the uterus mirror the biphasic physiological response to estrogen. *Mol Endocrinol*. 2003; 17: 2070-2083. doi: 10.1210/me.2003-0146
26. Wang A, Ji L, Shang W, Li M, Chen L, White RE, et al. Expression of GPR30, ERα and ERβ in endometrium during window of implantation in patients with polycystic ovary syndrome: A pilot study. *Gynecol Endocrinol*. 2011; 27(4): 251-255. doi: 10.3109/09513590.2010.487584
27. Wang T, Zhang J, Hu M, Zhang Y, Cui P, Li X, et al. Differential expression patterns of glycolytic enzymes and mitochondria-dependent apoptosis in PCOS patients with endometrial hyperplasia, an early hallmark of endometrial cancer, in vivo and the impact of metformin in vitro. *Int J Biol Sci*. 2019; 15(3): 714-725. doi: 10.7150/ijbs.31425
28. Ferreira SR, Motta AB. Uterine function: From normal to polycystic ovarian syndrome alterations. *Curr Med Chem*. 2018; 25(15): 1792-1804. doi: 10.2174/0929867325666171205144119
29. Chrousos GP, MacLusky NJ, Brandon DD, et al. Progesterone resistance. *Adv Exp Med Biol*. 1986; 196: 317-328. doi: 10.1007/978-1-4684-5101-6_21
30. Margarit L, Taylor A, Roberts MH, Hopkins L, Davies C, Brenton AG, et al. MUC1 as a discriminator between endometrium from fertile and infertile patients with PCOS and endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010; 95(12): 5320-5329. doi: 10.1210/jc.2010-0603
31. Quezada S, Avellaira C, Johnson MC, Gabler F, Fuentes A, Vega M. Evaluation of steroid receptors, coregulators, and molecules associated with uterine receptivity in secretory endometria from untreated women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2006; 85(4): 1017-1026. doi: 10.1016/j.fertnstert.2005.09.053
32. Kim JJ, Kurita T, Bulun SE. Progesterone action in endometrial cancer, endometriosis, uterine fibroids, and breast cancer. *Endocr Rev*. 2013; 34(1): 130-162. doi: 10.1210/er.2012-1043
33. Kim JY, Song H, Kim H, Kang HJ, Jun JH, Hong SR, et al. Transcriptional profiling with a pathway-oriented analysis identi-

fies dysregulated molecular phenotypes in the endometrium of patients with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94(4): 1416-1426. doi: 10.1210/jc.2008-1612

34. Hu M, Li J, Zhang Y, Brännström M, Shao LR, Billig H. Endometrial progesterone receptor isoforms in women with polycystic ovary syndrome. *Am J Transl Res.* 2018; 10(8): 2696-2705.

35. Elia EM, Pustovrh C, Amalfi S, Devoto L, Motta AB. Link between metformin and the peroxisome proliferator-activated receptor γ pathway in the uterine tissue of hyperandrogenized prepubertal mice. *Fertil Steril.* 2011; 95(8): 2534-2537.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.02.004

36. Younas K, Quintela M, Thomas S, Garcia-Parra J, Blake L, Whiteland H, et al. Delayed endometrial decidualisation in polycystic ovary syndrome: The role of AR-MAGEA11. *J Mol Med (Berl).* 2019; 97(9): 1315-1327. doi: 10.1007/s00109-019-01809-6

37. Apparao KB, Lovely LP, Gui Y, Lininger RA, Lessey BA. Elevated endometrial androgen receptor expression in women with polycystic ovarian syndrome. *Biol Reprod.* 2002; 66(2): 297-304. doi: 10.1095/biolreprod66.2.297

38. Semenik LM, Likhachov VK, Yuzvenko TY, Dobrovol'ska LM, Makarov OG. Risk markers of reproductive loss in women with hyperandrogenism. *Wiad Lek.* 2018; 71(8): 1550-1553.

39. Lee MH, Yoon JA, Kim HR, Kim YS, Lyu SW, Lee BS, et al. Hyperandrogenic milieu dysregulates the expression of insulin signaling factors and glucose transporters in the endometrium of patients with polycystic ovary syndrome. *Reprod Sci.* 2019; 1933719119833487. doi: 10.1177/1933719119833487

40. Sumarac-Dumanovic M, Apostolovic M, Janjetovic K, Janjetovic K, Jeremic D, Popadic D, et al. Downregulation of autophagy gene expression in endometria from women with polycystic ovary syndrome. *Mol Cell Endocrinol.* 2017; 440: 116-124. doi: 10.1016/j.mce.2016.11.009

41. Zhao PL, Zhang QF, Yan LY, Huang S, Chen Y, Qiao J. Functional investigation on aromatase in endometrial hyperplasia in polycystic ovary syndrome cases. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014; 15(20): 8975-8979. doi: 10.7314/apjcp.2014.15.20.8975

42. Bacallao K, Leon L, Gabler F, Soto E, Romero C, Valladares L, et al. In situ estrogen metabolism in proliferative endometria from untreated women with polycystic ovarian syndrome with and without endometrial hyperplasia. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008; 110(1-2): 163-169. doi: 10.1016/j.jsbmb.2008.03.031

43. Robinson S, Kiddy D, Gelding SV, Willis D, Niththyanathan R, Bush A, et al. The relationship of insulin insensitivity to menstrual pattern in women with hyperandrogenism and polycystic ovaries. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1993; 39(3): 351-355. doi: 10.1111/j.1365-2265.1993.tb02376.x

44. Oróstica L, Rosas C, Plaza-Parrochia F, Astorga I, Gabler F, García V, et al. Altered steroid metabolism and insulin signaling in PCOS endometria: Impact in tissue function. *Curr Pharm Des.* 2016; 22(36): 5614-5624. doi: 10.2174/1381612822666160810111528

45. Diamanti-Kandaraki E, Kandaraki E, Christakou C, Panidis D. The effect of pharmaceutical intervention on lipid profile in polycystic ovary syndrome. *Obes Rev.* 2009; 10(4): 431-441. doi: 10.1111/j.1467-789X.2009.00588.x

46. Qi J, Wang W, Zhu Q, He Y, Lu Y, Wang Y, et al. Local cortisol elevation contributes to endometrial insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018; 103(7): 2457-2467. doi: 10.1210/jc.2017-02459

47. Koc O, Ozdemirici S, Acet M, Soyuturk U, Aydin S. Nuclear factor- κ B expression in the endometrium of normal and overweight women with polycystic ovary syndrome. *J Obstet Gynaecol.* 2017; 37(7): 924-930. doi: 10.1080/01443615.2017.1315563

48. Kolesnikova LI, Petrova VA, Kornakova NV, Labygina AV, Suturina LV. Lipid peroxidation and antioxidant state in women with endocrine factors of sterility. *Journal of obstetrics and women's diseases.* 2008; 57(1): 52-56. (In Russ.)

49. Kolesnikova LI, Danusevich IN, Kurashova NA, Suturina LV, Grebenkina LA, Dolgikh MI. Features of lipid peroxidation

and antioxidant protection in women with chronic endometritis and reproductive disorders. *Fundamental research.* 2013; (9-5): 829-832. (In Russ.)

50. Kolesnikova LI, Kornakova NV, Labygina AV, Petrova VA, Sholokhov LF, Dolgikh MI, et al. Hormonal-metabolic processes condition of women with polycystic ovaries and infertility. *Siberian Scientific Medical Journal.* 2008; 28(1): 21-25. (In Russ.)

51. Darenskaya MA, Grebenkina LA, Nikitina OA, Danusevich IN, Lazareva LM, Nadelyaeva YG, et al. Analysis of pro- and antioxidant blood activity in women with different phenotypes of polycystic ovary syndrome and infertility. *Obstetrics and Gynecology.* 2017; (8): 86-91. doi: 10.18565/aig.2017.8.86-91. (In Russ.)

52. Kolesnikova LI, Kolesnikov SI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Nikitina OA, Lazareva LM, et al. Activity of LPO processes in women with polycystic ovarian syndrome and infertility. *Bull Exp Biol Med.* 2017; 162(3): 320-322. doi: 10.1007/s10517-017-3605-5

53. Artimani T, Karimi J, Mehdizadeh M, Yavangi M, Khanlari-zadeh E, Ghorbani M, et al. Evaluation of pro-oxidant-antioxidant balance (PAB) and its association with inflammatory cytokines in polycystic ovary syndrome (PCOS). *Gynecol Endocrinol.* 2018; 34(2): 148-152. doi: 10.1080/09513590.2017.1371691

54. Oróstica L, Poblete C, Romero C, Vega M. Pro-inflammatory markers negatively regulate IRS1 in endometrial cells and endometrium from women with obesity and PCOS. *Reprod Sci.* 2020; 27(1): 290-300. doi: 10.1007/s43032-019-00026-3

55. Ananiev EV. Polycystic ovary syndrome and pregnancy. *Obstetrics and Gynecology.* 2017; (9): 5-11. doi: 10.18565/aig.2017.9.5-11. (In Russ.)

56. Cermik D, Selam B, Taylor HS. Regulation of HOXA-10 expression by testosterone in vitro and in the endometrium of patients with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88(1): 238-243. doi: 10.1210/jc.2002-021072

57. Daftary GS, Kayisli U, Seli E, Bukulmez O, Arici A, Taylor HS. Salpingectomy increases peri-implantation endometrial HOXA10 expression in women with hydrosalpinx. *Fertil Steril.* 2007; 87(2): 367-372. doi: 10.1016/j.fertnstert.2006.06.041

58. Lee K, Jeong J, Kwak I, Yu CT, Lanske B, Soegiarto DW, et al. Indian hedgehog is a major mediator of progesterone signaling in the mouse uterus. *Nat Genet.* 2006; 38(10): 1204-1209. doi: 10.1038/ng1874

59. Paria BC, Ma W, Tan J, Raja S, Das SK, Dey SK, et al. Cellular and molecular responses of the uterus to embryo implantation can be elicited by locally applied growth factors. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001; 98(3): 1047-1052. doi: 10.1073/pnas.98.3.1047

60. Salker MS, Christian M, Steel JH, Nautiyal J, Lavery S, Trew G, et al. Deregulation of the serum- and glucocorticoid-inducible kinase SGK1 in the endometrium causes reproductive failure. *Nat Med.* 2011; 17(11): 1509-1513. doi: 10.1038/nm.2498

61. Daikoku T, Cha J, Sun X, Tranguch S, Xie H, Fujita T, et al. Conditional deletion of Msx homeobox genes in the uterus inhibits blastocyst implantation by altering uterine receptivity. *Dev Cell.* 2011; 21(6): 1014-1025. doi: 10.1016/j.devcel.2011.09.010

62. Li Q, Kannan A, DeMayo FJ, Lydon JP, Cooke PS, Yamagishi H, et al. The antiproliferative action of progesterone in uterine epithelium is mediated by Hand2. *Science.* 2011; 331(6019): 912-916. doi: 10.1126/science.1197454

63. Cheng JG, Chen JR, Hernandez L, Alvord WG, Stewart CL. Dual control of LIF expression and LIF receptor function regulate Stat3 activation at the onset of uterine receptivity and embryo implantation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001; 98(15): 8680-8685. doi: 10.1073/pnas.151180898

64. Li SY, Song Z, Song MJ, Qin JW, Zhao ML, Yang ZM. Impaired receptivity and decidualization in DHEA-induced PCOS mice. *Sci Rep.* 2016; 6: 38134. doi: 10.1038/srep38134

65. Robertson SA, Chin PY, Femia JG, Brown HM. Embryotoxic cytokines – potential roles in embryo loss and fetal programming. *J Reprod Immunol.* 2018; 125: 80-88. doi: 10.1016/j.jri.2017.12.003

Сведения об авторе

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

Information about the author

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

Статья получена: 10.06.2020. Статья принята: 16.09.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 10.06.2020. Accepted: 16.09.2020. Published: 26.12.2020.

Особенности функционального состояния гипофизарно-овариально-надпочечниковой системы и процессов ПОЛ–АОЗ у женщин с синдромом поликистозных яичников в раннем репродуктивном периоде*

Круско О.В., Рашидова М.А., Бричагина А.С., Шарифулин Э.М., Беленькая Л.В.

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

Автор, ответственный за переписку: Круско Ольга Владимировна, e-mail: panarinaolya08@mail.ru

Резюме

Обоснование. Женщины с синдромом поликистозных яичников в раннем репродуктивном периоде имеют гормонально-метаболическую дисфункцию и, следовательно, повышенную вероятность негативных долгосрочных последствий для здоровья.

Цель исследования: оценка функционального состояния гипофизарно-овариально-надпочечниковой системы, процессов «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» и установление межсистемных взаимосвязей у женщин с синдромом поликистозных яичников в раннем репродуктивном периоде.

Материалы и методы. Обследованы 33 женщины с синдромом поликистозных яичников и 17 практически здоровых женщин раннего репродуктивного возраста. Проведён анкетный опрос, общий медицинский и гинекологический осмотры, ультразвуковое исследование органов малого таза. Использованы: иммуноферментный метод определения концентраций гормонов; спектрофотометрические и спектрофлуориметрические методы определения концентраций продуктов липопероксидации, параметров антиоксидантной защиты; статистические методы исследования.

Результаты. В результате исследования было отмечено повышение (в пределах референсных значений) в сыворотке крови уровней 17-ОН-прогестерона в 2,2 раза ($p = 0,0005$) и дегидроэпиандростерон-сульфата в 1,3 раза ($p = 0,0001$) у женщин с синдромом поликистозных яичников по сравнению с контрольной группой. Показано снижение показателя общей антиоксидантной активности крови на 25 % ($p = 0,0005$), повышение содержания окисленного глутатиона на 14 % ($p = 0,0001$) и снижение концентрации ретинола на 26 % ($p = 0,0012$) по сравнению с контрольными значениями.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют об особенностях функционального состояния гипофизарно-овариально-надпочечниковой системы и процессов ПОЛ–АОЗ, а также о необходимости своевременной диагностики и эффективной коррекции гормонально-метаболических нарушений у женщин с синдромом поликистозных яичников в ранний репродуктивный период.

Ключевые слова: гиперандрогения, синдром поликистозных яичников, гормоны, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, женщины раннего репродуктивного возраста

Для цитирования: Круско О.В., Рашидова М.А., Бричагина А.С., Шарифулин Э.М., Беленькая Л.В. Особенности функционального состояния гипофизарно-овариально-надпочечниковой системы и процессов ПОЛ–АОЗ у женщин с синдромом поликистозных яичников в раннем репродуктивном периоде. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 20-26. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.2.

Features of the Functional State of the Hypophysis-Ovarian System and Processes of Lipid Peroxidation – Antioxidant Protection in Women with Hyperandrogenism of Ovary Genesis in the Early Reproductive Period

Krusko O.V., Rashidova M.A., Brichagina A.S., Sharifulin E.M., Belenkaya L.V.

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

Corresponding author: Olga V. Krusko, e-mail: panarinaolya08@mail.ru

Abstract

Background. Women with polycystic ovary syndrome in the early reproductive period have hormonal and metabolic dysfunction and an increased risk of long-term health consequences. The article presents the results of the study of hormonal indicators and the parameters of lipid peroxidation – antioxidant protection in women with polycystic ovary syndrome in early period of reproductive age (from 18 to 35 years old).

Aim: evaluation of the functional state of the pituitary-ovarian-adrenal system and the lipid peroxidation – antioxidant protection system and the establishment of intersystemic relationships in women of the early reproductive period with polycystic ovary syndrome.

Materials and methods. Study included 33 women with ovarian hyperandrogenism and 17 healthy women of early reproductive age. A questionnaire survey, general medical and gynecological examinations, and ultrasound examination of the pelvic organs were conducted. Immunoenzyme method for detection the concentration of hormones, spectrophotometric and spectrofluorometric (determination of the concentration of lipoperoxidation products, parameters of antioxidant protection), statistical methods were used.

* Статья опубликована по материалам доклада на IV Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 16 октября 2020 года).

Results. Women of early reproductive age (from 18 to 35 years old) with polycystic ovary syndrome characterized by an increase of 17-OH-progesterone by 2.2 times ($p = 0.0005$), and dehydroepiandrosterone sulfate by 1.3 times ($p = 0.0001$). A decrease in the total antioxidant activity of the blood by 25 % ($p = 0.0005$), an increase in the content of oxidized glutathione by 14 % ($p = 0.0001$) and a decrease in the concentration of retinol by 26 % ($p = 0.0012$) compared to the control values were shown. The increase in the degree of oxidative stress was indicated by the value of the coefficient of oxidative stress equal to 2.8.

Conclusion. The obtained data indicate the features of the functional state of the pituitary-ovarian-adrenal system and the processes of LPO-AOP, as well as the need for timely diagnosis and effective correction of hormonal and metabolic disorders in women with polycystic ovary syndrome in the early reproductive period.

Key words: hyperandrogenism, polycystic ovary syndrome, hormones, hyperandrogenism, lipid peroxidation, antioxidant protection, women of early reproductive age

For citation: Krusko O.V., Rashidova M.A., Brichagina A.S., Sharifulin E.M., Belenkaya L.V. Features of the Functional State of the Hypophysis-Ovarian System and Processes of Lipid Peroxidation – Antioxidant Protection in Women with Hyperandrogenism of Ovary Genesis in the Early Reproductive Period. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 20-26. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.2.

ОБОСНОВАНИЕ

Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) представляет собой одно из самых распространённых эндокринных и метаболических нарушений у женщин детородного возраста и является предметом многочисленных фундаментальных и клинических исследований. В зависимости от используемых диагностических критериев распространённость синдрома варьирует от 5 до 20 % [1, 2]. СПКЯ оказывает серьёзное негативное влияние на качество жизни женщин, которое ассоциируется с широким спектром осложнений в различных областях здоровья, включая репродуктивные, метаболические и психологические особенности. Вопросы этиологии и патогенеза данного расстройства до настоящего времени остаются открытыми [3]. Данный синдром связан с хроническим ановуляторным бесплодием, нарушением обмена веществ, инсулинорезистентностью, гиперандрогинемией и сердечно-сосудистыми заболеваниями. Зачастую при СПКЯ наблюдается повышенный синтез андрогенов, к клиническим проявлениям которого относятся нарушение менструального цикла, гирсутизм, алопеция и акне. СПКЯ и сопутствующие ему метаболические нарушения могут быть объяснены развитием «порочного круга» его патогенеза [4]. Хронический избыток андрогенов яичникового и/или надпочечникового происхождения приводит к абдоминальному ожирению. Абдоминальное ожирение приводит к дальнейшей избыточной секреции андрогенов за счёт прямого ответа яичников и надпочечников на медиаторы воспаления или косвенно за счёт развития инсулинорезистентности и компенсаторной гиперинсулинемии, поскольку инсулин стимулирует секрецию андрогенов [5, 6]. Таким образом, замыкается «порочный круг», начинающийся с абдоминального ожирения. Согласно данным литературы, некоторые характеристики и ассоциации СПКЯ, включая избыток андрогенов, ожирение, инсулинорезистентность, могут способствовать развитию местного и системного окислительного стресса [7].

Окислительный стресс (ОС) определяется как дисбаланс, возникающий в результате избыточного образования окислителей при наличии ограниченной антиоксидантной защиты. Окислителями являются химические элементы, которые способны присоединять электроны, теряя при этом положительный заряд. Основными окислителями являются промежуточные продукты активных форм кислорода и азота [8, 9]. Свободные радикалы хорошо известны своей двойной ролью. Они могут быть как вредными, так и полезными для живых систем. При низких или умеренных концентрациях они необходимы для

активации различных ферментов, синтеза гормонов, производства энергии, активации транскрипционных факторов, для процесса созревания клеточных структур, являются компонентами клеточных сигнальных систем, а также играют важную роль в системе иммунной защиты организма [10, 11].

Усиленное накопление активных форм кислорода и азота, подавляя антиоксидантную защиту, инициирует развитие окислительного стресса. Свободные радикалы – неустойчивые и высокореактивные частицы, которые достигают своей стабильности, приобретая электроны от липидов, нуклеиновых кислот, белков, углеводов или близлежащих молекул, нарушая их функции, вызывая каскад цепных реакций, приводя к повреждению клеток и, как следствие, способствуя возникновению множества патологических состояний человека, в том числе и репродуктивных [12, 13]. Появляется всё больше свидетельств о роли ОС в угасании женской репродуктивной функции [14, 15]. Ранняя диагностика проявлений ОС позволит снизить риск ряда осложнений у женщин с дисфункцией яичников. Помимо этого, нет однозначного мнения по оценке связей между различными звеньями нейроэндокринной регуляции и процессами «перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита» (ПОЛ–АОЗ) у женщин с СПКЯ, именно в ранний репродуктивный период.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью настоящего исследования явилось выявление особенностей функционирования гипофизарно-овариально-надпочечниковой системы, процессов ПОЛ–АОЗ и установление межсистемных взаимосвязей у женщин с синдромом поликистозных яичников в ранний репродуктивный период.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На базе ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (НЦ ПЗСРЧ) было проведено обследование женщин репродуктивного возраста, проходивших ежегодный профилактический медицинский осмотр (период проведения с 2017 по 2019 г.). В настоящее исследование было включено 50 женщин раннего репродуктивного возраста (от 18 до 35 лет) в фолликулярной фазе менструального цикла (с 1-го по 12-й день). Основную группу составили 33 женщины с диагнозом СПКЯ (средний возраст – $27,4 \pm 3,8$ года). Диагноз СПКЯ был поставлен в соответствии с общепринятыми критериями ESHRE/ASRM (Роттердам, 2003): наличие двух из трёх признаков СПКЯ (олиго- или ановуляция;

клинический или/и биохимический гиперандрогенизм; поликистоз яичников по данным ультразвукового исследования органов малого таза) [16]. Группу сравнения составили 17 практически здоровых женщин (средний возраст – $29,3 \pm 4,3$ года).

Критериями исключения из группы женщин с СПКЯ явились: гиперпролактинемия; гипотиреоз; неклассическая форма врожденной дисфункции/гиперплазии коры надпочечников; текущая беременность или лактация; удаление матки и/или придатков с двух сторон, абляция эндометрия и/или эмболизация маточных артерий; приём гормональных препаратов. Для контрольной группы критерии исключения были следующие: текущая беременность или лактация; удаление матки и/или придатков с двух сторон, абляция эндометрия и/или эмболизация маточных артерий; приём гормональных препаратов; хроническое заболевание в анамнезе. Исследование было выполнено с информированного согласия испытуемых. Исследование соответствует этическим принципам Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013 г.). Проведение исследования было одобрено локальным Этическим комитетом (Комитет по биомедицинской этике при ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», выписка из протокола № 2.1 от 24.02.2016 г.).

Методика исследования включала проведение анкетного опроса со сбором анамнестических данных, стандартного общеклинического и гинекологического обследований, лабораторных исследований гормональных показателей и параметров системы ПОЛ–АОЗ, их статистическую обработку. Согласно общепринятым требованиям, в раннее утреннее время осуществлялся забор венозной крови. Полученные образцы сыворотки, плазмы и гемолизата хранили в морозильной камере при -80°C до момента определения.

Определение концентраций пролактина (ПРЛ), лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), 17-ОН-прогестерона, секс-стероид-связывающего глобулина (СССГ) проводили методом конкурентного твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов «Алкор-Био» (Россия) на иммуноферментном анализаторе ELx808 «Bio Tek» (США). Концентрацию дегидроэпиандростерон-сульфата (ДГЭА-С, мкг/дл) определяли с использованием набора реагентов на иммунохимическом анализаторе Siemens Immulite 1000 (США). Уровень тестостерона (Тс) определяли методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии на жидкостном хроматографе с тройным квадрупольным масс-спектрометром LCMS-8060 Shimadzu (Япония).

У всех женщин общепринятыми спектрофотометрическими и флуориметрическими методами производился анализ содержания компонентов системы ПОЛ–АОЗ. Изолированные двойные связи (Дв. св.), диеновые конъюгаты (ДК), кетодиены и сопряжённые триены (КД-СТ) определяли по методу И.А. Волчегорского [17]. Концентрацию ТБК-активных продуктов оценивали по методу В.Б. Гаврилова с соавт. [18]. Для определения общей антиокислительной активности (АОА) использовались коммерческие наборы фирмы Randox (Великобритания). Содержание жирорастворимых витаминов α -токоферола и ретинола регистрировалось по методу Р.Ч. Черняускене с соавт. [19]. Уровень восстановленного (GSH) и окислен-

ного глутатиона (GSSG) определяли согласно методике P.Y. Hissin, R. Hilf [20]. Определение активности супероксиддисмутазы (СОД) производилось методом Н.Р. Misra, I. Fridovich [21].

Регистрацию оптических плотностей и флуоресценции проводили на спектрофотометре BTS-350 (Испания), спектрофотометре СФ-2000 (Россия) и флуорате 02 АБФФ-Т (Россия).

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета статистических и прикладных программ Statistica 6.1 (StatSoft Inc., США). Для определения близости к нормальному закону распределения данных использовали тест Шапиро – Уилка. Статистически значимые межгрупповые различия устанавливали, используя непараметрический критерий Манна – Уитни (выборка с ненормальным распределением). В качестве описательной статистики для переменных с количественными данными использовали медиану (25-й, 75-й процентиля). Для оценки степени взаимосвязей параметров проводился корреляционный анализ с вычислением непараметрического r_s -коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Величина уровня статистической значимости (p) $< 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование гормональных показателей женщин с СПКЯ раннего репродуктивного возраста показало увеличение в пределах референсных значений 17-ОН-прогестерона в 2,2 раза ($p = 0,0005$) по сравнению с контрольной группой. Отмечено статистически значимое повышение содержания ДГЭА-С в 1,3 раза ($p = 0,0001$) при неизменном фоне остальных гормональных показателей (табл. 1). Индекс свободных андрогенов (ИСА), рассчитанный по формуле $[\text{Тс}/\text{СССГ}] \times 100$, статистически значимо не отличался.

Андрогены как яичникового, так и надпочечникового происхождения являются основными источниками ГА у женщин с СПКЯ. По данным литературы, повышенная продукция 17-ОН-прогестерона и ДГЭА-С встречается примерно у 50 % женщин с СПКЯ. Была выдвинута гипотеза, что причиной ГА у женщин с СПКЯ с нормальной массой тела является генетически детерминированная дисрегуляция ключевого в биосинтезе андрогенов цитохрома P450c17a. Активация данного цитохрома ведёт к усилению стероидогенеза, который происходит по единому механизму как в яичниках, так и в надпочечниках. У женщин с избыточной массой тела, страдающих СПКЯ, активация андрогенной функции надпочечников связана с нарушением центральной регуляции гипоталамо-гипофизарной системы. Повышенная продукция кортиколиберина ведёт к повышенной продукции адренотропного гормона, что в свою очередь ведёт к увеличению синтеза ДГЭА-С и кортизола [22, 23].

При оценке состояния системы ПОЛ–АОЗ в группе женщин раннего репродуктивного возраста с СПКЯ на фоне неизменных первичных, вторичных и конечных показателей ПОЛ отмечается снижение уровня ретинола и увеличение окисленного глутатиона, снижение соотношения GSH/GSSG (табл. 2). Показатель общей АОА крови статистически значимо был снижен по сравнению с контрольным значением на 25 % ($p = 0,0005$). Наблюдаемые изменения в редокс-системе глутатиона могут способствовать возникновению патологических

Таблица 1

Сравнение гормональных показателей сыворотки крови между контрольной группой и группой женщин с СПКЯ в раннем репродуктивном возрасте, Ме [25%; 75%]

Comparative characteristics of serum hormonal parameters between the control group and the group of women with PCOS in early reproductive age, Me [25%; 75%]

Table 1

Показатели гормонов	Контрольная группа женщин	Группа женщин с СПКЯ
	Ранний репродуктивный возраст	
ПРЛ, мЕд./л	220,0 [185,0; 315,0]	271,0 [222,0; 421,0]
ЛГ, мМЕ/мл	6,3 [4,5; 7,8]	7,3 [4,3; 9,8]
ФСГ, мМЕ/мл	6,8 [5,8; 7,1]	5,9 [5,5; 7,3]
ЛГ/ФСГ	0,96 [0,68; 1,19]	1,07 [0,69; 1,67]
17-ОН-прогестерон, нмоль/л	2,1 [1,9; 2,8]	4,6 [3,7; 5,0]*
Тс, пг/мл	301,0 [238,76; 380,62]	255,79 [195,24; 476,61]
ДГЭА-С, мкг/дл	186,0 [112,0; 224,0]	235,0 [176,0; 322,0]*
СССГ, нМ/л	61,5 [39,6; 113,4]	45,03 [33,7; 95,6]
ИСА, %	1,32 [0,8; 2,1]	1,29 [1,01; 1,83]

Примечание. * – статистическая значимость различий с группой сравнения ($p < 0,05$).

Таблица 2

Сравнение показателей системы ПОЛ–АОЗ между контрольной группой и группой женщин с СПКЯ в раннем репродуктивном возрасте, Ме [25%; 75%]

Comparative characteristics of the LPO–AOP system in a control group and a group of women with PCOS in early reproductive age, Me [25%; 75%]

Table 2

Показатели системы ПОЛ–АОЗ		Контрольная группа	Группа женщин с СПКЯ
Показатели ПОЛ	Дв. св., усл. ед	1,7 [1,4; 2,08]	1,8 [1,54; 2,66]
	ДК, мкмоль/л	1,4 [1,22; 1,58]	1,58 [1,21; 2,22]
	КД-СТ, усл. ед	0,41 [0,36; 0,48]	0,56 [0,38; 0,78]
	ТБК-АП, мкмоль/л	1,44 [0,98; 1,83]	1,16 [0,88; 2,34]
	СОД, усл. ед	1,68 [1,59; 1,79]	1,78 [1,7; 1,87]
Показатели АОЗ	GSH, ммоль/л	2,4 [2,16; 2,6]	2,19 [1,92; 2,58]
	GSSG, ммоль/л	1,88 [1,73; 2,15]	2,15 [1,93; 2,3]*
	GSH/GSSG	1,16 [1,07; 1,41]	1,01 [0,93; 1,23]*
	Ретинол, мкмоль/л	0,68 [0,58; 0,77]	0,5 [0,44; 0,58]*
	α-токоферол, мкмоль/л	7,33 [6,14; 9,45]	6,86 [6,02; 8,11]
	АОА, ммоль/л	1,54 [1,29; 1,69]	1,16 [0,79; 1,48]*

Примечание. * – статистическая значимость различий с группой сравнения ($p < 0,05$).

состояний. Литературные данные свидетельствуют, что нарушения статуса глутатиона приводят к нарушениям репродуктивных функций: у женщин репродуктивного возраста с сахарным диабетом 1-го типа отмечаются нарушения менструального цикла [24]. У бесплодных женщин с СПКЯ отмечается увеличение концентрации окисленного глутатиона. T. Zuo et al. (2016) также сообщают, что при поликистозе яичников отмечается снижение общего антиоксидантного статуса, активности глутатиона, параксоназы 1, а также витаминов С и Е [25, 26].

В нашем исследовании отмечено увеличение концентрации GSSG на 14 % ($p = 0,0001$) при неизменном уровне GSH. Более наглядную информацию даёт соотношение GSH/GSSG, которое при сдвиге редокс-баланса в окислительном направлении у женщин с СПКЯ снижается на 13 % ($p = 0,0323$). Система глутатиона защищает от повреждения свободными радикалами мембрану клетки и внутриклеточные белки. Во многом судьбу многих клеток определяет концентрация GSH. Несмотря на то, что GSH синтезируется

непрерывно, при ОС снижается скорость его синтеза, при этом концентрация GSSG существенно возрастает. Такие изменения связаны с увеличением активности глутатион-редуктазы, которая напрямую зависит от концентрации GSSG. Внутриклеточный баланс между GSH и GSSG является динамическим индикатором ОС. Изменения этого баланса, заключающиеся в увеличении GSSG и снижении GSH/GSSG, подтверждают истощение антиоксидантной защитной системы внутри клетки. В исследуемой группе женщин с СПКЯ отмечено участие ретинола в АОЗ, уровень которого понижен на 26 % ($p = 0,0012$) по сравнению с контрольным значением. Уровень α-токоферола, который является синергистом ретинола статистически значимо не отличался. По данным литературы, у бесплодных женщин с СПКЯ отмечается одновременное снижение уровня как ретинола, так и α-токоферола [27]. Таким образом, полученные данные свидетельствуют об усилении липоперекисных процессов и ослаблении антиоксидантного защитного механизма и, как следствие, развитии ОС.

Для анализа внутри- и межсистемных взаимоотношений в контрольной группе и группе женщин с СПКЯ был проведен корреляционный анализ.

В группе здоровых женщин в раннем репродуктивном возрасте не было установлено корреляционных связей в системе гормональной регуляции. В системе ПОЛ–АОЗ установленные статистически значимые связи между Дв. св. и GSH ($r = -0,55$) и ТБК-АП и ретинолом ($r = +0,52$) указывают на наличие баланса в системе ПОЛ–АОЗ. В этой же группе женщин были обнаружены межсистемные три связи положительной направленности и одна – отрицательной. Связь между ДК и 17-ОН-прогестероном ($r = +0,52$) указывает на возможное влияние гормонов на этапе образования первичных продуктов ПОЛ. Установлена связь ДК с ЛГ ($r = +0,61$). Выявленные корреляции ТБК-АП с ПРЛ ($r = +0,52$) и ТБК-АП с Тс ($r = -0,58$) указывают на взаимосвязь гормонов и вторичных продуктов липопероксидации.

В группе женщин с СПКЯ установлена связь между Тс и 17-ОН-прогестероном ($r = +0,51$), между 17-ОН-прогестероном и ЛГ ($r = +0,35$). Установлена положительная связь между ФСГ и ПРЛ ($r = +0,44$). При изучении корреляционных связей в системе ПОЛ–АОЗ выявлена закономерная связь между Дв. св. и ДК ($r = +0,44$), указывающая на расход субстрата липопероксидации в условиях патологического состояния, что будет способствовать интенсификации процесса ПОЛ. Содержание ДК коррелирует с показателем общей АОА ($r = -0,37$) и с содержанием ретинола ($r = +0,51$). Установленные связи свидетельствуют о сохранении взаимодействия различных параметров системы ПОЛ–АОЗ. Внутри системы АОЗ было отмечено появление связей между СОД и GSH ($r = -0,35$), между СОД с GSSG ($r = -0,38$), между СОД и ретинолом ($r = +0,43$) и СОД и общей АОА ($r = -0,4$). Такие связи указывают о равномерном участии ферментативных и неферментативных антиоксидантов на различных этапах свободнорадикального окисления. В системе нейроэндокринной регуляции появляются новые связи. В отношении межсистемных связей была обнаружена одна связь ФСГ с α -токоферолом ($r = +0,38$), свидетельствующая об участии витамина в регуляции секреции этого гормона аденогипофиза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ранний репродуктивный возраст женщины является одним из важных периодов в жизни. Именно в этот период основной функцией женского организма является производство здорового потомства. Для того чтобы избежать негативных последствий в этот период у женщин с СПКЯ необходима своевременная диагностика как гормональных нарушений, так и проявлений окислительного стресса. Оценка гормональных показателей женщин раннего репродуктивного возраста показала повышение в сыворотке крови предшественника половых стероидов 17-ОН-прогестерона и андрогена надпочечникового происхождения – ДГЭА-С. Отмечен дисбаланс в системе ПОЛ–АОЗ, который проявляется в увеличении концентрации окисленного глутатиона, снижении ретинола и общей АОА на фоне неизменных показателей продуктов ПОЛ. Наблюдаемые потери функциональных связей между гормонально-метаболическими показателями, характерные для групп сравнения, а также появление новых функциональных связей указывают на дисбаланс между

системами ПОЛ–АОЗ и нейроэндокринной регуляции у женщин с СПКЯ.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости своевременной диагностики и проведения эффективной коррекции гормонально-метаболических нарушений у женщин с СПКЯ в ранний репродуктивный период.

Источник финансирования

Исследование выполнено в рамках фундаментальной темы НИР «Основные детерминанты и механизмы формирования нарушений репродуктивного здоровья семьи в различных гендерных и возрастных группах» (0542-2019-0018).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Walker W, Lizneva DV, Belenkaia LV, Lazareva LM, Suturina LV. Criteria, phenotypes and prevalence of polycystic ovary syndrome. *Minerva Ginecol.* 2019; 71(3): 211-223. doi: 10.23736/S0026-4784.19.04404-6
2. Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89(6): 2745-2749. doi: 10.1210/jc.2003-032046
3. Сутурина Л.В. Синдром поликистозных яичников в XXI веке. *Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения.* 2017; 3(17): 86-91. doi: 10.24411/2303-9698-2017-00040
4. Anagnostis P, Tarlatzis BC, Kauffman RP. Polycystic ovarian syndrome (PCOS): Long-term metabolic consequences. *Metabolism.* 2018; 86: 33-43. doi: 10.1016/j.metabol.2017.09.016
5. Barber TM, Dimitriadis GK, Andreou A, Franks S. Polycystic ovary syndrome: insight into pathogenesis and a common association with insulin resistance. *Clin Med (Lond).* 2016; 16(3): 262-266. doi: 10.7861/clinmedicine.15-6-s72
6. De Leo V, Musacchio MC, Cappelli V, Massaro MG, Morgante G, Petraglia F. Genetic, hormonal and metabolic aspects of PCOS: an update. *Reprod Biol Endocrinol.* 2016; 14(38): 1-17. doi: 10.1186/s12958-016-0173-x
7. González F, Rote NS, Minium J, Kirwan JP. Reactive oxygen species-induced oxidative stress in the development of insulin resistance and hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91(1): 336-340. doi: 10.1210/jc.2005-1696
8. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. *Eur J Med Chem.* 2015; 97: 55-74. doi: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040
9. Ramana KV, Srivastava S, Singhal SS. Lipid peroxidation products in human health and disease 2016. *Oxid Med Cell Longev.* 2017; 2017: 2163285. doi: 10.1155/2017/2163285
10. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Колесников С.И. Свободнорадикальное окисление: взгляд патофизиолога. *Бюллетень сибирской медицины.* 2017; 16(4): 16-29. doi: 10.20538/1682-0363-2017-4-16-29
11. Семёнова Н.В. Окислительный стресс и менопауза (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica.* 2014; (2): 120-125.
12. Sharma RK, Agarwal A. Role of reactive oxygen species in gynecologic diseases. Review article. *Reprod Med Biol.* 2004; 3(4): 177-199. doi: 10.1111/j.1447-0578.2004.00068.x

13. Siti HN, Kamisah Y, Kamsiah J. The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). *Vascul Pharmacol*. 2015; 71: 40-56. doi: 10.1016/j.vph.2015.03.005

14. Chandrasekaran A, Idelchik MDPS, Melendez JA. Redox control of senescence and age-related disease. *Redox Biol*. 2017; 11: 91-102. doi: 10.1016/j.redox.2016.11.005

15. Семёнова Н.В., Мадаева И.М., Даренская М.А., Колесникова Л.И. Процессы липопероксидации и система антиоксидантной защиты у женщин в менопаузе в зависимости от этнической принадлежности. *Экология человека*. 2019; (6): 30-38 doi: 10.33396/1728-0869-2019-6-30-38

16. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod*. 2004; 19(1): 41-47. doi: 10.1093/humrep/deh098

17. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г., Лифшиц Р.И. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови. *Вопросы медицинской химии*. 1989; 35(1): 127-131.

18. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Магуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой. *Вопросы медицинской химии*. 1987; 33(1): 118-122.

19. Черняускене Р.Ч., Варшкявичене З.З., Грибаускас П.С. Одновременное определение концентраций витаминов Е и А в сыворотке крови. *Лабораторное дело*. 1984; (6): 362-365.

20. Hissin PJ, Hilf R. Fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal Biochem*. 1976; 74(1): 214-226. doi: 10.1016/0003-2697(76)90326-2

21. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem*. 1972; 247(10): 3170-3175.

22. Ворохобина Н.В., Татарина М.В., Великанова Л.И., Серебрякова И.П., Малеваная Е.В., Галахова Р.К. Особенности метаболизма стероидных гормонов у женщин репродуктивного возраста с различными формами гиперандрогении. *Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова*. 2016; 8(3): 42-49.

23. Манухин И.Б., Геворкян М.А., Минкина Г.Н., Манухина Е.И., Бахис Х. Восстановление репродуктивного здоровья у больных с надпочечниковой гиперандрогенией. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2004; 3(6): 7-11.

24. Колесникова Л.И., Гребенкина Л.И., Даренская М.А., Власов Б.Я. Окислительный стресс как неспецифическое патогенетическое звено репродуктивных нарушений (обзор). *Сибирский научный медицинский журнал*. 2012; 32(1): 58-66.

25. Zuo T, Zhu M, Xu W. Roles of oxidative stress in polycystic ovary syndrome and cancers. *Oxid Med Cell Longev*. 2016; 1-14. doi: 10.1155/2016/8589318

26. Колесникова Л.И., Корнакова Н.В., Лабыгина А.В., Петрова В.А., Шолохов Л.Ф., Долгих М.И., и др. Состояние гормонально-метаболических процессов у женщин с поликистозом яичников и бесплодием. *Бюллетень СО РАМН*. 2008; 28(1): 21-25.

27. Kolesnikova LI, Kolesnikov SI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Nikitina OA, Lazareva LM, et al. Activity of LPO processes in women with polycystic ovarian syndrome and infertility. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2017; 162(3): 320-322. doi: 10.1007/s10517-017-3605-5

REFERENCES

1. Walker W, Lizneva DV, Belenkaia LV, Lazareva LM, Suturina LV. Criteria, phenotypes and prevalence of polycystic ovary syndrome. *Minerva Ginecol*. 2019; 71(3): 211-223. doi: 10.23736/S0026-4784.19.04404-6

2. Azziz R, Woods KS, Reyna R, Key TJ, Knochenhauer ES, Yildiz BO. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89(6): 2745-2749. doi: 10.1210/jc.2003-032046

3. Suturina LV. Polycystic ovary syndrome in the 21st century. *Akusherstvo i ginekologiya: novosti, mneniya, obuchenie*. 2017; 3(17): 86-91. doi: 10.24411/2303-9698-2017-00040 (In Russ.)

4. Anagnostis P, Tarlatzis BC, Kauffman RP. Polycystic ovarian syndrome (PCOS): Long-term metabolic consequences. *Metabolism*. 2018; 86: 33-43. doi: 10.1016/j.metabol.2017.09.016

5. Barber TM, Dimitriadis GK, Andreou A, Franks S. Polycystic ovary syndrome: insight into pathogenesis and a common association with insulin resistance. *Clin Med (Lond)*. 2016; 16(3): 262-266. doi: 10.7861/clinmedicine.15-6-s72

6. De Leo V, Musacchio MC, Cappelli V, Massaro MG, Morgante G, Petraglia F. Genetic, hormonal and metabolic aspects of PCOS: an update. *Reprod Biol Endocrinol*. 2016; 14(38): 1-17. doi: 10.1186/s12958-016-0173-x

7. González F, Rote NS, Minium J, Kirwan JP. Reactive oxygen species-induced oxidative stress in the development of insulin resistance and hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91(1): 336-340. doi: 10.1210/jc.2005-1696

8. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. *Eur J Med Chem*. 2015; 97: 55-74. doi: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040

9. Ramana KV, Srivastava S, Singhal SS. Lipid peroxidation products in human health and disease 2016. *Oxid Med Cell Longev*. 2017; 2017: 2163285. doi: 10.1155/2017/2163285

10. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Kolesnikov SI. Free radical oxidation: a pathophysiological view. *Byulleten sibirskoy mediciny*. 2017; 16(4): 16-29. doi: 10.20538/1682-0363-2017-4-16-29 (In Russ.)

11. Semyonova N.V. Oxidative stress and menopause (review of literature). *Acta biomedica scientifica*. 2014; (2): 120-125. (In Russ.)

12. Sharma RK, Agarwal A. Role of reactive oxygen species in gynecologic diseases. Review article. *Reprod Med Biol*. 2004; 3(4): 177-199. doi: 10.1111/j.1447-0578.2004.00068.x

13. Siti HN, Kamisah Y, Kamsiah J. The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). *Vascul Pharmacol*. 2015; 71: 40-56. doi: 10.1016/j.vph.2015.03.005

14. Chandrasekaran A, Idelchik MDPS, Melendez JA. Redox control of senescence and age-related disease. *Redox Biol*. 2017; 11: 91-102. doi: 10.1016/j.redox.2016.11.005

15. Semenova NV, Madaeva IM, Darenskaya MA, Kolesnikova LI. Lipid peroxidation and antioxidant defense system in menopausal women of different ethnic groups. *Human Ecology*. 2019; (6): 30-38. doi: 10.33396/1728-0869-2019-6-30-38 (In Russ.)

16. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS consensus workshop group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod.* 2004; 19(1): 41-47. doi: 10.1093/humrep/deh098
17. Volchegorskiy IA, Nalimov AG, Yarovinskiy BG, Lifshits RI. Comparison of different approaches to the determination of lipid peroxidation products in heptane-isopropanol blood extracts. *Voprosy meditsinskoy khimii.* 1989; 35(1): 127-131. (In Russ.)
18. Gavrilov VB, Gavrilova AR, Magul LM. Analysis of the methods of determination of lipid peroxidation products in blood serum by the test with thiobarbituric acid. *Voprosy meditsinskoy khimii.* 1987; 33(1): 118-122. (In Russ.)
19. Chernyauskene RCh, Varshkyavichene ZZ, Gribauskas PS. Simultaneous determination of vitamins E and A in blood serum. *Laboratornoe delo.* 1984; (6): 362-365. (In Russ.)
20. Hissin PJ, Hilf R. Fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal Biochem.* 1976; 74(1): 214-226. doi: 10.1016/0003-2697(76)90326-2
21. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem.* 1972; 247(10): 3170-3175.
22. Vorokhobina NV, Tatarinova MV, Velikanova LI, Serebryakova IP, Malevanaya EV, Galahova RK. Features of steroid hormone metabolism in fertile age females with various forms of hyperandrogenism. *Herald of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov.* 2016; 8(3): 42-49. (In Russ.)
23. Manukhin IB, Gevorkyan MA, Minkina GN, Manukhina EI, Bakhis H. Recovery of reproductive function in patients with suprarrenal hyperandrogenia. *Voprosy ginekologii, akusherstva i perinatologii.* 2004; 3(6): 7-11. (In Russ.)
24. Kolesnikova LI, Grebenkina LA, Darenskaya MA, Vlasov BYa. Oxidative stress as nonspecific pathogenetic link of reproductive disorders (systematic review). *Sibirskiy nauchnyy medicinskij zhurnal.* 2012; 32(1): 58-66. (In Russ.)
25. Zuo T, Zhu M, Xu W. Roles of oxidative stress in polycystic ovary syndrome and cancers. *Oxid Med Cell Longev.* 2016; 1-14. doi: 10.1155/2016/8589318
26. Kolesnikova LI, Kornakova NV, Labigina AV, Petrova VA, Sholokhov LF, Dolgih MI, et al. Hormonal-metabolic processes condition of women with polycystic ovaries and infertility. *Byulleten SO RAMN.* 2008; 28(1): 21-25. (In Russ.)
27. Kolesnikova LI, Kolesnikov SI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Nikitina OA, Lazareva LM, et al. Activity of LPO processes in women with polycystic ovarian syndrome and infertility. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2017; 162(3): 320-322. doi: 10.1007/s10517-017-3605-5

Сведения об авторах

Круско Ольга Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: panarinao08@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9111-7914>

Рашидова Мария Александровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: stella-m90@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4730-5154>

Бричагина Анастасия Сергеевна – лаборант-исследователь лаборатории патофизиологии репродукции, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: tasi121212@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1055-4608>

Шарифулин Эльдар Махарамович – аспирант, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: sharifulja@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7245-9289>

Беленькая Лилия Васильевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: Drblv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4904-3709>

Information about the authors

Olga V. Krusko – Junior Research Officer at the Laboratory of Physiology and Pathology of Endocrine System, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: panarinao08@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9111-7914>

Maria A. Rashidova – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Physiology and Pathology of Endocrine System, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: stella-m90@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4730-5154>

Anastasia S. Brichagina – Research Assistant at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: tasi121212@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1055-4608>

Eldar M. Sharifulin – Postgraduate, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: sharifulja@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1055-4608>

Liliya V. Belenkaya – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Physiology and Pathology of the Endocrine System, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: Drblv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4904-3709>

Вклад авторов

Круско О.В. – проведение практической части исследования, анализ и интерпретация данных, написание текста статьи.

Рашидова М.А. – проведение практической части исследования.

Бричагина А.С. – проведение практической части исследования.

Шарифулин Э.М. – набор клинического материала.

Беленькая Л.В. – набор клинического материала.

Статья получена: 10.06.2020. Статья принята: 07.09.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 10.06.2020. Accepted: 07.09.2020. Published: 26.12.2020.

Особенности хронического эндометрита у женщин репродуктивного возраста с синдромом поликистозных яичников*

Шарифулин Э.М., Игумнов И.А., Круско О.В., Аталян А.В., Сутурина Л.В.

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

Автор, ответственный за переписку: Шарифулин Эльдар Махарамович, e-mail: sharifulja@mail.ru

Резюме

Обоснование. Среди женщин с репродуктивными расстройствами хронический эндометрит встречается с частотой, достигающей 68 %, и характеризуется мало- или бессимптомным течением. Синдром поликистозных яичников (СПКЯ) – наиболее распространённое эндокринное расстройство среди женщин, являющееся частой причиной репродуктивных нарушений, однако данных об особенностях манифестации хронического эндометрита у пациенток с СПКЯ недостаточно. СПКЯ связан с метаболическим синдромом и ассоциирован с системным хроническим воспалением, однако сведения о роли системного хронического воспаления в патогенезе хронического эндометрита у женщин с СПКЯ отсутствуют.

Цель работы: определить клинические и морфологические особенности хронического эндометрита у женщин с синдромом поликистозных яичников и установить роль системного воспаления и гормонов гипоталамо-гипофизарно-овариальной системы при хроническом эндометрите, ассоциированном с СПКЯ.

Материалы и методы. В ходе кросс-секционного исследования в мае 2017 г. – декабре 2019 г. нами было обследовано 198 женщин репродуктивного возраста ($33,71 \pm 5,93$ года), проходивших ежегодный профилактический осмотр. В работе применялись клинические, инструментальные и лабораторные методы исследования, включающие гормональные, биохимические, иммуногистохимические методы и статистический анализ полученных данных.

Результаты. Из 198 обследованных женщин, 44 из которых имели СПКЯ, хронический эндометрит был диагностирован у 76 человек, в том числе – у 15 пациенток с СПКЯ. Особенностью проявлений хронического эндометрита при СПКЯ явилось относительное уменьшение продолжительности менструального цикла и меньшая выраженность лимфоидной инфильтрации ткани эндометрия в сравнении с таковыми при хроническом эндометрите, не ассоциированном с СПКЯ. Хронический эндометрит у женщин репродуктивного возраста не был ассоциирован с изменениями гонадотропинов, пролактина, проявлениями клинической и биохимической гиперандрогении. Независимо от наличия или отсутствия СПКЯ, хронический эндометрит не сопровождался повышением концентраций С-реактивного белка. Установлено, что женщины, не имеющие хронического эндометрита, имеют относительно повышенное повышение индекса массы тела, окружности талии и уровней лептина, в сравнении с пациентками с хроническим эндометритом. Однако эта закономерность характерна, в основном, для женщин, не имеющих СПКЯ.

Заключение. Специфичность клинических проявлений хронического эндометрита при СПКЯ позволяет рассматривать их как диагностически значимые. Выявленные отрицательные ассоциации хронического эндометрита с индексом массы тела, окружностью талии и лептином требуют дальнейшего изучения роли продуктов жировой ткани в контроле над процессами как локального, так и системного воспаления.

Ключевые слова: хронический эндометрит, синдром поликистозных яичников, СПКЯ, ИМТ, лептин, С-реактивный белок

Для цитирования: Шарифулин Э.М., Игумнов И.А., Круско О.В., Аталян А.В., Сутурина Л.В. Особенности хронического эндометрита у женщин репродуктивного возраста с синдромом поликистозных яичников. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 27-36. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.3.

Features of Chronic Endometritis in Women of Reproductive Age with Polycystic Ovary Syndrome

Sharifulin E.M., Igumnov I.A., Krusko O.V., Atyan A.V., Suturina L.V.

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

Corresponding author: Eldar M. Sharifulin, e-mail: sharifulja@mail.ru

Abstract

Background. The prevalence of chronic endometritis among women of reproductive age reaches 68 %. Polycystic ovary syndrome (PCOS) is a common cause of reproductive disorders. Data on the characteristics of the manifestation of chronic endometritis in patients with PCOS are incredibly insufficient. PCOS is known as closely associated with metabolic syndrome and chronic systemic inflammation. However, there is no information on the role of chronic systemic inflammation in the pathogenesis of chronic endometritis in women with PCOS.

The objective. Determination of the clinical and morphological features of chronic endometritis in women with polycystic ovary syndrome and to establish the role of systemic inflammation and hormones of the hypothalamic-pituitary-ovarian axis in chronic endometritis associated with PCOS.

Materials and methods. We performed a cross-sectional study from May 2017 to December 2019 and examined 198 women of reproductive age (33.71 ± 5.93 years) during annual preventive examinations. We used clinical, in-

* Статья опубликована по материалам доклада на IV Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 16 октября 2020 года).

strumental, and laboratory research methods, including hormonal, biochemical, immunohistochemical techniques, and statistical analysis.

Results. Of the 198 women examined chronic endometritis was diagnosed in 76 patients, including 15 patients with PCOS. Chronic endometritis in PCOS is characterized by a relative decrease in the duration of the menstrual cycle and less pronounced lymphoid infiltration of endometrial tissue. The risk of chronic endometritis in women of reproductive age is not associated with changes in gonadotropins, prolactin, and manifestations of clinical and biochemical hyperandrogenism. Chronic endometritis is not accompanied by an increase in the concentration of C-reactive protein. At the same time, BMI, waist circumference, and leptin are considered «anti-risk» factors for chronic endometritis.

Conclusion. The specific clinical manifestations of chronic endometritis in PCOS allows us to consider them as diagnostically significant. The revealed negative associations of chronic endometritis with BMI, waist circumference, and leptin require further investigation of the role of adipose tissue products in the control of local and systemic inflammation.

Key words: chronic endometritis, polycystic ovary syndrome, PCOS, BMI, leptin, C-reactive protein

For citation: Sharifulin E.M., Igumnov I.A., Krusko O.V., Atalyan A.V., Suturina L.V. Features of Chronic Endometritis in Women of Reproductive Age with Polycystic Ovary Syndrome. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 27-36. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.3.

ВВЕДЕНИЕ

Хронический эндометрит (ХЭ) – это клинко-морфологический синдром, при котором в результате воздействия на эндометрий инфекционных, вирусных, а зачастую неустановленных агентов возникают характерные морфофункциональные изменения, ассоциированные с нарушениями менструальной и репродуктивной функции женского организма [1, 2, 3, 4].

Наиболее надёжным методом диагностики ХЭ является выявление плазмочитов с использованием иммуногистохимической реакции с антителом к плазмочитарному маркеру CD138, также известному как синдекан-1 или гепарансульфат протеогликана трансмембранного типа [5, 6, 7]. Метод иммуноокрашивания CD138 для обнаружения эндометриальных стромальных плазмочитов значительно превосходит традиционный подход к с использованием метилового зелёного-пиронина, гематоксилина и еозина (отношение шансов – 2,8; чувствительность – 100 % против 75 %; специфичность – 100 % против 65 %) [8, 9].

Ряд исследователей на основе данных биопсии пациенток, перенёсших гистерэктомию по поводу доброкачественных гинекологических заболеваний, показали, что распространённость ХЭ составляет 10–11 % [3]. Среди женщин с бесплодием, по разным данным, распространённость хронического эндометрита варьирует от 2,8 до 68 % [10, 11, 12, 13]. Такая вариабельность связана с трудностями диагностики, бессимптомным течением заболевания и использованием исследователями различных морфологических критериев заболевания. ХЭ, как правило, протекает бессимптомно: например, по данным S.B. Bhagwadeen (1976), у 35–40 % пациенток какие-либо клинические симптомы заболевания отсутствуют [14]. Наиболее частым эндокринным расстройством у женщин и одной из распространённых причин эндокринного бесплодия является синдром поликистозных яичников (СПКЯ) [15, 16], однако данных о частоте и особенностях манифестации ХЭ у пациенток с СПКЯ крайне недостаточно. Имеются сведения об изменениях воспалительного характера в эндометрии при СПКЯ [17, 18], тем не менее, до настоящего времени не установлено, насколько характерен ХЭ при гиперандрогенизме, и отсутствуют согласованные подходы к его диагностике при СПКЯ. Известно, что СПКЯ тесно связан с избыточной массой тела и метаболическим синдромом, а также, опосредованно, ассоциирован с системным хроническим воспалением (ХСВ) [19, 20, 21], однако сведения о роли ХСВ в патогенезе ХЭ у женщин с СПКЯ отсутствуют.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определить клинические и морфологические особенности хронического эндометрита у женщин с синдромом поликистозных яичников, и установить роль системного воспаления и гормонов гипоталамо-гипофизарно-овариальной системы и при ХЭ, ассоциированном с СПКЯ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ходе кросс-секционного исследования нами было обследовано 198 женщин репродуктивного возраста ($33,71 \pm 5,93$ года), которые были рекрутированы во время ежегодных профилактических осмотров на базе ФБГНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (г. Иркутск). Период проведения исследования: май 2017 г. – декабрь 2019 г. Исследование проводилось в рамках выполнения госзадания по поисковой теме «Раннее выявление и коррекция нейро-эндокринно-обменных и психоэмоциональных проявлений репродуктивных нарушений, ассоциированных с гиперандрогенией» (№ гос. регистрации АААА-А18-118011990043-5). В работе с пациентками соблюдены этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (ред. 1964, 2012 гг.). Проведение данного исследования было одобрено локальным Этическим комитетом. Все участницы подписали информированное согласие на обследование. Критериями включения в исследование были: возраст 18–45 лет, наличие письменного информированного согласия, готовность участницы соблюдать все процедуры исследования, доступность в течение всего срока исследования. Критериями исключения являлись текущая беременность или кормление грудью; гистерэктомия в анамнезе, двусторонняя овариэктомия, абляция эндометрия и/или эмболизация маточной артерии; текущее или предыдущее (в течение 3 месяцев) употребление гормональных препаратов и инсулиносенситайзеров; нежелание участвовать или трудности в понимании информированного согласия или целей и требований исследования, острые воспалительные заболевания органов малого таза, эндокринные расстройства – гипотиреоз, гиперпролактинемия, врождённая дисфункция коры надпочечников (ВДКН). СПКЯ диагностировали в соответствии с критериями, принятыми ESHRE/ASRM [22], при наличии, как минимум, двух из трёх признаков: клинический и/или биохимический гиперандрогенизм, олиго/ановуляция, поликистозная структура яичников при ультразвуковом исследовании органов малого таза.

Все женщины прошли стандартное медицинское обследование, включавшее анкетный опрос, общий осмотр с измерением АД, окружностей талии и бёдер, определением ИМТ по формуле G. Brey (1978): масса тела в килограммах, делённая на рост в квадрате, выраженный в метрах ($\text{кг}/\text{м}^2$), оценкой наличия или отсутствия гирсутизма, с использованием модифицированной шкалы Ферримана – Галлвея (mFG).

Проводилось гинекологическое бимануальное обследование с исследованием PAP-мазков, УЗИ органов малого таза с использованием аппарата Mindray M7 (MINDRAY, KHP), с использованием трансвагинального датчика (5,0–8,0 МГц) для сексуально активных субъектов и трансабдоминального датчика (2,5–5,0 МГц) – для женщин, которые никогда не были сексуально активны. При оценке результатов PAP-мазков у всех женщин, включённых в исследование, результат цитологической картины соответствовал NILM (по классификации Bethesda). После оценки результатов мазка на микрофлору влагалища и ПЦР-анализа на ИППП, на 8–10-е дни менструального цикла проводилась Пайпель-биопсия эндометрия. При олигоановуляции эндометрий оценивался в цикле после перорального приёма дидрогестерона (10 мг в день, течение 10 дней). С целью выявления группы женщин с ХЭ полученные образцы эндометрия подвергались морфологическому и иммуногистохимическому исследованию, которое включало определение уровня экспрессии CD138 с использованием стандартных наборов антител «Dako» (Дания). Результаты оценивались по наличию или отсутствию положительной цитоплазматической реакции отдельных клеток в строме эндометрия (плазматические клетки). Морфологическое и иммуногистохимическое исследование всех образцов проводили в патологоанатомическом отделении на базе ГБУЗ «Иркутское областное патологоанатомическое бюро» (руководитель – к.м.н. Каня О.В.).

Для лабораторных исследований у каждой пациентки после 15-минутного отдыха, натошак, с 8 до 9 часов утра, с учётом фаз менструального цикла, забирали кровь из локтевой вены с помощью одноразовых систем (BDVacutainer). После взятия венозная кровь своевременно доставлялась в лабораторию. Сыворотку крови для исследований получали путём центрифугирования пробирок при 3000 об./мин в течение 10 минут. Полученная сыворотка хранилась в одноразовых пробирках типа Eppendorf при минус 80 °С, размораживание при необходимости производили не более одного раза. В исследуемых образцах сыворотки определяли тиреотропный гормон, пролактин, лютеинизирующий гормон, фолликулостимулирующий гормон, 17-ОН-прогестерон (17-ОН-Пр), СССГ и С-реактивный белок (СРБ) с использованием тест-систем «Вектор-Бест» (методом конкурентного твердофазного иммуноферментного анализа, иммуноферментный анализатор ELx808 Bio Tek (США)). Количественное определение концентрации лептина проводили с использованием тест-системы Diagnostics Biochem Canada Inc. (DBC) (Канада) на иммуноферментном анализаторе ELx808 Bio Tek (США). Общий тестостерон (Тс) определяли методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии на жидкостном хроматографе с тройным квадрупольным масс-спектрометром LCMS-8060 Shimadzu (Япония), концентрации дегидро-

эпиандростерон-сульфата определяли с применением наборов Siemens HealthCare Diagnostics Products GmbH (Германия) и анализатора Immulite 1000 (Siemens Health Care Diagnostics Inc, США).

Расчёт объёма выборки произведён с использованием интерактивной программы «PS: Power and Sample Size Calculation» версии 3.1.2 (Vanderbilt University, США, 2014) (Dupont W.D., Plummer W.D., 1990). Ввод данных исследования и управление ими (создание отчётов, экспорт данных для статистического анализа в специализированный пакет прикладных программ Statistica 6.1 (StatSoft Inc., США) осуществлялся при помощи информационной системы REDCap, которая развёрнута на сервере ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ [23].

Методы статистического анализа включали в себя описательную статистику, тестирование статистических гипотез, анализ связей между переменными, построение статистических моделей.

Для проверки статистической гипотезы о равенстве двух независимых выборок в случае нормально распределённых непрерывных величин использован параметрический критерий Стьюдента (*t*-test). В случае распределения величин отличного от нормального закона – непараметрический критерий Манна – Уитни (Mann – Whitney) при попарном сравнении групп. При анализе таблиц сопряжённости 2×2: критерий χ^2 , критерий χ^2 с поправкой Йетса (Yates corrected Chi-square), двусторонний точный критерий Фишера (two-tailed Fisher exact). Для выбора необходимого из перечисленных методов рассчитывались ожидаемые частоты.

Для оценки рисков были использованы модели логистической регрессии с представлением результатов моделирования в виде значений отношения шансов (ОШ) и 95 % доверительных интервалов (ДИ) для факторов, рассматриваемых как потенциально значимые относительно тестируемых гипотез и для оценки их вклада в реализацию риска/анти-риска. Выбранный уровень статистической значимости α равен 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно результатам морфологического исследования, из 198 обследованных женщин нормальная характеристика эндометрия обнаружена у 96 женщин (48,5 % случаев), из них у 94 (97,91 %) эндометрий был пролиферативного типа. Патология эндометрия выявлена у 98 пациенток (48,9 % случаев), недостаточно материала – у 3 женщин (2,6 %).

Наиболее частой патологией эндометрия явился хронический эндометрит (ХЭ), который был выявлен у 76 женщин (38,4 % обследованных). Пролиферативный эндометрий с нарушениями обнаружен у 9 женщин (4,5 %). Аномальный гипопластический эндометрий выявлен у 12 пациенток (6,03 %). Простая гиперплазия эндометрия установлена у 1 пациентки (0,5 %). В биоптате эндометрия 1 пациентки была идентифицирована аденокарцинома (0,25 %). В двух образцах пайпель-биоптата обнаружена сочетанная патология эндометрия (в одном случае – простая гиперплазия эндометрия с хроническим эндометритом, в другом – аномальный гипопластический эндометрий с хроническим эндометритом).

Частота выявленных нарушений состояния эндометрия и структура данных нарушений не зависели от наличия или отсутствия СПКЯ (табл. 1).

Результаты исследования эндометрия в группах пациенток с СПКЯ и его отсутствием

Таблица 1

Results of the endometrium study in groups of patients with PCOS and with no PCOS

Table 1

Параметры	Пациентки с СПКЯ (n = 44)	Пациентки без СПКЯ (n = 153)	P _{1–2}
	1	2	
Результаты биопсии эндометрия, n/N (%)			
Норма	23/44 (54,3 %)	73/153 (47,6 %)	0,31
Патология	20/44 (43,2 %)	78/153 (51,1 %)	
Эндометриальная ткань отсутствует	0/44 (0 %)	0/153 (0 %)	
Недостаточно материала	1/44 (2,5 %)	2/153 (1,3 %)	
Варианты патологии эндометрия, n/N (%)			
Пролиферативный эндометрий с нарушениями, отличными от гиперплазии эндометрия	1/20 (5,26 %)	8/78 (10,26 %)	0,08
Аномальный гипопластический эндометрий	4/20 (21,05 %)	8/78 (10,26 %)	0,19
Гиперплазия эндометрия	0/20 (0 %)	1/78 (1,28 %)	0,62
Полип эндометрия	0/20 (0 %)	0/78 (0 %)	0,62
Рак эндометрия	0/20 (0 %)	1/78 (1,28 %)	
Признаки хронического эндометрита	15/20 (78,95 %)	61/78 (78,21 %)	0,93

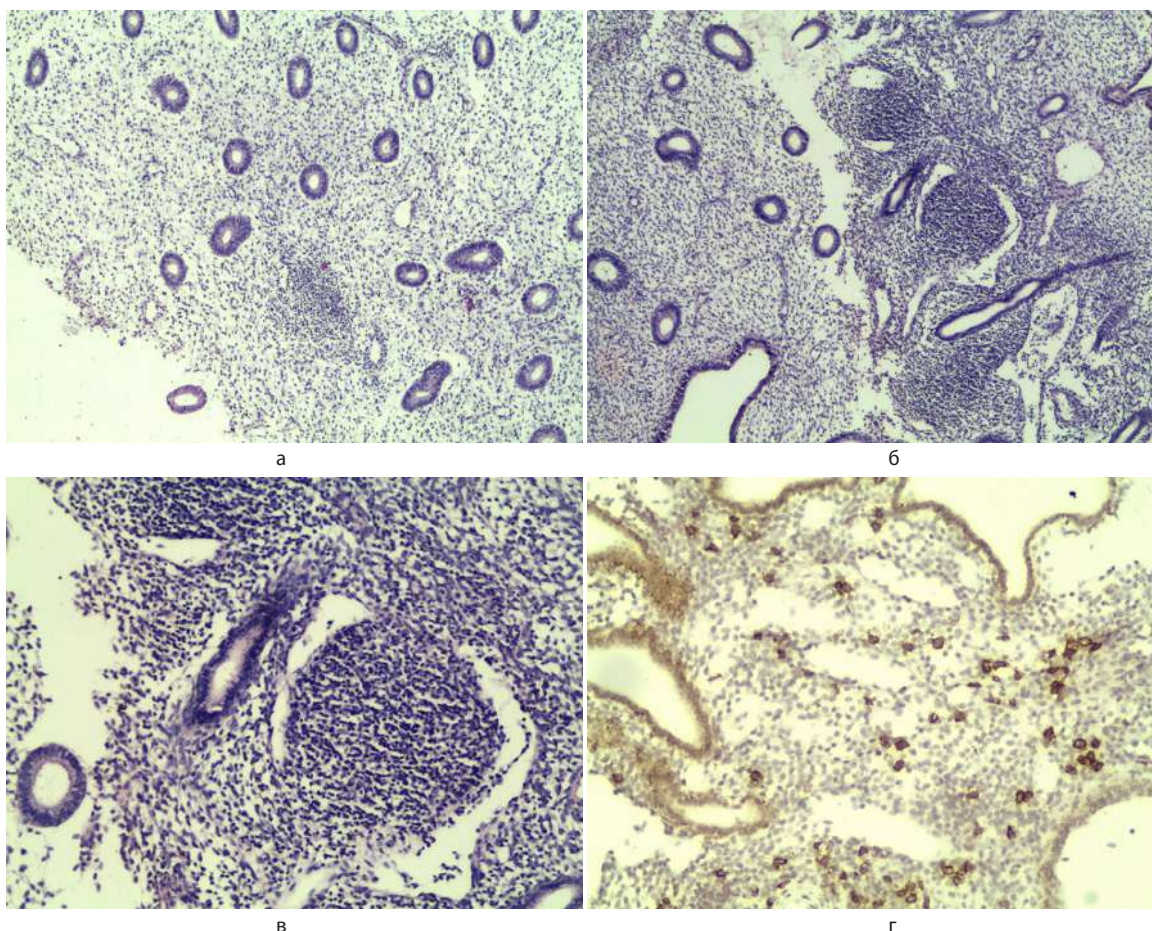


Рис. 1. Хронический эндометрит. Эндометрий фазы пролиферации с очаговой лимфоидной инфильтрацией с формированием лимфоидных фолликулов. а, б – окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$; в – окраска гематоксилином и эозином, $\times 1000$; г – пролиферация плазматических клеток. Иммуногистохимическая реакция на CD138, $\times 1000$

Fig. 1. Chronic endometritis. Proliferative endometrium is focally infiltrated with lymphoid cells with formation lymphoid aggregates. а, б – hematoxylin and eosin staining, $\times 400$; в – hematoxylin and eosin staining, $\times 1000$; г – proliferation of plasma cells. Immunostaining for CD138, $\times 1000$

В целом основными морфологическими признаками, выявленными при хроническом эндометрите, были:

склероз сосудов – 17/76 (22,4 %), склероз стромы – 23/76 (30,3 %), лимфоидные фолликулы – 23/76 (30,3 %) (рис. 1),

лимфоидная инфильтрация – 68/76 (89,5 %), наличие клубков спиральных артерий – 67/76 (88,2 %), наличие плазматических клеток – 76/76 (100 %). Минимальная степень выраженности лимфоидной инфильтрации отмечалась у 31/68 (45,6 %) женщин с ХЭ, умеренная – у 31/68 (45,6 %), выраженная – у 6/68 (8,8 %). При оценке экспрессии CD138 в строме эндометрия у 12 из 76 женщин с ХЭ (15,8 %) реакция была в большинстве клеток, у 26 (34,2 %) – менее, чем в половине клеток, реакция в единичных клетках была обнаружена у 38 (50 %) пациенток. Среди всех обследованных 44 женщины имели СПКЯ, среди них ХЭ был выявлен у 15. Существенных различий в группах с СПКЯ и без СПКЯ по выраженности экспрессии CD138 выявлено не было (табл. 2).

В то же время по степени выраженности лимфоидной инфильтрации женщины с хроническим эндометритом в группах с СПКЯ и без СПКЯ существенно отличались. Так, доля женщин с умеренной степенью лимфоидной инфильтрации была выше среди пациенток без СПКЯ, при отсутствии существенных различий по частоте минимальной и выраженной инфильтрации.

При анализе клинико-анамнестических данных, характеризующих женщин с ХЭ и без ХЭ, установлено, что независимо от наличия или отсутствия СПКЯ они были сопоставимы по следующим параметрам: возраст пациентки, возраст менархе, средняя продолжительность менструального цикла и длительность менструации, паритет и исходы беременностей. Специфичным для женщин с СПКЯ оказалось относительное уменьшение при ХЭ минимальной продолжительности менструального цикла до $24,36 \pm 4,41$ дня против $30,14 \pm 7,84$ дня в группе женщин с СПКЯ, не имеющих ХЭ ($p = 0,01$). У женщин, не имеющих СПКЯ, данных различий отмечено не было (табл. 3).

Результаты объективного обследования пациенток представлены в таблице 4.

Как видно из таблицы 4, в группе женщин с СПКЯ не выявлено отличий антропометрических данных при наличии и отсутствии ХЭ. Напротив, при отсутствии СПКЯ женщины с ХЭ характеризовались существенно меньшими значениями веса, ИМТ, окружности талии и бедер в сравнении с пациентками без ХЭ.

Основные гормональные характеристики и маркеры системного воспаления у пациенток с хроническим эндометритом и СПКЯ представлены в таблице 5. В группе женщин с СПКЯ значимых различий изученных гормональных показателей и СРБ, при наличии и отсутствии ХЭ, выявлено не было. При этом среди пациенток с ХЭ и СПКЯ отмечены закономерно более высокие значения ЛГ, ДГЭАС, с одновременным снижением концентраций СССГ в сравнении с группой с ХЭ без СПКЯ. При отсутствии СПКЯ ХЭ был ассоциирован с относительным повышением уровней СССГ и 17-ОН-прогестерона, в то же время более высокие концентрации адипокина лептина регистрировались при отсутствии ХЭ.

Примечательно, что, согласно полученным данным, независимо от наличия или отсутствия СПКЯ, ХЭ не сопровождается повышением концентраций С-реактивного белка-одного из основных маркеров хронического системного воспаления. При проведении регрессионного анализа было установлено, что положительную ассоциацию с С-реактивным белком ($\beta = 4,5466$; $p = 0,001$) имеет ожирение.

Результаты интегральной оценки риска хронического эндометрита с учётом антропометрических данных, возраста и наличия или отсутствия СПКЯ представлены в таблице 6.

Морфологические признаки хронического эндометрита и экспрессия CD138 у женщин с СПКЯ и без СПКЯ

Таблица 2

Morphological signs of chronic endometritis and CD138 expression in women with and without PCOS

Table 2

Параметры	Пациентки с хроническим эндометритом (n = 76)		P ₁₋₂
	Пациентки с СПКЯ (n = 15)	Пациентки без СПКЯ (n = 61)	
	1	2	
Склероз сосудов, n/N (%)	2/15 (13,33 %)	15/61 (24,59 %)	0,35
Склероз стромы, n/N (%)	3/15 (20,00 %)	20/61 (32,79 %)	0,34
Лимфоидные фолликулы, n/N (%)	6/15 (40,00 %)	17/61 (27,87 %)	0,36
Лимфоидная инфильтрация, n/N (%)	14/15 (93,33 %)	54/61 (88,52 %)	0,58
Наличие клубков спиральных артерий, n/N (%)	12/15 (80,0 %)	55/61 (90,16 %)	0,28
Наличие плазматических клеток, n/N (%)	15/15 (100 %)	61/61 (100 %)	1,0
Степень выраженности лимфоидной инфильтрации, n/N (%)			
Выраженная	3/14 (21,43 %)	3/54 (5,56 %)	0,06
Умеренная	2/14 (14,29 %)	29/54 (53,70 %)	0,009
Минимально выраженная	9/14 (64,29 %)	22/54 (40,74 %)	0,12
Экспрессия CD138 в строме эндометрия, n/N (%):			
Реакция есть в большинстве клеток (+++)	5/15 (33,34 %)	7/61 (11,48 %)	0,20
Реакция есть менее чем в половине клеток (++)	2/15 (13,33 %)	24/61 (39,34 %)	0,17
Реакция есть в единичных клетках (+)	8/15 (53,33 %)	30/61 (49,18 %)	0,77
Нет реакции (0)	0/15 (0 %)	0/61 (0 %)	0,55

Таблица 3

Характеристика клинико-анамнестических данных женщин репродуктивного возраста

Table 3

Characteristics of clinical and anamnestic data of women of reproductive age

Показатели	Группа женщин с СПКЯ (n = 44)			Группа женщин без СПКЯ (n = 153)		
	Пациентки с ХЭ	Пациентки	p	Пациентки с ХЭ	Пациентки	p
	(n = 15)	без ХЭ (n = 29)		(n = 61)	без ХЭ (n = 92)	
	M ± SD Median (Lower Q; Upper Q)			M ± SD Median (Lower Q; Upper Q)		
Возраст менархе, лет	13,0 ± 2,45 12,5 (11; 14)	13,28 ± 2,10 13 (12; 15)	0,70	13,49 ± 1,64 13,0 (13; 14)	13,23 ± 1,39 13,0 (12; 14)	0,29
Средняя продолжительность менструального цикла, дней	29,43 ± 4,67 29,0 (28; 30)	35,10 ± 14,97 32,0 (28; 35)	0,18	28,36 ± 3,51 28,0 (27; 30)	28,23 ± 3,42 28,0 (26; 30)	0,83
Длительность менструации, дни	5,57 ± 1,09 5,0 (5; 7)	5,24 ± 1,12 5,0 (5; 6)	0,37	5,21 ± 1,27 5,0 (5; 6)	4,9 ± 1,15 5,0 (4; 5)	0,12
Объём менструального кровотечения по шкале РВАС, сумма баллов	179,21 ± 251,81 71,5 (53; 200)	93,37 ± 66,14 80 (45; 117)	0,09	82,46 ± 56,81 68,0 (42; 123,0)	100,68 ± 88,31 81,5 (45; 114)	0,16
Минимальная продолжительность менструального цикла, дней	24,36 ± 4,41 25,5 (20; 28)	30,14 ± 7,84 28 (28; 30)	0,01*	26,01 ± 2,87 26 (24; 28)	25,79 ± 2,85 26 (24; 28)	0,63
Максимальная продолжительность менструального цикла, дней	43,5 ± 21,55 35,5 (30; 0)	64,93 ± 43,82 45 (35; 90)	0,09*	33,59 ± 19,89 30 (28; 34)	32,02 ± 8,91 30 (28; 34)	0,51
Общее количество беременностей	1,71 ± 2,33 1,0 (0; 2)	1,34 ± 1,76 1,0 (0;2)	0,57	2,34 ± 1,89 2,0 (1; 3)	2,96 ± 2,87 2,0 (1; 4)	0,15
Количество живорождённых	0,5 ± 0,52 0,5 (0; 1)	0,52 ± 0,51 1 (0; 1)	0,92	0,78 ± 0,41 1,0 (1; 1)	0,76 ± 0,43 1,0 (1; 1)	0,66
Количество самопроизвольных выкидышей	0,071 ± 0,27 0 (0; 0)	0,103 ± 0,409 0 (0; 0)	0,79	0,16 ± 0,37 0 (0; 0)	0,20 ± 0,79 0 (0; 0)	0,74
Количество неразвивающихся беременностей	0 0 (0; 0)	0 0 (0;0)		0,02 ± 0,13 0 (0; 0)	0,07 ± 0,29 0 (0; 0)	0,21
Количество медицинских абортoв	0,71 ± 1,33 0 (0; 1)	0,41 ± 0,82 0 (0; 0)	0,37	0,67 ± 1,03 0 (0; 1)	1,17 ± 1,98 0 (0; 1)	0,08
Количество ectopических беременностей	0 0 (0; 0)	0,034 ± 0,186 0 (0; 0)	0,49	0,08 ± 0,33 0 (0; 0)	0,04 ± 0,26 0 (0; 0)	0,43

Таблица 4

Результаты объективного обследования женщин репродуктивного возраста

Table 4

The results of an objective examination of women of reproductive age

Показатели	Группа женщин с СПКЯ (n = 44)			Группа женщин без СПКЯ (n = 153)		
	Пациентки с ХЭ (n = 15)	Пациентки без ХЭ (n = 29)	p	Пациентки с ХЭ (n = 61)	Пациентки без ХЭ (n = 92)	p
	<i>M ± SD</i>			<i>M ± SD</i>		
	Median (Lower Q; Upper Q)			Median (Lower Q; Upper Q)		
Рост, см	166,0 ± 5,99 165,0 (161; 171)	163,22 ± 7,24 166,3 (159; 169)	0,22	164,53 ± 6,91 164,5 (159,3; 167,00)	163,44 ± 5,65 163,75 (159; 167,50)	0,29
Масса тела, кг	76,75 ± 19,8* 73,75 (67,8; 88,6)	73,98 ± 14,32 73,1 (64,3; 79,3)	0,60	67,80 ± 12,29 66,5 (59,10; 76,2)	73,0 ± 17,74 68,4 (59,60; 83,1)	0,05
ИМТ, кг/м²	27,89 ± 7,1* 27,57 (24; 33,39)	27,87 ± 5,60 27,48(22,99; 31,63)	0,99	25,09 ± 4,58 24,65 (21,23; 27,78)	27,27 ± 6,18 25,82 (22,22; 31,070)	0,02
Окружность талии, см	84,14 ± 16,4* 82,5 (71; 99)	82,86 ± 13,25 82 (73; 93)	0,78	76,44 ± 9,51 76,0 (70; 81)	81,67 ± 14,86 78,0 (70; 90)	0,02
Окружность бёдер, см	103,0 ± 12,90 100,5 (91; 112)	102,83 ± 9,46 102 (95; 108)	0,96	98,98 ± 7,82 99,0 (93; 104)	102,3 ± 11,02 101,0 (94; 110)	0,04
АД сист., мм рт. ст.	126,14 ± 16,64 129,0 (109; 139)	128,10 ± 14,99 131,0 (115; 135)	0,70	125,06 ± 13,15 125,0 (117; 132)	124,81 ± 14,15 124,0 (113; 134)	0,91
АД диаст., мм рт. ст.	81,64 ± 14,28 78,5 (72; 95)	82,0 ± 9,17 81 (76; 87)	0,92	81,21 ± 8,90 80,00 (75; 87)	80,01 ± 9,47 80,00 (73; 87)	0,43
Пульс, уд./мин	77,42 ± 8,08 77,50 (72; 81)	78,79 ± 11,52 78 (72; 84)	0,69	77,21 ± 10,93 77,0 (68; 85)	77,34 ± 10,76 76,5 (68; 85)	0,94
Шкала FG (оценка вра- ча), сумма баллов	3,14 ± 2,74 2,0 (1; 5)	4,28 ± 4,67 3 (1; 6)	0,40	1,21 ± 2,09 0 (0; 2)	1,49 ± 2,43 0 (0; 2)	0,47

Примечание. * – p < 0,05 при сравнении данных пациенток с ХЭ в группах с СПКЯ и без СПКЯ.

Таблица 5

Гормональные характеристики и маркеры системного воспаления у пациенток репродуктивного возраста с хроническим эндометритом при наличии и отсутствии СПКЯ

Table 5

Hormonal characteristics and markers of systemic inflammation in patients of reproductive age with chronic endometritis in the presence and absence of PCOS

Показатели	Группа женщин с СПКЯ (n = 44)			Группа женщин без СПКЯ (n = 153)		
	Пациентки с ХЭ (n = 15)	Пациентки без ХЭ (n = 29)	p	Пациентки с ХЭ (n = 61)	Пациентки без ХЭ (n = 92)	p
	<i>M ± SD</i>			<i>M ± SD</i>		
	Median (Lower Q; Upper Q)			Median (Lower Q; Upper Q)		
Тиреотропный гормон, мкЕД/мл	1,66 ± 0,51	1,67 ± 0,79	0,54	1,82 ± 1,59	1,72 ± 1,68	0,78
	1,65 (1,4; 1,9)	1,5 (1,2; 1,8)		1,40 (1; 1,85)	1,40 (0,9; 1,9)	
Пролактин, мЕД/л	341,86 ± 111,18	330,03 ± 135,83	0,76	335,52 ± 287,78	298,18 ± 161,48	0,83
	338,0 (232; 422)	311,0 (238; 384)		263,50 (200; 353,5)	251(191; 365,5)	
ЛГ, мМЕ/мл	14,49 ± 13,7	11,14 ± 9,73	0,52	7,39 ± 6,95	7,87 ± 9,73	0,53
	10,3 (5,3; 19,4)*	8,3(5,2; 13,2)		5,7(3,65; 8,3)	5,45(3,05; 7,7)	
ФСГ, мМЕ/л	5,55 ± 2,79	5,91 ± 3,46	0,95	5,60 ± 3,40	6,48 ± 7,11	0,53
	5,65 (4,4; 6,1)	5,2 (3,8; 7,5)		5,1 (3,7; 6,25)	5,3 (3,45; 6,9)	
СССГ, нмоль/л	48,96 ± 28,8	47,62 ± 26,19	0,87	94,63 ± 55,92	79,35 ± 59,76	0,03
	39,35 (32; 51,1)*	37,2 (29,7; 69,8)		83,5 (52,00; 130,353)	68,95 (40,3; 94,2)	
17ОН прогесте- рон, нмоль/л	4,71 ± 3,16	5,93 ± 3,10	0,26	5,26 ± 3,1	4,64 ± 5,45	0,04
	3,3 (2,1; 7,6)	5,7 (4,3; 7,2)		4,9 (2,55; 7,2)	3,25 (1,85; 6,5)	
ДГЭАС, мкг/дл	244,79 ± 132,46	251,41 ± 104,13	0,71	167,36 ± 81,62	180,07 ± 76,45	0,24
	219,00 (119; 334)*	212,00 (186; 328)		161,00 (113; 202)	169,0 (124; 227)	
Тестостерон, нг/дл	416,72 ± 302,3	437,09 ± 259,47	0,58	298,96 ± 290,26	318,45 ± 181,62	0,13
	331,87 (215,17; 560,75)	372,72 (276,36; 560,53)		255,13 (142,75; 390,91)	286,85 (211,82; 379,33)	
АМГ, нг/мл	4,49 ± 1,9	7,48 ± 6,57	0,39	3,15 ± 2,50	3,05 ± 2,70	0,70
	4,15 (2,9; 5,7)	4,95 (2,8; 8,95)		2,40 (0,95; 4,2)	2,40 (1,4; 4,4)	
С-реактивный белок, МЕ/л	2,45 ± 3,19	3,9 ± 4,33	0,12	2,38 ± 3,19	3,41 ± 4,11	0,09
	0,9 (0,6; 2,5)	1,7 (1,05; 8,1)		1,30 (0,6; 2,9)	1,75 (0,8; 4,35)	
Лептин, нг/мл	19,8 ± 15,53	24,00 ± 14,02	0,29	17,60 ± 16,83	22,83 ± 17,17	0,05
	17,8 (7,7; 29,4)	21,6 (12,7; 34,3)		14,35 (8,6; 20,35)	17,5 (10,05; 33)	

Примечание: * – p < 0,05 при сравнении данных пациенток с ХЭ в группах с СПКЯ и без СПКЯ.

Таблица 6

Оценка риска хронического эндометрита у женщин репродуктивного возраста

Table 6

Assessment of the risk of chronic endometritis in a population of women of reproductive age

Предикторы (n = 198)	В группе в целом (ОШ, 95 % ДИ)	p	С поправкой на ИМТ (ОШ, 95 % ДИ)	p	С поправкой на возраст (ОШ, 95 % ДИ)	p	С поправкой на наличие СПКЯ (ОШ, 95 % ДИ)	p
ЛГ	0,99 (0,97; 1,03)	0,97	1,00 (0,97; 1,03)	0,92	0,99 (0,97; 1,03)	0,96	1,00 (0,97; 1,03)	0,85
ФСГ	0,97 (0,91; 1,04)	0,41	0,98 (0,92; 1,04)	0,46	0,97 (0,90; 1,04)	0,33	0,97 (0,91; 1,04)	0,41
Пролактин	1,00 (0,99;1,00)	0,21	1,00 (0,99; 1,00)	0,29	1,00 (0,99; 1,00)	0,16	1,00 (0,99; 1,00)	0,29
17-ОН-прогестерон	1,01 (0,95;1,08)	0,70	0,94 (0,89; 0,99)	0,96	1,02 (0,95; 1,09)	0,63	1,02 (0,95; 1,09)	0,61
Тестостерон	0,99 (0,99;1,00)	0,39	0,99 (0,99; 1,00)	0,54	1,02 (0,97; 1,07)	0,45	–	–
СССГ	1,00 (0,99;1,01)	0,12	1,00 (0,99; 1,01)	0,41	1,00 (0,99; 1,01)	0,11	–	–
ИСА	0,96 (0,87; 1,07)	0,49	0,99 (0,90; 1,11)	0,99	0,97 (0,88; 1,07)	0,54	–	–
ДГЭА-С	0,99 (0,99; 1,00)	0,27	0,99 (0,99; 1,00)	0,36	0,99 (0,99; 1,00)	0,37	–	–
Шкала Ферримана – Голвея	0,94 (0,85; 1,04)	0,22	0,97 (0,87; 1,08)	0,55	0,94 (0,85; 1,04)	0,24	–	–
СРБ	0,92 (0,85;1,00)	0,06	0,96 (0,87;1,06)	0,39	0,91 (0,83; 0,99)	0,04	0,92 (0,85; 1,01)	0,07
Лептин	0,98 (0,96;0,99)	0,04	0,96 (0,90;1,02)	0,37	0,98 (0,96; 1,00)	0,05	0,98 (0,96; 1,00)	0,05
ОТ	0,98 (0,95;0,99)	0,03	0,99 (0,94; 1,05)	0,75	0,97 (0,95;0,99)	0,01	0,98 (0,96; 1,0)	0,05
ОБ	0,97 (0,94;1,00)	0,07	1,01 (0,95; 1,08)	0,74	0,97 (0,94;0,99)	0,04	0,98 (0,95; 1,01)	0,11
ИМТ	0,94 (0,89;0,99)	0,03	–	–	0,93 (0,88;0,99)	0,01	0,95 (0,89; 0,99)	0,04

Примечание. ИСА – индекс свободных андрогенов.

Как представлено в таблице 6, риск ХЭ у женщин репродуктивного возраста не ассоциирован с изменениями гонадотропинов, пролактина, проявлениями клинической и биохимической гиперандрогении. СРБ также не является значимым маркером ХЭ, независимо от наличия или отсутствия СПКЯ, для которого наличие хронического системного воспаления считается характерным. ИМТ, ОТ и продукт жировой ткани лептин являются факторами, которые демонстрируют устойчивые отрицательные ассоциации с ХЭ, преимущественно у пациенток, не имеющих СПКЯ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты нашего исследования показали, что характерной морфологической особенностью ХЭ при СПКЯ является небольшая выраженность лимфоидной инфильтрации ткани эндометрия, что, по-видимому, свидетельствует о вялотекущем хроническом процессе, который, согласно полученным нами данным, не сопровождается системной воспалительной реакцией. Специфичность клинических проявлений ХЭ при СПКЯ в виде относительного уменьшения продолжительности менструального цикла у пациенток, для которых, напротив, характерна олиго/аменорея, позволяет рассматривать этот предиктор как диагностически значимый. Выявленные отрицательные ассоциации ХЭ с ИМТ, ОТ и лептином, одним из основных гормонов жировой ткани со свойствами адипокина, требуют дальнейшего изучения роли продуктов жировой ткани в контроле над процессами как локального, так и системного воспаления.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R, Pinto V, Marinaccio M, In-draccolo U, et al. Chronic endometritis due to common bacteria is prevalent in women with recurrent miscarriage as confirmed by improved pregnancy outcome after antibiotic treatment. *Reprod Sci*. 2014; 21(5): 640-647. doi: 10.1177/1933719113508817
2. Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R, Lepera A, Alfonso R, In-draccolo U, et al. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy. *Hum Reprod*. 2015; 30(2): 323-330. doi: 10.1093/humrep/deu292
3. Kitaya K, Yasuo T. Immunohistochemical and clinico-pathological characterization of chronic endometritis. *Am J Reprod Immunol*. 2011; 66(5): 410-415. doi: 10.1111/j.1600-0897.2011.01051.x
4. Данусевич И.Н., Иванова Е.И., Михалевич И.М. Характеристика микробиоценоза генитального тракта и его роль в инициации воспалительного процесса в эндометрии у женщин с репродуктивными нарушениями. *Acta biomedica scientifica*. 2017; 2(5-2): 15-20. doi: 10.12737/article_5a3a0d6243ea24.16475434
5. Day RM, Mitchell TJ, Knight SC, Forbes A. Regulation of epithelial syndecan-1 expression by inflammatory cytokines. *Cytokine*. 2003; 21(5): 224-233. doi: 10.1016/S1043-4666(03)00091-7
6. Bayer-Garner IB, Nickell JA, Korourian S. Routine syndecan-1 immunohistochemistry aids in the diagnosis of chronic endometritis. *Arch Pathol Lab Med*. 2004; 128(9): 1000-1003. doi: 10.1043/1543-2165(2004)128<1000:RSIAIT>2.0.CO;2
7. Bayer-Garner IB, Korourian S. Plasma cells in chronic endometritis are easily identified when stained with syndecan-1. *Mod Pathol*. 2001; 14: 877-879. doi: 10.1038/modpathol.3880405
8. Miguel RDV, Chivukula M, Krishnamurti U, Amortegui AJ, Kant JA, Sweet RL, et al. Limitations of the criteria used to diagnose histologic endometritis in epidemiologic pelvic inflammatory disease research. *Pathol Res Pract*. 2011; 207(11): 680-685. doi: 10.1016/j.prp.2011.08.007

9. Kitaya K, Yasuo T. Inter-observer and intra-observer variability in immunohistochemical detection of endometrial stromal plasmacytes in chronic endometritis. *Exp Ther Med*. 2013; 5(2): 485-488. doi: 10.3892/etm.2012.824
10. Johnston-MacAnanny EB, Hartnett J, Engmann LL, Nulsen JC, Sanders MM, Benadiva CA. Chronic endometritis is a frequent finding in women with recurrent implantation failure after in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2010; 93(2): 437-441. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.12.131
11. Cicinelli E, Resta L, Nicoletti R, Zappimulso V, Tartagni M, Saliani N. Endometrial micropolyps at fluid hysteroscopy suggest the existence of chronic endometritis. *Hum Reprod*. 2005; 20(5): 1386-1389. doi: 10.1093/humrep/deh779
12. Cicinelli E, Matteo M, Trojano G, Mitola PC, Tinelli R, Vitagliano A, et al. Chronic endometritis in patients with unexplained infertility: Prevalence and effects of antibiotic treatment on spontaneous conception. *Am J Reprod Immunol*. 2018; 79(1). doi: 10.1111/aji.12782
13. Kimura F, Takebayashi A, Ishida M, Nakamura A, Kitazawa J, Morimune A, et al. Review: Chronic endometritis and its effect on reproduction. *J Obstet Gynaecol Res*. 2019; 45(5): 951-960. doi: 10.1111/jog.13937
14. Bhagwande SB. Chronic endometritis. A clinical and histopathological study. *Med J Zambia*. 1976; 10(4): 99-105.
15. Belenkaia LV, Lazareva LM, Walker W, Lizneva DV, Suturina LV. Criteria, phenotypes and prevalence of polycystic ovary syndrome. *Minerva Ginecol*. 2019; 71(3): 211-223. doi: 10.23736/S0026-4784.19.04404-6
16. Сутурина Л.В. Синдром поликистозных яичников в XXI веке. *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение*. 2017; 3(17): 86-91.
17. Piltonen TT, Chen J, Erikson DW, Spitzer TL, Barragan F, Rabban JT, et al. Mesenchymal stem/progenitors and other endometrial cell types from women with polycystic ovary syndrome (PCOS) display inflammatory and oncogenic potential. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013; 98(9): 3765-3775. doi: 10.1210/jc.2013-1923
18. Piltonen TT, Chen JC, Khatun M, Kangasniemi M, Liakka A, Spitzer T, et al. Endometrial stromal fibroblasts from women with polycystic ovary syndrome have impaired progesterone-mediated decidualization, aberrant cytokine profiles and promote enhanced immune cell migration in vitro. *Hum Reprod*. 2015; 30(5): 1203-1215. doi: 10.1093/humrep/dev055
19. Lizneva D, Kirubakaran R, Mykhalchenko K, Suturina L, Chernukha G, Diamond MP, et al. Phenotypes and body mass in women with polycystic ovary syndrome identified in referral versus unselected populations: Systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2016; 106(6): 1510-1520.e2. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.07.1121
20. Ehrmann DA, Liljenquist DR, Kasza K, Azziz R, Legro RS, Ghazizadeh MN, et al. Prevalence and predictors of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91(1): 48-53. doi: 10.1210/jc.2005-1329
21. Benson S, Janssen OE, Hahn S, Tan S, Dietz T, Mann K, et al. Obesity, depression, and chronic low-grade inflammation in women with polycystic ovary syndrome. *Brain Behav Immun*. 2008; 22(2): 177-184. doi: 10.1016/j.bbi.2007.07.003
22. Teede HJ, Misso ML, Costello MF, Dokras A, Laven J, Moran L, et al. Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2018; 110(3): 364-379. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.05.004
23. Аталян А.В., Колесникова Л.И., Колесников С.И., Гржибовский А.М., Сутурина Л.В. Информационная система redcar для сбора и хранения данных популяционных биомедицинских исследований. *Экология человека*. 2019; (2): 52-59. doi: 10.1016/10.33396/1728-0869-2019-2-52-59

REFERENCES

1. Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R, Pinto V, Marinaccio M, In-draccolo U, et al. Chronic endometritis due to common bacteria

is prevalent in women with recurrent miscarriage as confirmed by improved pregnancy outcome after antibiotic treatment. *Reprod Sci*. 2014; 21(5): 640-647. doi: 10.1177/1933719113508817

2. Cicinelli E, Matteo M, Tinelli R, Lepera A, Alfonso R, Indraccolo U, et al. Prevalence of chronic endometritis in repeated unexplained implantation failure and the IVF success rate after antibiotic therapy. *Hum Reprod*. 2015; 30(2): 323-330. doi: 10.1093/humrep/deu292

3. Kitaya K, Yasuo T. Immunohistochemical and clinicopathological characterization of chronic endometritis. *Am J Reprod Immunol*. 2011; 66(5): 410-415. doi: 10.1111/j.1600-0897.2011.01051.x

4. Danusevich IN, Ivanova EI, Mikhalevich IM. Characteristics of the microbiocenosis of the vaginal tract and its role in initiating inflammatory process in endometrium in women with reproductive disorders. *Acta biomedica scientifica*. 2017; 2(5-2): 15-20. doi: 10.12737/article_5a3a0d6243ea24.16475434. (In Russ.)

5. Day RM, Mitchell TJ, Knight SC, Forbes A. Regulation of epithelial syndecan-1 expression by inflammatory cytokines. *Cytokine*. 2003; 21(5): 224-233. doi: 10.1016/S1043-4666(03)00091-7

6. Bayer-Garner IB, Nickell JA, Korourian S. Routine syndecan-1 immunohistochemistry aids in the diagnosis of chronic endometritis. *Arch Pathol Lab Med*. 2004; 128(9): 1000-1003. doi: 10.1043/1543-2165(2004)128<1000:RSIAIT>2.0.CO;2

7. Bayer-Garner IB, Korourian S. Plasma cells in chronic endometritis are easily identified when stained with syndecan-1. *Mod Pathol*. 2001; 14: 877-879. doi: 10.1038/modpathol.3880405

8. Miguel RDV, Chivukula M, Krishnamurti U, Amortegui AJ, Kant JA, Sweet RL, et al. Limitations of the criteria used to diagnose histologic endometritis in epidemiologic pelvic inflammatory disease research. *Pathol Res Pract*. 2011; 207(11): 680-685. doi: 10.1016/j.prp.2011.08.007

9. Kitaya K, Yasuo T. Inter-observer and intra-observer variability in immunohistochemical detection of endometrial stromal plasmacytes in chronic endometritis. *Exp Ther Med*. 2013; 5(2): 485-488. doi: 10.3892/etm.2012.824

10. Johnston-MacAnanny EB, Hartnett J, Engmann LL, Nulsen JC, Sanders MM, Benadiva CA. Chronic endometritis is a frequent finding in women with recurrent implantation failure after in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2010; 93(2): 437-441. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.12.131

11. Cicinelli E, Resta L, Nicoletti R, Zappimbalso V, Tartagni M, Saliani N. Endometrial micropolyps at fluid hysteroscopy suggest the existence of chronic endometritis. *Hum Reprod*. 2005; 20(5): 1386-1389. doi: 10.1093/humrep/deh779

12. Cicinelli E, Matteo M, Trojano G, Mitola PC, Tinelli R, Vitagliano A, et al. Chronic endometritis in patients with unexplained infertility: Prevalence and effects of antibiotic treatment

on spontaneous conception. *Am J Reprod Immunol*. 2018; 79(1). doi: 10.1111/aji.12782

13. Kimura F, Takebayashi A, Ishida M, Nakamura A, Kitazawa J, Morimune A, et al. Review: Chronic endometritis and its effect on reproduction. *J Obstet Gynaecol Res*. 2019; 45(5): 951-960. doi: 10.1111/jog.13937

14. Bhagwande SB. Chronic endometritis. A clinical and histopathological study. *Med J Zambia*. 1976; 10(4): 99-105.

15. Belenkaia LV, Lazareva LM, Walker W, Lizneva DV, Suturina LV. Criteria, phenotypes and prevalence of polycystic ovary syndrome. *Minerva Ginecol*. 2019; 71(3): 211-223. doi: 10.23736/S0026-4784.19.04404-6

16. Suturina LV. Polycystic ovarian syndrome in the 21st century. *Obstetrics and gynecology: News, Opinions, Training*. 2017; 3(17): 86-91. (In Russ.)

17. Piltonen TT, Chen J, Erikson DW, Spitzer TL, Barragan F, Rabban JT, et al. Mesenchymal stem/progenitors and other endometrial cell types from women with polycystic ovary syndrome (PCOS) display inflammatory and oncogenic potential. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013; 98(9): 3765-3775. doi: 10.1210/jc.2013-1923

18. Piltonen TT, Chen JC, Khatun M, Kangasniemi M, Liakka A, Spitzer T, et al. Endometrial stromal fibroblasts from women with polycystic ovary syndrome have impaired progesterone-mediated decidualization, aberrant cytokine profiles and promote enhanced immune cell migration in vitro. *Hum Reprod*. 2015; 30(5): 1203-1215. doi: 10.1093/humrep/dev055

19. Lizneva D, Kirubakaran R, Mykhalchenko K, Suturina L, Cherkukha G, Diamond MP, et al. Phenotypes and body mass in women with polycystic ovary syndrome identified in referral versus unselected populations: Systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2016; 106(6): 1510-1520.e2. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.07.1121

20. Ehrmann DA, Liljenquist DR, Kasza K, Azziz R, Legro RS, Ghazzi MN, et al. Prevalence and predictors of the metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91(1): 48-53. doi: 10.1210/jc.2005-1329

21. Benson S, Janssen OE, Hahn S, Tan S, Dietz T, Mann K, et al. Obesity, depression, and chronic low-grade inflammation in women with polycystic ovary syndrome. *Brain Behav Immun*. 2008; 22(2): 177-184. doi: 10.1016/j.bbi.2007.07.003

22. Teede HJ, Misso ML, Costello MF, Dokras A, Laven J, Moran L, et al. Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2018; 110(3): 364-379. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.05.004

23. Atalyan AV, Kolesnikova LI, Kolesnikov SI, Grzhibovskiy AM, Suturina LV. Research electronic data capture (REDCap) for building and managing databases for population-based biomedical studies. *Ekologiya cheloveka*. 2019; (2): 52-59. doi: 10.1016/10.33396/1728-0869-2019-2-52-59. (In Russ.)

Сведения об авторах

Шарифулин Эльдар Махамедович – аспирант, врач акушер-гинеколог, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: sharifulja@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7245-9289>

Игумнов Илья Андреевич – младший научный сотрудник лаборатории гинекологической эндокринологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iigumnov7@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1078-3657>

Круско Ольга Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: panarinaolya08@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9111-7914>

Аталян Алина Валерьевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории социально значимых проблем репродуктологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: atalyan@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3407-9365>

Сутурина Лариса Викторовна – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела охраны репродуктивного здоровья, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: lsuturina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6271-7803>

Information about the authors

Eldar M. Sharifulin – Postgraduate, Obstetrics and Gynecology Doctor, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: sharifulja@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7245-9289>

Ilya A. Igumnov – Junior Research Officer at the Laboratory of Gynecological Endocrinology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iigumnov7@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1078-3657>

Olga V. Krusko – Junior Research Officer at the Laboratory of Physiology and Pathology of Endocrine System, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: panarinaolya08@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9111-7914>

Alina V. Atalyan – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Socially Significant Problems of Human Reproduction, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: atalyan@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3407-9365>

Larisa V. Suturina – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of Reproductive Health Protection Department, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: lsuturina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6271-7803>

Вклад авторов

Шарифулин Э.М. – обзор литературы, поиск литературных источников, сбор клинического материала, обработка, анализ и интерпретация данных, статистическая обработка материала, написание текста.

Игумнов И.А. – поиск литературных источников, анализ и интерпретация данных, написание текста.

Круско О.В. – сбор и обработка клинического материала, поиск литературных источников.

Аталян А.В. – статистическая обработка материала.

Сутурина Л.В. – разработка дизайна исследования, определение цели и задач исследования, научное редактирование, утверждение рукописи для публикации.

Статья получена: 10.06.2020. Статья принята: 04.12.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 10.06.2020. Accepted: 04.12.2020. Published: 26.12.2020.

Преждевременная недостаточность яичников в популяционной выборке женщин Прибайкальского региона: распространённость и возрастные особенности*

Салимова М.Д., Наделяева Я.Г.

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

Автор, ответственный за переписку: Салимова Мадинабону Долимжон кизи, e-mail: madinotchka.salimova@mail.ru

Резюме

Преждевременная недостаточность яичников (ПНЯ) – это симптомокомплекс, основным проявлением которого является угасание функции яичников у женщин молодого возраста до 40 лет, характеризующийся нарушением менструальной функции, повышением уровня гонадотропинов и снижением концентрации эстрадиола.

Цель исследования: определить распространённость ПНЯ, основные клинические проявления, а также особенности гонадотропной, тиреотропной и пролактинергической функции гипофиза при гипогонадизме. **Материалы и методы.** Было обследовано 1200 женщин в возрасте 18–45 лет, среди которых выявлено 17 пациенток с клинико-гормональными признаками ПНЯ в возрасте до 40 лет. Всем участницам проводили общеклиническое, инструментальное и гормональное обследование. Для статистического анализа использован пакет статистических программ Statistica 10.0.

Результаты. Распространённость ПНЯ составила 1,4 % (17/1200). Наиболее частые клинические признаки: ощущение «жара», повышенная потливость и сухость во влагалище. Чаще на чувство «жара» жаловались женщины в период манифестации заболевания (50 %). По мере прогрессирования заболевания появлялась потливость (25 %) и сухость во влагалище (25 %). В группе отмечено закономерное повышение концентрации ФСГ ($26,14 \pm 33,4$ мМЕ/мл). У женщин в возрасте 30–35 лет, в сравнении с пациентками более старшего возраста, концентрации ТТГ и пролактина были несколько выше (ТТГ до 35 лет $1,63 \pm 0,9$ против $1,44 \pm 0,64$ мМЕ/л у женщин с 35 до 40 лет соответственно ($p > 0,05$). Средние значения пролактина у женщин до 35 лет составили $431,86 \pm 357,82$ и $387,13 \pm 207,54$ мЕД/л в период с 35 до 40 лет ($p > 0,05$). **Заключение.** Установлено, что частота ПНЯ в Прибайкальском регионе Восточной Сибири не отличается от частоты встречаемости данного заболевания в мире. Нарастание клинических проявлений гипогонадизма происходит постепенно. Ранними менопаузальными жалобами являются «приливы» жара. У женщин в возрасте 30–35 лет ПНЯ сопровождается более высокой активностью пролактинергической и тиреотропной функций гипофиза.

Ключевые слова: преждевременная недостаточность яичников, распространённость, клиника, фолликулоstimулирующий гормон, лютеинизирующий гормон, тиреотропный гормон, пролактин

Для цитирования: Салимова М.Д., Наделяева Я.Г. Преждевременная недостаточность яичников в популяционной выборке женщин Прибайкальского региона: распространённость и возрастные особенности. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 37–41. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.4.

Premature Ovarian Insufficiency in a Popular Sample of Women in the Priбайkalsky Region: Prevalence and Age Features

Salimova M.D, Nadelyaeva Ya.G.

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

Corresponding author: Madinabonu D. Salimova, e-mail: madinotchka.salimova@mail.ru

Abstract

Premature ovarian insufficiency (POI) is a life-changing diagnosis, with profound physical and psychological consequences.

Objective. To determine the prevalence, clinical features and hormone characteristics of women with premature ovarian failure of different age group.

Materials and methods. During the study we examined 1200 women, aged 18–45 years. Of all examined women, 17 patients with clinical and hormonal signs of POI under the age of 40 were identified. All participants signed an informed consent and underwent general clinical, instrumental and hormonal examination. Statistical analysis was performed using the Statistica 10.0.

Results. The prevalence of POI among women of reproductive age was 1.4 % (1200/17). The most common clinical signs: a feeling of «heat», increased sweating and dryness in the vagina. Hot flashes were more often during the manifestation of the disease (50 %). An increase in FSH concentration was noted (26.14 ± 33.4 mIU/mL). The concentrations of thyroid hormone and prolactin were slightly higher in women aged 30–35 years, compared with older patients in the group of women at the onset of the disease in women from 35 to 40. Prolactin levels in women under 35 years old were 431.86 ± 357.82 and 387.13 ± 207.54 mU/L in the patients aged 35–40 years, accordingly ($p > 0.05$).

Conclusion. It was established that the frequency of POF in Eastern Siberia does not differ from the frequency of occurrence of this disease in the world. The progression of clinical manifestations of hypogonadism occurs gradually.

* Статья опубликована по материалам доклада на IV Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 16 октября 2020 года).

Hot flashes were the earliest menopausal complaints. In women aged 30–35 years, POI is accompanied by a relatively higher activity of prolactinergic and thyrotropic pituitary functions.

Key words: premature ovarian failure, prevalence, clinic, follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, thyroid-stimulating hormone, prolactin

For citation: Salimova M.D, Nadelyaeva Ya.G. Premature Ovarian Insufficiency in a Popular Sample of Women in the Pribaykalsky Region: Prevalence and Age Features. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 37–41. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.4.

ВВЕДЕНИЕ

Преждевременная недостаточность яичников или синдром истощения яичников – это симптомокомплекс, характеризующийся вторичной аменореей, симптомами дефицита эстрогенов и повышением содержания гонадотропинов у женщин в возрасте до 40 лет, имевших в прошлом нормальную менструальную и генеративную функцию. Мы располагаем недостаточным объёмом информации о распространённости ПНЯ. По данным разных авторов, она колеблется от 1 до 3 % и зависит от этнической принадлежности женщины, условий внешней среды, этиологии заболевания и других факторов [1, 2, 3]. Заболевание встречается у 1–3 % женщин в популяции и занимает до 10 % в структуре различных форм аменореи [4]. Среди женщин с первичной аменореей частота ПНЯ составляет 10–28 %, а среди женщин с вторичной аменореей – 4–18 % [5, 6]. Данная патология приводит к снижению репродуктивной функции, качества жизни женщин, и является фактором риска развития сердечно-сосудистой системы в достаточно молодом возрасте [7, 8, 9].

Авторы отмечают увеличение частоты встречаемости ПНЯ с возрастом, до 20 лет выявляется до 0,01 %, с 20 до 30 лет – 0,1 %, в возрасте старше 30 лет – 1 % [10].

Клиническая картина преждевременной недостаточности яичников не имеет специфических признаков. Прежде чем попасть на приём к гинекологу более 50 % женщин, в среднем, обращается к трём различным специалистам. В большинстве случаев в анамнезе женщин отмечается нормальное течение пубертатного периода с установлением регулярного менструального цикла. У подавляющего большинства пациенток (85,5 %) начало заболевания проявлялось нарушением регулярности менструального цикла по типу опсоменореи. Внезапное прекращение менструаций отмечается у 14,2 % пациенток [11]. Гипоэстрогения является причиной развития таких симптомов, как приливы, раздражительность, повышенная потливость, в том числе и ночная, снижение либидо, сухость во влагалище, ухудшение состояния волос и ногтей, прибавка веса, повышение артериального давления (АД) и др. [10, 12]. Следует учесть, что угасание функции яичников приводит к низкой частоте зачатия [13], но может быть нестойким, особенно в первый год после постановки диагноза [14].

Диагностику этого синдрома рекомендуется начинать с исключения таких заболеваний, как синдром поликистозных яичников, гиперпролактинемия, заболевания щитовидной железы, аменорея центрального генеза и иных заболеваний и состояний, которые могут проявляться снижением репродуктивной функции и олиго- или аменореей. Эффективными обследованиями для подтверждения диагноза являются: измерение уровня ФСГ (> 25 МЕ/мл в двух исследованиях с интервалом в 4 недели) и эстрадиола (< 50 пг/мл) [4]. Фолликулостимулирующий гормон должен быть измерен в ранней фолликулярной фазе на 3–5-й день менструального цикла,

эстрадиол – на 5–7-й день цикла, либо на 21–23-й день. К инструментальным методам диагностики относится ультразвуковое исследование (УЗИ) органов малого таза, предпочтительно с использованием трансвагинального датчика. Критериями, соответствующими картине ПНЯ, являются: небольшие объёмы яичников (менее 3 см^3), снижение количества антральных фолликулов (менее 5) и признаки тонкого эндометрия (М-эхо < 4 мм) [15, 16]. В популяционном исследовании, проведённом С. Kim et al., оценивался 5-летний риск наступления менопаузы на основании определения уровней АМГ, ФСГ и подсчёта числа антральных фолликулов (ЧАФ). Были получены следующие результаты: способность предсказать срок наступления менопаузы увеличивалась при добавлении к возрасту любого из трёх маркеров овариального резерва (АМГ, ФСГ, ЧАФ). Однако АМГ имел наибольшую прогностическую ценность. Как низкие, так и высокие концентрации ФСГ увеличивали шансы наступления менопаузы [17]. Преждевременная овариальная недостаточность на сегодняшний день является не до конца изученной патологией и должна выявляться ещё на доклинической стадии, когда фертильность снижена в небольшой степени и возможно восстановление функции яичников [15].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определить распространённость преждевременной недостаточности яичников в неселективной выборке женщин репродуктивного возраста, основные клинические проявления, а также особенности гонадотропной, тиреотропной и пролактинергической функции гипофиза при эстрогенном дефиците, манифестирующем в разном возрасте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 1200 женщин репродуктивного возраста (18–45 лет), проживающих в г. Иркутске, и в пос. Бохан Иркутской области, а также в г. Улан-Удэ, Республика Бурятия (неселективная популяционная выборка), проходившие ежегодное профилактическое обследование по месту работы. Среди обследованных было выявлено 17 пациенток с клинико-гормональными признаками преждевременной недостаточности яичников (ПНЯ) в возрасте до 40 лет. Исследование проводилось на базе ФБГНУ НЦ ПЗСРЧ с 2016 по 2018 г. Всем участницам проводили общеклиническое, инструментальное и гормональное обследование.

Критериями включения в исследование явились: возраст от 18 до 40 лет, подписание информированного согласия, готовность участницы соблюдать все процедуры исследования, доступность в течение всего срока исследования; олигоменорея или отсутствие менструаций в течение 4 месяцев и/или уровень ФСГ более 25 мМЕ/мл.

Критерии исключения из исследования: текущая беременность или лактация; факторы, повышающие риск для участницы, мешающие полному выполнению условий исследования или не дающие закончить исследование;

нежелание участвовать или трудности в понимании информированного согласия или целей и требований исследования; нейроэндокринные заболевания, приводящие к нарушению менструального цикла.

Всем исследуемым было проведено анкетирование с изучением анамнеза, оценкой репродуктивной и генеративной функций; оценка степени тяжести менопаузальных симптомов на основе модифицированного менопаузального индекса; общеклиническое исследование, измерение артериального давления и ЧСС; определение ИМТ; визуальная оценка кожных покровов, определение наличия гирсутизма с использованием шкалы Ферри-мана – Галлея, оценка наличия алопеции по Людвигу, пальпация лимфатических узлов, щитовидной железы и молочных желёз. Проводилось гинекологическое бимануальное исследование с взятием PAP-мазков.

Инструментальные методы исследования включали проведение УЗИ органов малого таза с помощью аппарата Mindray M7 (Mindray, Китай), с использованием трансвагинального датчика (5,0–8,0 МГц) для сексуально активных субъектов и трансабдоминальным датчиком (2,5–5,0 МГц) для женщин, не живущих половой жизнью.

Гормональные методы исследования включали определение концентраций тиреотропного гормона (ТТГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), пролактина (ПРЛ) с использованием метода конкурентного твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем «Алкор-Био» (Россия).

Статистический анализ данных осуществлялся при помощи пакета программ Statistica 10,0 (StatSoft Inc., США). Статистический анализ полученных данных включал методы описательной статистики. Описание качественных признаков осуществлялось путём вычисления абсолютных и относительных частот (доли, %). Результаты количественных переменных представлены в виде $M \pm \sigma$ (где M – среднее, σ – стандартное отклонение). Анализ межгрупповых различий для независимых

выборок для ненормально распределённых проводили непараметрическим критерием Манна – Уитни (U-test), Колмогорова – Смирнова (K-S). Статистически значимыми считали различия с уровнем вероятности 95 % ($p < 0,05$).

В работе с пациентами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (2000 г., ред. 2013 г.). Все исследования были одобрены локальным этическим комитетом.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На начальном этапе исследования из 1200 обследованных женщин репродуктивного возраста (неселективная популяция) было выделено 275 женщин в возрасте от 18 до 40 лет с нарушениями менструального цикла. В соответствии с критериями диагностики у 17 из 1200 женщин (1,4%) были выявлены признаки ПНЯ. Средний возраст обследованных женщин с ПНЯ составил $34,57 \pm 4,4$ года. Все пациентки имели нарушение менструального цикла. В структуре нерегулярных менструаций в 100 % случаев пациентки указывали на наличие вторичной аменореи. Структура клинических проявлений, среди которых преобладали нейровегетативные симптомы, включающие «приливы» жара (у 50 %), представлена в таблице 1.

Из таблицы видно, что в структуре менопаузальных жалоб преобладали нейровегетативные симптомы, что согласуется с данными литературы [4, 14]. Хотелось отметить, что преобладание тех или иных симптомов имеет возрастную зависимость. В возрасте до 35 лет большинство женщин жаловалось на «приливы» жара, а в более старшей возрастной группе преобладали жалобы на потливость и отмечалась сухость во влагалище. Это свидетельствует о том, что дефицит эстрогенов, способствуя появлению признаков гипоестрогении, развивается при ПНЯ постепенно. Нейровегетативные проявления с возрастом уменьшаются, так как постепенно происходит

Клиническая характеристика менопаузальных симптомов у женщин с ПНЯ

Таблица 1

Clinical characteristics of menopausal symptoms in women with POI

Table 1

Клинические проявления	Группа в целом (n = 17)	До 35 лет (n = 8)	От 35 до 40 лет (n = 9)
Нерегулярный менструальный цикл	100 %	100 %	100 %
Первичная аменорея	–	–	–
Вторичная аменорея	100 %	35 %	65 %
Приливы	50 %	100 %	25 %*
Потливость	25 %	–	50 %*
Сухость во влагалище	25 %	–	25 %*

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

Характеристика гипофизарных гормонов у женщин с ПНЯ ($p > 0,05$)

Таблица 2

Characteristics of hypophysial hormones in women with POI ($p > 0,05$)

Table 2

Показатели	Группа в целом (n = 17)	До 35 лет (n = 8)	От 35 до 40 лет (n = 9)
ФСГ, мМЕ/мл	$26,14 \pm 33,4$ %	$22,48 \pm 25,36$ %	$25,12 \pm 36,03$ %
ТТГ, мМ/л	$1,46 \pm 0,71$ %	$1,63 \pm 0,9$ %	$1,44 \pm 0,64$ %
ПРЛ, мЕД/л	$402,33 \pm 295,9$ %	$431,86 \pm 357,82$ %	$387,13 \pm 207,54$ %

адаптация к снижению уровня периферических эстрогенов. Динамика клинических признаков схожа с угасанием репродуктивной функции при физиологической менопаузе, только со сдвигом во времени.

Как видно из таблицы 2, уровень ФСГ в группе в целом был закономерно значительно выше возрастной нормы и соответствовал концентрациям физиологического менопаузального периода [13, 17], при этом концентрация ФСГ с возрастом постепенно увеличивалась. В начале угасания менструальной функции отмечается тенденция к активности тиреотропной и пролактинергической функций гипофиза, обеспечивающих, возможно, процесс адаптации к периферическому снижению эстрогенов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты выполненных исследований показали, что распространённость ПНЯ в неселективной выборке женщин Восточной Сибири составила 1,4 %. В нашем исследовании у 100 % женщин отмечено наличие вторичной аменореи при отсутствии случаев первичной аменореи.

Учитывая тот факт, что клиника ПНЯ схожа с клиникой естественной менопаузы, мы предполагаем, что механизм некоторого повышения значений пролактина и ТТГ у пациенток с ПНЯ аналогичен таковому при менопаузе. Физиологически возрастные изменения функциональной активности щитовидной железы сопровождаются уменьшением поглощения йода щитовидной железой. При этом уровень гормона, стимулирующего щитовидную железу, остаётся нормальным, чаще с тенденцией к повышению [18]. Хотя исследования взаимосвязи менопаузы и функций щитовидной железы немногочисленны, можно полагать, что отмеченная тенденция к активации тиреотропной функции гипофиза при ПНЯ является проявлением адаптивной реакции при развитии эстрогенного дефицита [19, 20].

Предварительные результаты оценки клинических проявлений показали, что развитие признаков гипострогении происходит постепенно, а наиболее ранними менопаузальными жалобами являются «приливы» жара. Более точные результаты могут быть получены при увеличении объёма выборки, изучении дополнительных генетических и молекулярных маркеров, что требует дополнительных исследований.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Franić-Ivanišević M, Franić D, Ivović M, Tančić-Gajić M, Marina L, Barac M, et al. Genetic etiology of primary premature ovarian failure. *Acta clinica Croatica*. 2016; 55(4): 629-635. doi: 10.20471/acc.2016.55.04.14
2. Rudnicka E, Kruszezewska J, Klicka K, Kowalczyk J, Grymowicz M, Skórska J, et al. Premature ovarian failure – aetiopathology, epidemiology, and diagnostic evaluation. *Menopause Review*. 2018; 17(3): 105-108. doi: 10.5114/pm.2018.78550
3. Дубкова Е.А., Маринкин И.О., Соколова Т.М., Усова А.В. Влияние комбинированных оральных контрацептивов на уровень антимюллера гормона в патогенезе преждевременного истощения яичников. *Медицина и образование в Сибири*. 2014; (3).
4. Манухина И.Б., Савельева Г.М., Сухих Г.Т. (ред.) *Гинекология: национальное руководство*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013.

5. Anasti JN. Premature ovarian failure: an update. *Fertil Steril*. 1998; 70(1): 1-15. doi: 10.1016/S0015-0282(98)00099-5
6. ESHRE Guideline Group on POI, Webber L, Davies M, Anderson R, Bartlett J, Braat D, et al. ESHRE Guideline: management of women with premature ovarian insufficiency. *Human Reproduction*. 2016; 31(5): 926-937. doi: 10.1093/humrep/dew027
7. Игнатъева Р.Е., Густоварова Т.А., Иванян А.Н., Крюковский С.Б., Дмитриева Е.В. Влияние полиморфизмов T-786C и G894T гена эндотелиальной синтазы оксида азота на развитие эндотелиальной дисфункции при преждевременной недостаточности яичников. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2017; 16(2): 83-87.
8. Колесникова Л.И., Сутурина Л.В., Лабыгина А.В., Лещенко О.Я., Федоров Б.А., Шолохов Л.Ф., и др. Нарушения репродуктивного здоровья и репродуктивного потенциала в современных условиях Восточной Сибири. *Acta biomedica scientifica*. 2007; (2): 41-43.
9. Наделяева Я.Г., Сутурина Л.В. Синдром поликистоза яичников и менопауза. *Доктор.Ру*. 2018; (10): 47-50. doi: 10.31550/1727-2378-2018-154-10-47-50
10. Петров Ю.А., Блесманович А.Е., Алехина А.Г. Преждевременная овариальная недостаточность (обзор литературы). *Таврический медико-биологический вестник*. 2018; 21(2-2): 207-212.
11. Sklar CA, Mertens AC, Mitby P, Whitton J, Stovall M, Kasper C, et al. Premature menopause in survivors of childhood cancer: a report from the childhood cancer survivor study. *J Natl Cancer Inst*. 2006; 98(13): 890-896. doi: 10.1093/jnci/djj243
12. Мадаева И.М., Семенова Н.В., Колесникова Л.И. Этнические особенности нарушения сна у женщин климактерического периода. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2019; 119(4-2): 44-49. doi: 10.17116/jnevro201911904244
13. Dragojević Dikić S, Vasiljević M, Jovanović A, Dikić S, Jurišić A, Srbinović L, et al. Premature ovarian failure – novel hormonal approaches in optimizing fertility. *Gynecol Endocrinol*. 2020; 36(2): 162-165. doi: 10.1080/09513590.2019.1640203
14. Bidet M, Bachelot A, Bissauge E, Golmard JL, Gricourt S, Dulon J, et al. Resumption of ovarian function and pregnancies in 358 patients with premature ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96(12): 3864-3872. doi: 10.1210/jc.2011-1038
15. Назаренко Т.А., Волков Н.И., Мишиева Н.Г., Соловьева Н.Г. Оценка овариального резерва у женщин репродуктивного возраста и его значение в прогнозировании успеха лечения бесплодия. *Журнал Российского общества акушеров-гинекологов*. 2005; (1): 36-39.
16. Torrealday S, Kodaman P, Pal L. Premature ovarian insufficiency – an update on recent advances in understanding and management. *F1000Research*. 2017; 6: 2069. doi: 10.12688/f1000research.11948.1
17. Kim C, Slaughter JC, Wang ET, Appiah D, Schreiner P, Leader B, et al. Anti-Müllerian hormone, follicle stimulating hormone, antral follicle count, and risk of menopause within 5 years. *Maturitas*. 2017; 102: 18-25. doi: 10.1016/j.maturitas.2017.04.018
18. Del Ghianda S, Tonacchera M, Vitti P. Thyroid and menopause. *Climacteric*. 2014; 17(3): 225-234. doi: 10.3109/13697137.2013.838554
19. Schindler AE. Thyroid function and postmenopause. *Gynecol Endocrinol*. 2003; 17(1): 79-85.
20. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Долгих В.В., Шолохов Л.Ф., Шенин В.А., Гребенкина Л.А., и др. Особенности изменений показателей гипофизарно-тиреоидной системы и липидного обмена у подростков разных этнических групп. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2012; (2): 19-22.

REFERENCES

1. Franić-Ivanišević M, Franić D, Ivović M, Tančić-Gajić M, Marina L, Barac M, et al. Genetic etiology of primary premature ovarian failure. *Acta clinica Croatica*. 2016; 55(4): 629-635. doi: 10.20471/acc.2016.55.04.14

2. Rudnicka E, Kruszevska J, Klicka K, Kowalczyk J, Grymowicz M, Skórska J, et al. Premature ovarian failure – aetiopathology, epidemiology, and diagnostic evaluation. *Menopause review*. 2018; 17(3): 105-108. doi: 10.5114/pm.2018.78550
3. Dubkova EA, Marinkin IO, Sokolova TM, Usova AV. Influence of combined oral contraceptives on the hormone anti-Müllerian level in pathogenesis of premature deterioration of ovaries. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2014; (3). (In Russ.)
4. Manukhina IB, Savelyeva GM, Sukhikh GT (eds.). *Gynecology: national guide*. Moscow: GEOTAR-Media. 2013. (In Russ.)
5. Anasti JN. Premature ovarian failure: an update. *Fertil Steril*. 1998; 70(1): 1-15. doi: 10.1016/S0015-0282(98)00099-5
6. ESHRE Guideline Group on POI, Webber L, Davies M, Anderson R, Bartlett J, Braat D, et al. ESHRE Guideline: management of women with premature ovarian insufficiency. *Human Reproduction*. 2016; 31(5): 926-937. doi: 10.1093/humrep/dew027
7. Ignatieva RE, Gustovarova TA, Ivanyan AN, Kryukovsky SB, Dmitrieva EV. Effect of the T-786C and G894T polymorphisms of the endothelial nitric oxide synthase gene in the development of endothelial dysfunction with underlying premature ovarian failure. *Vestnik of the Smolensk State Medical Academy*. 2017; 16(2): 83-87. (In Russ.)
8. Kolesnikova LI, Suturina LV, Labygina AB, Leschenko OYA, Fedorov BA, Sholokhov LF, et al. Reproductive health and reproductive potential disorders in modern conditions of Eastern Siberia. *Acta biomedica scientifica*. 2007; (2): 41-43. (In Russ.)
9. Nadelyaeva YaG, Suturina LV. Polycystic ovary syndrome and menopause. *Doctor.Ru*. 2018; (10): 47-50. doi: 10.31550/1727-2378-2018-154-10-47-50 (In Russ.)
10. Petrov YuA, Blesmanovich AE, Alyokhina AG. Premature ovarian failure (literature review). *Tavrishesky medico-biological Bulletin*. 2018; 21(2-2): 207-212. (In Russ.)
11. Sklar CA, Mertens AC, Mitby P, Whitton J, Stovall M, Kasper C, et al. Premature menopause in survivors of childhood cancer: a report from the childhood cancer survivor study. *J Natl Cancer Inst*. 2006; 98(13): 890-896. doi: 10.1093/jnci/djj243
12. Madaeva IM, Semenova NV, Kolesnikova LI. Ethnic features of sleep disorders in climacteric women. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2019; 119(4-2): 44-49. doi: 10.17116/jnevro201911904244 (In Russ.)
13. Dragojević Dikić S, Vasiljević M, Jovanović A, Dikić S, Jurišić A, Srbinović L, et al. Premature ovarian failure – novel hormonal approaches in optimizing fertility. *Gynecol Endocrinol*. 2020; 36(2): 162-165. doi: 10.1080/09513590.2019.1640203
14. Bidet M, Bachelot A, Bissauge E, Golmard JL, Gricourt S, Dulon J, et al. Resumption of ovarian function and pregnancies in 358 patients with premature ovarian failure. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96(12): 3864-3872. doi: 10.1210/jc.2011-1038
15. Nazarenko TA, Volkov NI, Mishieva NG, Solovieva NG. Evaluation of ovarian reserve in women of reproductive age and its significance in predicting the success of infertility treatment. *Journal of the Russian Society of Obstetricians and Gynecologists*. 2005; (1): 36-39. (In Russ.)
16. Torrealday S, Kodaman P, Pal L. Premature ovarian insufficiency – an update on recent advances in understanding and management. *F1000Research*. 2017; 6: 2069. doi: 10.12688/f1000research.11948.1
17. Kim C, Slaughter JC, Wang ET, Appiah D, Schreiner P, Leader B, et al. Anti-Müllerian hormone, follicle stimulating hormone, antral follicle count, and risk of menopause within 5 years. *Maturitas*. 2017; 102: 18-25. doi: 10.1016/j.maturitas.2017.04.018
18. Del Ghianda S, Tonacchera M, Vitti P. Thyroid and menopause. *Climacteric*. 2014; 17(3): 225-234. doi: 10.3109/13697137.2013.838554
19. Schindler AE. Thyroid function and postmenopause. *Gynecol Endocrinol*. 2003; 17(1): 79-85.
20. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Dolgikh VV, Sholokhov LF, Shenin VA, Grebenkina LA, et al. The characteristics of changes of indicators of hypophyseal-thyroid system and lipid metabolism in adolescents of different ethnic groups. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2012; (2): 19-22. (In Russ.)

Сведения об авторах

Салимова Мадинабону Долимжон кизи – аспирант, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: madinochka.salimova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1432-4239>

Наделяева Яна Геннадьевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории гинекологической эндокринологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: ianadoc@mail.ru

Information about the authors

Madinabonu D. Salimova – Postgraduate, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: madinochka.salimova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1432-4239>

Yana G. Nadelyaeva – Cand. Sc. (Med.), Research Officer of the Laboratory of Gynecological Endocrinology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: ianadoc@mail.ru

Статья получена: 10.06.2020. Статья принята: 04.09.2020. Статья опубликована: 26.10.2020.
Received: 10.06.2020. Accepted: 04.09.2020. Published: 26.10.2020.

Современные представления о клинко-диагностических критериях преждевременной недостаточности яичников (обзор литературы)

Салимова М.Д., Наделяева Я.Г., Данусевич И.Н.

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

Автор, ответственный за переписку: Салимова Мадинабону Долимон кизи, e-mail: madinochka.salimova@mail.ru

Резюме

В современных реалиях отсрочка беременности на поздний репродуктивный возраст стала тенденцией изменения репродуктивного поведения многих женщин. Поздним репродуктивным периодом считается возраст от 40 до 45 лет. При преждевременной недостаточности яичников женщина теряет свой репродуктивный потенциал до 40 лет, и это является основной социальной проблемой. Прежде чем попасть к гинекологу, свыше 50 % женщин обращаются в среднем к трём различным специалистам. От осведомлённости врача общей практики о данной патологии зависит успех ранней диагностики и возможность своевременного назначения заместительной гормональной терапии, а также мониторинг отдалённых последствий гипоестрогении. Женщины с данной патологией имеют повышенный риск ассоциированных с дефицитом эстрогена заболеваний: это нарушение эндотелиальной функции, ишемическая болезнь сердца и риски, связанные с ней; более высокую частоту остеопорозных переломов, нарушение когнитивной функции, снижение качества сексуальной жизни и риск преждевременной смертности. Целью данного обзора явилась систематизация имеющихся данных о современных клинко-диагностических критериях преждевременной недостаточности яичников для раннего выявления и предотвращения репродуктивных потерь, а также улучшения качества жизни женщин. Информационный поиск проводился с использованием интернет-ресурсов (PubMed, Web of Science, eLibrary.Ru), анализировались литературные источники за период 2015–2019 гг. В результате проведённого анализа литературных данных была описана поэтапная диагностика патологии, выявлены и перечислены основные недостатки главного маркера для оценки функции яичников – фолликулостимулирующего гормона. А также рассмотрены преимущества антимюллерового гормона в ранней диагностике овариальной недостаточности.

Ключевые слова: преждевременная недостаточность яичников, овариальный резерв, диагностика преждевременной недостаточности яичников, бесплодие, аменорея, антимюллеров гормон, фолликулостимулирующий гормон

Для цитирования: Салимова М.Д., Наделяева Я.Г., Данусевич И.Н. Современные представления о клинко-диагностических критериях преждевременной недостаточности яичников (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 42-50. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.5.

Modern Concepts of Clinical and Diagnostic Criteria for Premature Ovarian Failure (Literature Review)

Salimova M.D., Nadelyaeva Y.G., Danusevich I.N.

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

Corresponding author: Madinabonu D. Salimova, e-mail: madinochka.salimova@mail.ru

Abstract

Premature ovarian insufficiency (POI) is a life-changing diagnosis with profound physical and psychological consequences. POI, defined as amenorrhea due to the loss of ovarian function before 40 years of age, can occur spontaneously or be secondary to medical therapies. POI is associated with cardiovascular morbidity, osteoporosis and premature mortality. General practitioners play an important role in the evaluation and long-term management of women with POI. Before getting to the gynecologist, more than 50 % of women, on average, turn to three different specialists. Success of early diagnosis, possibility of timely prescription of hormone therapy, and monitoring of the long-term effects of hypoeestrogenism depend on the general practitioner's knowledge of this pathology. The purpose of this review was to systematize the available data on modern clinical diagnostic criteria for POI, for the early detection and prevention of reproductive losses, as well as improving the quality of life of women. An information search was carried out using Internet resources (PubMed, Web of Science, eLibrary.Ru), literary sources for the period 2015–2019 were analyzed. As a result of the literature data, a step-by-step diagnosis of pathology was described, the main shortcomings of the main marker for assessing ovarian function – follicle-stimulating hormone – were identified and listed. And also the advantages of anti-Müllerian hormone in the early diagnosis of ovarian insufficiency are considered.

Key words: premature ovarian failure, premature ovarian insufficiency, ovarian reserve, diagnosis of POI, infertility, amenorrhea, anti-Müllerian hormone, follicle-stimulating hormone

For citation: Salimova M.D., Nadelyaeva Y.G., Danusevich I.N. Modern Concepts of Clinical and Diagnostic Criteria for Premature Ovarian Failure (Literature Review). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 42-50. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.5.

ВВЕДЕНИЕ

Последние клинические рекомендации Европейского общества по репродукции и эмбриологии человека (European Society of Human Reproduction and Embryology, ESHRE 2016) дают следующее определение преждевременной недостаточности яичников (ПНЯ) – клинический синдром, основным проявлением которого является прекращение функции яичников в возрасте до 40 лет, характеризующийся нарушением менструальной функции (олиго-/аменорея), повышением уровня гонадотропинов (фолликулостимулирующего гормона – ФСГ, лютеинизирующего гормона – ЛГ) и снижением концентрации эстрадиола [1]. На сегодняшний день в России не существует единого стандарта обследования и ведения пациентов с данным диагнозом. Ввиду малого информирования врачей общей практики своевременная диагностика преждевременной недостаточности яичников представляет реальную клиническую проблему.

В 1942 г. Fuller Albright впервые предложил термин «преждевременная недостаточность яичников». В дальнейшем этот термин был забыт и, без достаточных на то оснований, симптомокомплекс, включающий аменорею у пациенток в возрасте до 40 лет на фоне высокого уровня гонадотропинов и низкого уровня половых гормонов, в литературе описывался как «преждевременная менопауза» или «преждевременное истощение яичников» [2]. Но последние не отражали переменную природу состояния и означали полное прекращение функции яичников. В литературе описано немало случаев спонтанного восстановления овуляции при длительной гипергонадотропной аменорее и возможность наступления беременности у 5–10 % женщин [3]. Данные, накопленные за долгие годы исследований, до сих пор не могут с точностью определить ту точку, при которой длительная гипергонадотропная аменорея становится необратимой [4]. Своевременная диагностика с чётким пониманием сопутствующих патологий, возникающих на фоне дефицита эстрогена, имеет большое значение для адекватного консультирования и лечения данных пациенток. Решающим является своевременное назначение гормональной терапии, в целях предотвращения нежелательных симптомов менопаузы и возможных последствий для здоровья. Тонкости клинической картины и относительная неосведомлённость населения об этом состоянии может привести к задержке в диагностике и последующем лечении. Несмотря на продолжительные исследования механизмов, задействованных в возникновении преждевременной недостаточности яичников, явных продвижений в этой области в последние десятилетия не было, исследователи по-прежнему сталкиваются со сложностью и неоднородностью явления [5].

ЭТИОЛОГИЯ

О частоте встречаемости ПНЯ написано много, несмотря на отсутствие данных о достоверности, по подсчётам разных авторов она колеблется от 1 до 13 % [6, 7]. Так как ПНЯ является мультифакторным заболеванием, причин, приводящих к резкому снижению фолликулярного пула, нарушению процесса фолликулогенеза, усилению апоптоза и атрезии фолликулов и недостаточной их закладке во время внутриутробного развития, достаточно. Возраст наступления менопаузы и прекращения функции яичников зависит от ряда факторов, которые принципиально

можно разделить на две группы: модифицируемые (медицинские, социальные и факторы окружающей среды) и немодифицируемые (генетические) [8]. К этиологическим причинам возникновения спонтанной ПНЯ относят: хромосомные и генетические аномалии, инфекционно-токсические агенты, факторы окружающей среды, аутоиммунную патологию, ятрогенную и идиопатическую. Однако, несмотря на современные диагностические возможности, в структуре заболеваемости доминирует идиопатическая форма, составляя более 50 % случаев [2]. Наиболее клинически важными аутоиммунными заболеваниями, связанными с ПНЯ, являются аутоиммунное заболевание надпочечников (болезнь Аддисона), аутоиммунное поражение щитовидной и поджелудочной желёз. Сообщалось, что болезнь Аддисона может предшествовать диагнозу преждевременной недостаточности яичников или возникать через много лет после её диагностики. Антиадреналовые аутоантитела обнаруживаются у половины женщин с ПНЯ через 8–14 лет после установки диагноза, болезнь Аддисона развивается в 10 % случаев. Аутоиммунная реакция щитовидной железы чаще всего проявляется в виде гипотиреоза и встречается у 27 % женщин, страдающих идиопатической ПНЯ. Сахарный диабет 1-го типа развивается у 2,5 % женщин с аутоиммунной формой овариальной недостаточности [9]. После постановки диагноза ПНЯ целесообразно ежегодно проводить скрининг функций щитовидной железы, надпочечников и поджелудочной железы. Исследование J.G. Bentzen (2012) показало, что у женщин, чьи матери вошли в менопаузу до 45 лет, скорость снижения антимюллерового гормона (АМГ) в год была вдвое выше, чем у тех, у чьих матерей естественная менопауза наступила после 55 лет [10]. Наследственность и курение сигарет – признанные факторы риска развития преждевременной недостаточности яичников [11]. Две X-хромосомы необходимы для полноценной функции яичников. Одинаково важную роль играет и короткое, и длинное плечо хромосомы. Почти все делеции, происходящие в терминальной части проксимальной области короткого и длинного плеча X-хромосомы, связаны с первичной аменореей или преждевременной недостаточностью яичников. Одна из 2500 девочек рождается с синдромом Шерешевского – Тернера (45X-моносомия), у большинства из них – первичная аменорея, но четверть случаев данного синдрома – мозаичные кариотипы, и от 3 до 5 % девочек могут иметь вторичные половые признаки и менструировать. ПНЯ у женщин с данным синдромом развивается в 4–5 % случаев [12]. Так же к дефектам хромосом, связанных с ПНЯ, можно отнести трисомию и микроделецию X-хромосомы. Синдром хрупкого плеча X-хромосомы (Синдром Мартина – Белла) является X-сцепленным доминантным генетическим признаком и характеризуется истончением концов X-хромосомы, возникающим вследствие значительного увеличения числа повторяющихся последовательностей нуклеотидов «цитозин – гуанин – гуанин», которые в норме должны повторяться не более 45 раз. При этом наблюдается нарушение функционирования гена *FMR1*, ответственного за формирование нейронных связей, а также за развитие и дифференцировку нервной системы в целом. При числе повторов, не превышающем 200 (55–199 раз), возникает премутация, что является одной из причин преждевременной овариальной недостаточности в 23 % случаев

[13]. Костный морфогенетический белок 15 является членом суперсемейства трансформирующего фактора роста бета (TGF- β), расположенного на коротком плече X-хромосомы, и играет важную роль в фертильности и качестве ооцитов, мутации в этом гене могут вызвать овариальную недостаточность [14]. Ятрогенная причина возникновения ПНЯ является наиболее острой проблемой. Одной из 49 женщин в возрасте до 40 лет будет диагностирован рак. В связи с заметным прогрессом в терапии долгосрочная выживаемость ожидается у 80 % детей и подростков с диагнозом рака [15]. Хирургические вмешательства, облучение или химиотерапия, которые отрицательно влияют на любой компонент гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси, могут поставить под угрозу репродуктивное здоровье у выживших после рака пациентов [16]. Любые хирургические вмешательства у женщин репродуктивного возраста в области малого таза могут отрицательно влиять на овариальный резерв. Быстрое снижение АМГ наблюдается после гистерэктомии. Резекция яичников и удаление эндометриоидных кист, электрокаутеризации яичников при синдроме поликистозных яичников, эмболизации маточных артерий при лечении миомы матки также повышают риск наступления ПНЯ. При двухсторонней овариоэктомии диагноз очевиден [17, 18, 19, 20, 21, 22]. Меры по сохранению фертильности следует начинать до начала любой терапии рака или хирургического вмешательства в связи с другими заболеваниями [23]. Роль инфекций остаётся спорной, не так давно появились сообщения о наличии связи между ВИЧ-инфекцией, антиретровирусной терапией и риском развития ПНЯ [24]. Стрессовые ситуации – частая причина, приводящая к формированию яичниковой недостаточности. Хронический стресс относится к ведущим повреждающим факторам, воздействующим на эндокринные железы. Индивидуальное восприятие повышенных физических и психических нагрузок может изменять регуляторную функцию иммунной системы и через повышение уровня кортикостероидных гормонов оказывать влияние на гипоталамо-гипофизарно-яичниковую ось [25]. Важно отметить, что комбинированные оральные контрацептивы (КОК), препараты для лечения бесплодия и предшествующая заместительная гормональная терапия (ЗГТ) не могут быть причиной истощения овариального резерва, они лишь могут скрыть манифестацию преждевременной недостаточности яичников и смягчить клиническую картину [16].

КЛИНИКА

Женщины с преждевременной овариальной недостаточностью обычно наблюдаются в учреждениях первичной медико-санитарной помощи с нарушением менструального цикла, бесплодием и могут страдать от симптомов гипозестрогении. Они имеют повышенный риск ассоциированных с дефицитом эстрогена заболеваний: нарушений эндотелиальной функции, ишемической болезни сердца и связанных с ней рисков; более высокую частоту остеопорозных переломов, нарушение когнитивной функции, снижение качества сексуальной жизни и риск преждевременной смертности. Прежде чем попасть к гинекологу свыше 50 % женщин обращается в среднем к трём различным специалистам [1, 6, 26]. От осведомлённости врача общей практики о данной патологии зависит не только успех ранней диагностики и возмож-

ность своевременного назначения ЗГТ, но и мониторинг отдалённых последствий гипозестрогении.

Пациентки с ПНЯ отличаются от женщин с физиологической менопаузой. Ввиду отсутствия возрастных изменений структур гипоталамической и лимбической систем у них нет тяжёлых климактерических расстройств, а также выраженных симптомов атрофии урогенитального тракта (за исключением пациенток после лечения рака), т. к. у них ещё не задействованы механизмы старения уротелия [25]. При своевременной менопаузе отмечается относительная гиперандрогения, тогда как женщины с ПНЯ в 63 % случаев испытывают проявления дефицита мужских половых гормонов. Дефицит андрогенов характеризуется ухудшением общего самочувствия, дисфорическим настроением (вплоть до депрессии), постоянным необоснованным чувством усталости, сексуальной дисфункцией (снижение либидо), вазомоторными нарушениями, потерей костной массы, снижением мышечной силы, а также снижением познавательной функции и памяти [27, 28]. Клиническая картина ПНЯ весьма неспецифична и проявление симптомов сильно варьируется в зависимости от женщины. В большинстве случаев у женщин отмечается нормальное течение пубертатного периода с установлением регулярного менструального цикла. У подавляющего большинства пациенток (85,5 %) начало заболевания проявлялось нарушением регулярности менструального цикла по типу опсоменореи. Внезапное прекращение менструаций отмечается у 14,2 % пациенток. Женщина может предъявлять жалобы, связанные со снижением эстрогена: сухость во влагалище, снижение либидо, прибавку массы тела, ухудшение состояния волос и ногтей, раздражительность, ночную потливость, повышение артериального давления и другое. Значительное снижение качества жизни наблюдается при нарушениях режима сна и бодрствования [29, 30, 31]. Однако женщины с аменореей могут никогда не испытывать симптомы гипозестрогении. Кроме того, у некоторых женщин ПНЯ обнаруживается только при обращении к врачу по поводу бесплодия [5].

ДИАГНОСТИКА

Европейское общество по репродукции и эмбриологии человека даёт следующие критерии диагностики: олигоменорея или отсутствие менструаций в течение 4 месяцев; уровень ФСГ более 25 МЕ/мл в двух исследованиях с интервалом не менее 4 недель [1]. В то же самое время, согласно Международному обществу по менопаузе, уровень фолликулостимулирующего гормона, соответствующий менопаузе, должен составлять > 40 МЕ/мл [16]. В настоящее время в России нет единого стандарта диагностики и лечения ПНЯ. У всех женщин до 40 лет с нарушениями менструального цикла вне зависимости от наличия симптомов дефицита эстрогенов необходимо исключить данную патологию. Так же особое внимание следует обратить на девушек с первичной аменореей после 15 лет, в норме в 95–98 % случаев подростки менструируют к данному возрасту. Для обеспечения точности интерпретации анализов важно, чтобы на момент исследования женщины не принимали гормональные контрацептивы или ЗГТ. Препараты должны быть отменены не менее чем за шесть недель до измерения уровня гормонов.

Некоторые исследователи в клинической практике выделяют несколько этапов проявления данного состоя-

ния: доклинический и клинически выраженный. А также выделяют стадии развития: латентную, биохимическую и стадию клинических проявлений. В латентной фазе менструальный цикл не изменён, фертильность может быть нарушена, маркеры овариального резерва снижены, по сравнению с возрастной нормой для данной популяции, ФСГ в пределах возрастной нормы. Биохимическая стадия характеризуется снижением фертильности, нарушением цикла в форме недостаточности лютеиновой фазы, маркеры овариального резерва снижены, по сравнению с возрастной нормой для данной популяции, ФСГ в пределах возрастной нормы или незначительно повышен, эстрадиол в норме или незначительно снижен. На клинической стадии происходит значительное снижение маркеров овариального резерва, повышается уровень фолликулостимулирующего гормона, эстрадиол в норме или незначительно снижен, преобладают ановуляторные циклы, олигоменорея, фертильность снижена либо бесплодие [32].

Как говорилось выше, жалобы пациентки могут сводиться к симптомам дефицита эстрогенов. К ним относятся:

1) эмоционально-психологические – бессонница, раздражительность, слабость, сонливость, беспокойство, депрессия, забывчивость, нарушение концентрации, снижение либидо;

2) вазомоторные – приливы жара, гипергидроз, сердцебиение, ознобы, головные боли, артериальная гипотония и гипертония.

Степень проявления данных симптомов у пациентки можно определить с помощью вопросника для оценки модифицированного менопаузального индекса (ММИ), разработанного Е.В. Уваровой, и оценить степень тяжести по шкале оценки ММИ. Также существуют анкеты для оценки качества жизни женщины, разработанные зарубежными коллегами, например, Menopause Specific Quality of Life (MENQOL) [33].

Особое внимание нужно уделить сбору анамнеза заболевания, где чётко уточняется хронология событий, подробно изучается семейная история, перенесённые травмирующие обстоятельства, наличие вредных привычек и этнические особенности. Для выявления женщин с повышенным риском ПНЯ следует обратить внимание на возраст наступления менопаузы у матери, имелись ли случаи умственной отсталости (особенно по мужской линии), привычное невынашивание, а также любые известные аутоиммунные или генетические заболевания у членов семьи и у пациентки [34]. Тщательно оценивается менструальная функция женщины с момента менархе: возраст начала, частоту и характер менструаций, любые изменения цикла, которые могли быть на ранних стадиях заболевания. Узнать, проводились ли медицинские вмешательства на органах малого таза, был ли приём лекарственных препаратов, имеющих гонадотоксическое воздействие, так как они могут непосредственно влиять на яичниковую функцию и овариальный резерв [16]. Особое значение имеет фиксация эндокринопатий, таких как сахарный диабет 1-го типа, гипотиреоз, связанный с тиреоидитом Хашимото, болезнь Аддисона и другие. Для данных состояний не является редкостью ранее снижение функции яичников [1, 35].

При общем осмотре пациентки следует обратить внимание на изменение ИМТ, часто он увеличивается,

оценивая состояние кожных покровов и её придатков, мы можем наблюдать изменение пигментации кожи, сухость, появление ранних морщин, ломкость ногтей, тусклость и выпадение волос. Депигментация или гиперпигментация кожи могут свидетельствовать о наличии аутоиммунных заболеваний или зоба. В ходе оценки внешних признаков мы можем выявить характерные внешние особенности, указывающие на основную патологию, способствующую развитию ПНЯ. Низкий рост, вальгусное искривление локтей (*cubitus valgus*), складки кожи или лимфедема на задней части шеи и др., свидетельствуют о синдроме Шерешевского – Тернера [36]. При гинекологическом осмотре могут быть лёгкие атрофические изменения наружных половых органов и влагалища, уменьшение количества выделений, слабость мышц тазового дна. Гипоэстрогения вносит определённый вклад в развитие опущения и выпадения половых органов. Опущение стенок влагалища и формирование цистоцеле является следствием прогрессирующей атрофии мышечных структур влагалищной стенки, мышц тазового дна, деструктуризацией и утраты эластичности коллагена, входящего в состав связочного аппарата малого таза, приводящих к недержанию мочи [27].

Переходя к лабораторным методам диагностики, стоит уточнить какие состояния могут сопровождаться олиго-/аменореей и субфертильностью [24]. Дифференциальную диагностику проводят с беременностью, гиперпролактинемией, гипоталамической (гипогонадотропной аменореей), нарушением функции щитовидной железы, неклассическими формами синдрома поликистозных яичников (СПКЯ), врождённой гиперплазией коры надпочечников, маточной аменореей, а также психологическим и физическим истощением. Поэтому лабораторные анализы могут включать: тест на беременность, пролактин, гормоны щитовидной железы (ТТГ – тиреотропный гормон, Т4св – тироксин свободный, АТ ТПО – антитела к тиреоидной пероксидазе), исследование свободной фракции тестостерона, 17-ОН прогестерона на 3–5-й день менструального цикла, раннего утреннего кортизола, витамина В₁₂ и фолиевой кислоты. Кариотипирование и определение генотипа стоит проводить, если есть семейная история или женщине < 30 лет [37]. Следует учесть, что данные анализы не являются обязательными, их необходимость учитывается индивидуально, в зависимости от клинического случая, в ходе тщательного сбора анамнеза, общего и гинекологического осмотра каждый врач определяет объём необходимых исследований.

В доказанные обследования для подтверждения диагноза входят измерение уровня ФСГ (> 25 МЕ/мл в двух исследованиях с интервалом в 4 недели) и эстрадиола (< 50 пг/мл). На сегодняшний день ведутся активные исследования для ранней диагностики на доклиническом этапе проявлений заболевания и прогнозирования ПНЯ [38, 41]. Большой интерес как маркер овариального резерва в последнее десятилетие вызывает АМГ. Антимюллеров гормон, известный также как мюллер-ингибирующая субстанция, является димерным гликопротеином, принадлежащим к семейству трансформирующего фактора роста бета (ТФР-β) [42,43]. У эмбрионов мужского пола АМГ секретируется клетками Сертоли яичка в процессе эмбрионального развития, начиная с 6-й недели гестации. АМГ инициирует регрессию мюллеровых протоков и их превращение в простатическую маточку и придаток

яичка. Нарушение регрессии и персистенция мюллеровых протоков у мужчин приводит к развитию синдрома, который клинически проявляется крипторхизмом, паховыми грыжами и нарушением репродуктивной функции. В яичниках плодов женского пола АМГ секретируется клетками гранулёзы мелких растущих фолликулов и начинается с 32-й недели гестации, когда формирование производных мюллеровых протоков (матка, маточные трубы и влагалище) полностью завершено. Самая высокая экспрессия АМГ наблюдается в преантральных и малых антральных фолликулах [43]. Сильная корреляция АМГ с количеством растущих фолликулов подтверждается тем фактом, что его уровни очень высоки при опухолях яичников [44], СПКЯ, в то время как его уровень резко снижен или не определяется у женщин в постменопаузе [38] и у пациентов с синдромом Шерешевского – Тернера [46]. Иммуногистохимия показывает, что преантральные и мелкие антральные фолликулы размером от 2 до 8 мм экспрессируют наибольшее количество АМГ, что делает его самым ранним маркером роста фолликулярных яичников. Во время ФСГ-зависимой фазы фолликулярного роста (фолликул размером от 8 до 10 мм) и в фолликулах, подвергшихся атрезии, АМГ не образуется, но в преовуляторных фолликулах образование АМГ возобновляется [44]. Динамику секреции АМГ в течение постнатальной жизни можно разделить на несколько фаз. Непродолжительное повышение концентрации гормона в сыворотке крови отмечается сразу после рождения девочки. Далее секреция АМГ падает и вскоре начинает медленно увеличиваться. До 9 лет происходит непрерывное повышение секреции АМГ, а затем в период от 10 до 15 лет содержание АМГ в крови несколько снижается. Второе повышение секреции АМГ достигает максимальных значений к 23–25 годам жизни, после чего происходит неуклонное снижение концентрации гормона до неопределяемых значений, что соответствует менопаузе [45, 46]. По последним данным, уровень АМГ заметно снижается до нарушения менструального цикла и повышения уровня ФСГ при снижении овариальной функции. Концентрация АМГ в сыворотке крови пропорциональна числу развивающихся фолликулов в яичнике, поэтому сывороточный АМГ считается маркером процесса старения яичников. Также АМГ, по-видимому, имеет исключительно овариальное происхождение, так как его невозможно обнаружить у женщин через 3–5 дней после оофорэктомии [47]. АМГ имеет весомое преимущество, в отличие от ФСГ, ЛГ, эстрадиола и ингибина В, т. к. во время менструального цикла наблюдается, что уровень АМГ относительно стабилен, не изменяется в зависимости от дня цикла и может быть оценён в любое время [49]. Легкие колебания могут быть объяснены тем фактом, что доминантный фолликул не продуцирует АМГ. Кроме того, в нескольких исследованиях сообщалось об этнических различиях, отражающих большую разницу овариального резерва среди популяций, что свидетельствует о несоответствии овариального резерва среди разных групп населения [50]. Этот факт требует установления достоверных уровней нормы АМГ в разных популяциях по всему миру. В настоящее время в литературе у женщин в возрасте от 25 до 40 лет с точки зрения фертильности уровень от 1,0 до 3,0 нг/мл считается «нормальным», от 0,7 до 0,9 нг/мл – «низким нормальным», от 0,3 до 0,6 нг/мл – «низким» и уровень АМГ менее 0,3 нг/мл считается «очень низким» диапазоном [47]. Таким об-

разом, АМГ успешно используется для прогнозирования среднего возраста наступления менопаузы, что делает его лучшим эндокринным маркером для прогнозирования снижения овариального резерва у женщин [51]. Определение содержания АМГ в крови используется для прогнозирования преждевременной недостаточности яичников в результате ятрогенных факторов. Он является более чувствительным маркером повреждения яичников даже при низких дозах химио- или радиотерапии. Уровень АМГ не только отражает овариальную активность до лечения, но и предсказывает вероятность восстановления овариальной функции после проведения химио- и радиотерапии [52]. Пациентки с исходным более высоким уровнем АМГ относятся к группе со средним и низким риском повреждения яичников на фоне химио- и радиотерапии. Было доказано, что при исходном уровне АМГ выше 2 нг/мл шанс на восстановление репродуктивной функции после химиотерапии существенно повышается. M. Rosendahl et al. (2010) продемонстрировали, что предсказательная ценность уровня АМГ не зависела от возраста пациентки, типа химиотерапии и наличия обоих или только одного яичника [53].

Учитывая всё вышеперечисленное можно сделать следующий вывод: несмотря на то, что ФСГ является доказанным и наиболее широко признанным маркером состояния яичников, он имеет недостатки. Во-первых, ФСГ характеризуется суточными и циклическими колебаниями уровня, таким образом, однократное измерение ФСГ на третий день менструального цикла может оказаться диагностически неточным, что предполагает повторную оценку ФСГ в следующем цикле. Во-вторых, ФСГ, эстрадиол и ингибин В не чувствительны на начальных стадиях уменьшения овариального резерва и их уровень не изменяется, лишь при критическом снижении овариального резерва можно определить изменения уровня, когда он становится ненормальным. Но это слишком поздно для сохранения фертильности женщины [54]. В-третьих, уровень ФСГ повышается у пациентов, получающих гормональную терапию, комбинированные оральные контрацептивы, при опухолях гипофиза, а также у пациенток с синдромом Тёрнера, даже при наличии оптимального овариального резерва [55]. Во всех этих случаях ФСГ не отражает истинное состояние резерва яичников, однако АМГ, независящий от петли обратной связи гипоталамуса, может дать наиболее ясную картину и быть ранним индикатором снижения овариального резерва. Это делает его идеальным для скрининга и своевременного направления пациентов в клиники BPT [47, 45]. В настоящий момент АМГ определяется в плазме и сыворотке крови, а также в фолликулярной жидкости. Тем не менее единый стандарт и общая калибровка значений пока отсутствуют, что мешает точной интерпретации результата. АМГ Gen II и новейший Ansh Labs ultra-sensitive AMH and picoAMH ELISA – наиболее достоверный и чувствительный метод определения АМГ в сыворотке и плазме крови. В основе работы диагностического теста лежит использование моноклональных антител. Основным препятствием к тому, чтобы АМГ вошёл в перечень диагностических критериев ПНЯ, является недостаток унифицированных данных по его возрастным и популяционным нормам, а также отсутствие его значительного снижения при некоторых формах ПНЯ (аутоиммунной и резистентности к гонадотропинам) [45].

К инструментальным методам диагностики относится ультразвуковое исследование органов малого таза, предпочтительно с использованием трансвагинального датчика. Критериями, соответствующими картине ПНЯ, являются небольшие объёмы яичников (менее 3 см³), снижение количества антральных фолликулов (менее 5) и признаки тонкого эндометрия (М-эхо < 4 мм). Для исключения остеопороза женщине с диагнозом ПНЯ рекомендуется проведение остеоденситометрии [5].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённый анализ литературных данных свидетельствует о большом интересе к поиску специфических маркеров для раннего выявления ПНЯ. Однако, несмотря на то, что АМГ является наиболее подходящим индикатором для ранней оценки снижения овариального резерва, на сегодняшний день нет унифицированных данных по его возрастным и популяционным нормам. Также, клиническое применение АМГ крови несколько ограничено из-за технических трудностей и недостаточной чувствительности диагностических систем. Всё вышеизложенное обуславливает необходимость новых исследований и разработки клинических протоколов.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

- Webber L, Davies M, Anderson R, Bartlett J, Braat D, Cartwright B, et al. ESHRE guideline: Management of women with premature ovarian insufficiency. *Hum Reprod* 2016; 31(5): 926-937. doi: 10.1093/humrep/dew027
- Табеева Г.И., Шамилова Н.Н., Жахур Н.А., Позднякова А.А., Марченко Л.А. Преждевременная недостаточность яичников – загадка XXI века. *Акушерство и гинекология*. 2013; (12): 16-21.
- Fraison E, Crawford G, Casper G, Harris V, Ledger W. Pregnancy following diagnosis of premature ovarian insufficiency: A systematic review. *Reproductive Biomed Online*. 2019; 39(3): 467-476. doi: 10.1016/j.rbmo.2019.04.019
- Царегородцева М.В., Новикова Я.С., Подольн О.Ф. Преждевременная недостаточность яичников: новые возможности терапии. *Климактерий*. 2016; (3): 26-31.
- Torrealdy S, Kodaman P, Pal L. Premature ovarian insufficiency – an update on recent advances in understanding and management. *F1000Res*. 2017;6:2069 doi: 10.12688/f1000research.11948.1
- Baber RJ, Panay N, Fenton A, IMS Writing Group. 2016 IMS Recommendations on women's midlife health and menopause hormone therapy. *Climacteric*. 2016; 19(2): 109-150. doi: 10.3109/13697137.2015.1129166
- Коваленко И.И., Данусевич И.Н., Надеяева Я.Г., Лазарева Л.М., Аталян А.В., Сутурина Л.В. Характеристика пациенток с преждевременной овариальной недостаточности по данным госпитального регистра. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2017; (11-1): 53-56.
- Cox L, Liu JH. Primary ovarian insufficiency: An update. *Int J Womens Health*. 2014; (6): 235-243. doi: 10.2147/IJWH.S37636
- Komorowska B. Autoimmune premature ovarian failure. *Prz Menopauzalny*. 2016; 15(4): 210-214. doi: 10.5114/pm.2016.65666
- Kruszyńska A, Słowińska-Szrednicka J. Anti-Müllerian hormone (AMH) as a good predictor of time of menopause. *Prz Menopauzalny*. 2017; 16(2): 47-50. doi: 10.5114/pm.2017.68591
- Vincent A, Farrell E. Premature menopause. In: Dvornyk V (ed.). *Current topics in menopause*. Sharjah: Bentham Science; 2013: 414-441. doi: 10.2174/97816080545341130101
- Bilgin EM, Kovanci E. Genetics of premature ovarian failure. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2015; 27(3): 167-174. doi: 10.1097/GCO.0000000000000177
- Pastore LM, Johnson J. The FMR1 gene, infertility, and reproductive decision-making: A review. *Front Genet*. 2014; (5): 195. doi: 10.3389/fgene.2014.00195
- Maclaran K, Nick P. Current concepts in premature ovarian insufficiency. *Womens Health (Lond)*. 2015; 11(2): 169-182. doi: 10.2217/whe.14.82
- Hudson MM. Reproductive outcomes for survivors of childhood cancer. *Obstet Gynecol*. 2010; 116(5): 1171-1183. doi: 10.1097/AOG.0b013e3181f87c4b
- Nguyen HH, Milat F, Vincent A. Premature ovarian insufficiency in general practice: Meeting the needs of women. *Aust Fam Physician*. 2017; 46(6): 360-366.
- Петров И.А., Тихоновская О.А., Куприянова И.И., Око-роков А.О., Логвинов С.В., Петрова М.С. и др. Механизмы вторичной недостаточности яичников при операциях на органах малого таза (экспериментальное исследование). *Акушерство, гинекология и репродукция*. 2015; 9(4): 6-17. doi: 10.17749/2070-4968.2015.9.4.006-017
- Соснова Е.А. Эмболизация маточных артерий при миоме матки у пациенток репродуктивного возраста и её роль в формировании аутоиммунного оофорита. *Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева*. 2016; 3(2): 81-87. doi: 10.18821/2313-8726-2016-3-2-81-87
- Atabekoglu C, Taskin S, Kahraman K, Gemici A, Taskin EA, Ozmen B, et al. The effect of total abdominal hysterectomy on serum anti-Müllerian hormone levels: A pilot study. *Climacteric*. 2012; 15(4): 393-397. doi: 10.3109/13697137.2011.642426
- Fenton A, Panay N. Does routine gynecological surgery contribute to an early menopause? *Climacteric*. 2015; 15(1): 1-2. doi: 10.3109/13697137.2012.647623
- Muzii L, Di Tucci C, Di Felicianantonio M, Galati G, Di Donato V, Mussella A, et al. Antimüllerian hormone is reduced in the presence of ovarian endometriomas: A systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2018; 110(5): 932-940.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.06.025
- Amer SA, El Shamy TT, James C, Yosef AH, Mohamed AA. The impact of laparoscopic ovarian drilling on AMH and ovarian reserve: A meta-analysis. *Reproduction*. 2017; 154(1): R13-R21. doi: 10.1530/REP-17-0063
- Dillon KE, Sammel MD, Prewitt M, Ginsberg JP, Walker D, Mersereau JE, et al. Pretreatment antimüllerian hormone levels determine rate of post therapy ovarian reserve recovery: Acute changes in ovarian reserve during and after chemotherapy. *Fertil Steril*. 2013; 99(2): 477-483. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.09.039
- Fenton AJ. Premature ovarian insufficiency: Pathogenesis and management. *J Midlife Health*. 2015; 6(4): 147-153. doi: 10.4103/0976-7800.172292
- Gersak K, Gersak ZM, Turcin A. Reproductive aging: Perimenopause and psychopathological symptoms. In: Drevensek G (ed.). *Sex Hormones in Neurodegenerative Processes and Diseases*. IntechOpen; 2018: 95-126. doi: 10.5772/intechopen.74159
- Committee on Gynecologic Practice. Committee Opinion No. 698: Hormone Therapy in Primary Ovarian Insufficiency. *Obstet Gynecol*. 2017; 129(5): e134-e141. doi: 10.1097/AOG.0000000000002044
- Надеяева Я.Г., Сутурина Л.В. Синдром поликистоза яичников и менопауза. *Доктор.Ру*. 2018; 10(154): 47-50. doi: 10.31550/1727-2378-2018-154-10-47-50
- Pluchino N, Carmignani A, Cubeddu A, Santoro A, Cela V, Errasti T. Androgen therapy in women: For whom and when. *Arch Gynecol Obstet*. 2013; 288(4): 731-737. doi: 10.1007/s00404-013-2969-7
- Madaeva I, Semenova N, Berdina O, Kolesnikova L. OSA syndrome and sleep structure in climacteric women in East Siberia: Ethnic aspect. *Chest*. 2019; 155(4): 307a. doi: 10.1016/j.chest.2019.02.298

30. Semenova N, Madaeva I, Kolesnikova L. Insomnia in menopausal women: Racial differences. *Maturitas*. 2019; 124: 165. doi: 10.1016/j.maturitas.2019.04.149
31. Мадаева И.М., Семенова Н.В., Колесникова Л.И. Этнические особенности нарушений сна у женщин климактерического периода. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2019; 119(4-2): 44-49. doi: 10.17116/jnevro201911904244
32. Татарчук Т.Ф., Косей Н.В., Тутченко Т.Н. Преждевременная недостаточность яичников: синдром или диагноз. Клиническая лекция. *Репродуктивная эндокринология*. 2017; (2): 16-22. doi: 10.18370/2309-4117.2017.34.16-22
33. Lewis JE, Hilditch JR, Wong CJ. Further psychometric property development of the Menopause-Specific Quality of Life questionnaire and development of a modified version, MENQOL-Intervention questionnaire. *Maturitas*. 2005; 50(3): 209-221. doi: 10.1016/j.maturitas.2004.06.015
34. Cramer DW, Xu H, Harlow BL. Family history as a predictor of early menopause. *Fertil Steril*. 1995; 64(4): 740-745. doi: 10.1016/s0015-0282(16)57849-2
35. Luisi S, Orlandini C, Regini C, Pizzo A, Vellucci F, Pe-traglia F. Premature ovarian insufficiency: from pathogenesis to clinical management. *J Endocrinol Invest*. 2015; 38(6): 597-603. doi: 10.1007/s40618-014-0231-1
36. Abir R, Fisch B, Nahum R, Orvieto R, Nitke S, Rafael ZB. Turner's syndrome and fertility: current status and possible putative prospects. *Hum Reprod Update*. 2001; 7(6): 603-610. doi: 10.1093/humupd/7.6.603
37. Bukman A, Heineman MJ. Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with subfertility. *Hum Reprod Update*. 2001; 7(6): 581-590. doi: 10.1093/humupd/7.6.581
38. Panay N, Kalu E. Management of premature ovarian failure. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2008; 23(1): 129-140. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2008.10.008
39. Karkanaki A, Vosnakis C, Panidis D. The clinical significance of anti-mullerian hormone evaluation in gynecological endocrinology. *Hormones (Athens)*. 2011; 10(2): 95-103. doi: 10.14310/horm.2002.1299
40. Кузнецова И.В., Драпкина Ю.С. Роль антимюллерова гормона в женской репродукции. *Медицинский алфавит*. 2017; 2(10): 9-16.
41. Jeppesen JV, Anderson RA, Kelsey TW, Christiansen SL, Kristensen SG, Jayaprasadan K, et al. Which follicles make the most anti-Mullerian hormone in humans? Evidence for an abrupt decline in AMH production at the time of follicle selection. *Mol Hum Reprod*. 2013; 19(8): 519-527. doi: 10.1093/molehr/gat024
42. Dewailly D, Andersen CY, Balen A, Broekmans F, Dilaver N, Fanchin R, et al. The physiology and clinical utility of anti-Müllerian hormone in women. *Hum Reprod Update*. 2014; 20(3): 370-385. doi: 10.1093/humupd/dmt062
43. Fong SL, Visser JA, Welt CK, de Rijke YB, Eijkemans MJC, Broekmans FJ, et al. Serum anti-müllerian hormone levels in healthy females: A nomogram ranging from infancy to adulthood. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012; 97(12): 4650-4655. doi: 10.1210/jc.2012-1440
44. Kelsey TW, Wright P, Nelson SM, Anderson RA, Wallace WHB. A validated model of serum Anti-Mullerian hormone from conception to menopause. *PLoS ONE*. 2011; 6(7): e22024. doi: 10.1371/journal.pone.0022024
45. Sahmay S, Usta TA, Erel T, Atakul N, Aydogan B. Elevated LH levels draw a stronger distinction than AMH in premature ovarian insufficiency. *Climacteric*. 2014; 17(2): 197-203. doi: 10.3109/13697137.2013.870149
46. van Disseldorp J, Lambalk CB, Kwee J, Looman CWN, Eijkemans MJC, Fauser BC, et al. Comparison of inter- and intra-cycle variability of anti-Mullerian hormone and antral follicle counts. *Hum Reprod*. 2010; 25(1): 221-227. doi: 10.1093/humrep/dep366
47. Randolph Jr JF, Harlow SD, Helmut ME, Zheng H, McConnell DS. Updated assays for inhibin B and AMH provide evidence for regular episodic secretion of inhibin B but not AMH in the follicular phase of the normal menstrual cycle. *Hum Reprod*. 2014; 29(3): 592-600. doi: 10.1093/humrep/det447

48. Tal R, Seifer DB. Potential mechanisms for racial and ethnic differences in antimüllerian hormone and ovarian reserve. *Int J Endocrinol*. 2013; 2013: 818912. doi: 10.1155/2013/818912
49. van Rooij IAJ, Broekmans FJM, Scheffer GJ, Looman CWN, Habbema JDF, de Jong FH, et al. Serum antimüllerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: A longitudinal study. *Fertil Steril*. 2005; 83(4): 979-987. doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.11.029
50. Decanter C, Morschhauser F, Pigny P, Lefebvre C, Gallo C, Dewailly D. Anti-Müllerian hormone follow-up in young women treated by chemotherapy for lymphoma: Preliminary results. *Reprod Biomed Online*. 2010; 20(2): 280-285. doi: 10.1016/j.rbmo.2009.11.010
51. Rosendahl M, Andersen CY, la Cour Freiesleben N, Juul A, Løssl K, Andersen AN. Dynamics and mechanisms of chemotherapy-induced ovarian follicular depletion in women of fertile age. *Fertil Steril*. 2010; 94(1): 156-166. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.02.043
52. Perloe M, Levy DP, Sills ES. Strategies for ascertaining ovarian reserve among women suspected of subfertility. *Int J Fertil Womens Med*. 2000; 45(3): 215-224.
53. Broer SL, Eijkemans MJC, Scheffer GJ, van Rooij IAJ, de Vet A, Themmen APN, et al. Anti-Mullerian hormone predicts menopause: A long-term follow-up study in normoovulatory women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96(8): 2532-2539. doi: 10.1210/jc.2010-2776
54. Willis SA, Kuehl TJ, Spiekerman AM, Sulak PJ. Greater inhibition of the pituitary – ovarian axis in oral contraceptive regimens with a shortened hormone-free interval. *Contraception*. 2006; 74(2): 100-103. doi: 10.1016/j.contraception.2006.02.006
55. Nelson SM. Biomarkers of ovarian response: current and future applications. *Fertil Steril*. 2013; 99(4): 963-969. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.11.051

REFERENCES

1. Webber L, Davies M, Anderson R, Bartlett J, Braat D, Cartwright B, et al. ESHRE guideline: Management of women with premature ovarian insufficiency. *Hum Reprod* 2016; 31(5): 926-937. doi: 10.1093/humrep/dew027
2. Tabeyeva GI, Shamilova NN, Zhakhur NA, Pozdnyakova AA, Marchenko LA. Premature ovarian failure is an enigma of the 21st century. *Obstet Gynecol*. 2013 (12): 16-21. (In Russ.)
3. Fraison E, Crawford G, Casper G, Harris V, Ledger W. Pregnancy following diagnosis of premature ovarian insufficiency: A systematic review. *Reprod Biomed Online*. 2019; 39(3): 467-476. doi: 10.1016/j.rbmo.2019.04.019
4. Tsaregorodtseva MV, Novikova YaS, Podolyan OF. Premature ovarian failure: New therapeutic options. *Klimakteriy*. 2016; (3): 26-31. (In Russ.)
5. Torrealday S, Kodaman P, Pal L. Premature ovarian insufficiency – an update on recent advances in understanding and management. *F1000Res*. 2017; 6:2069 doi: 10.12688/f1000research.11948.1
6. Baber RJ, Panay N, Fenton A, IMS Writing Group. 2016 IMS Recommendations on women's midlife health and menopause hormone therapy. *Climacteric*. 2016; 19(2): 109-150. doi: 10.3109/13697137.2015.1129166
7. Kovalenko II, Danusevich IN, Nadelyaeva YaG, Lazareva LM, Atalyan AV, Suturina LV. Characteristics of patients with premature ovarian insufficiency according to the patient registry. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamentalnykh issledovaniy*. 2017; (11-1): 53-56. (In Russ.)
8. Cox L, Liu JH. Primary ovarian insufficiency: An update. *Int J Womens Health*. 2014; (6): 235-243. doi: 10.2147/IJWH.S37636
9. Komorowska B. Autoimmune premature ovarian failure. *Prz Menopauzalny*. 2016; 15(4): 210-214. doi: 10.5114/pm.2016.65666
10. Kruszyńska A, Słowińska-Szrednicka J. Anti-Müllerian hormone (AMH) as a good predictor of time of menopause. *Prz Menopauzalny*. 2017; 16(2): 47-50. doi: 10.5114/pm.2017.68591
11. Vincent A, Farrell E. Premature menopause. In: Dvornyk V (ed.). *Current topics in menopause*. Sharjah: Bentham Science; 2013: 414-441. doi: 10.2174/97816080545341130101

12. Bilgin EM, Kovanci E. Genetics of premature ovarian failure. *Current Opinion in Obstet Gynecol.* 2015; 27(3): 167-174. doi: 10.1097/GCO.0000000000000177
13. Pastore LM, Johnson J. The FMR1 gene, infertility, and reproductive decision-making: A review. *Front Genet.* 2014; (5): 195. doi: 10.3389/fgene.2014.00195
14. Maclaran K, Nick P. Current concepts in premature ovarian insufficiency. *Womens Health (Lond).* 2015; 11(2): 169-182. doi: 10.2217/whe.14.82
15. Hudson MM. Reproductive outcomes for survivors of childhood cancer. *Obstet Gynecol.* 2010; 116(5): 1171-1183. doi: 10.1097/AOG.0b013e3181f87c4b
16. Nguyen HH, Milat F, Vincent A. Premature ovarian insufficiency in general practice: Meeting the needs of women. *Aust Fam Physician.* 2017; 46(6): 360-366.
17. Petrov IA, Tikhonovskaja OA, Kuprijanova II, Okorokov AO, Logvinov SV, Petrova MS, et al. Mechanisms of secondary ovarian failure in operations on the pelvic organs (experimental study). *Obstetrics, gynecology and reproduction.* 2015; 9(4): 6-17. doi: 10.17749/2070-4968.2015.9.4.006-017. (In Russ.)
18. Sosnova EA. Uterine artery embolization in uterine fibroids patients of reproductive age and its role in shaping of autoimmune oophoritis. *V.F. Snegirev Archives of Obstetrics and Gynecology.* 2016; 3(2): 81-87. doi: 10.18821/2313-8726-2016-3-2-81-87. (In Russ.)
19. Atabekoglu C, Taskin S, Kahraman K, Gemici A, Taskin EA, Ozmen B, et al. The effect of total abdominal hysterectomy on serum anti-Müllerian hormone levels: A pilot study. *Climacteric.* 2012; 15(4): 393-397. doi: 10.3109/13697137.2011.642426
20. Fenton A, Panay N. Does routine gynecological surgery contribute to an early menopause? *Climacteric.* 2015; 15(1): 1-2. doi: 10.3109/13697137.2012.647623
21. Muzii L, Di Tucci C, Di Felicianantonio M, Galati G, Di Donato V, Mussela A, et al. Antimüllerian hormone is reduced in the presence of ovarian endometriomas: A systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril.* 2018; 110(5): 932-940.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.06.025
22. Amer SA, El Shamy TT, James C, Yosef AH, Mohamed AA. The impact of laparoscopic ovarian drilling on AMH and ovarian reserve: A meta-analysis. *Reproduction.* 2017; 154(1): R13-R21. doi: 10.1530/REP-17-0063
23. Dillon KE, Sammel MD, Prewitt M, Ginsberg JP, Walker D, Mersereau JE, et al. Pretreatment antimüllerian hormone levels determine rate of post therapy ovarian reserve recovery: Acute changes in ovarian reserve during and after chemotherapy. *Fertil Steril.* 2013; 99(2): 477-483. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.09.039
24. Fenton AJ. Premature ovarian insufficiency: Pathogenesis and management. *J Midlife Health.* 2015; 6(4): 147-153. doi: 10.4103/0976-7800.172292
25. Gersak K, Gersak ZM, Turcin A. Reproductive aging: Perimenopause and psychopathological symptoms. In: Drevensek G (ed.). *Sex Hormones in Neurodegenerative Processes and Diseases.* IntechOpen; 2018: 95-126. doi: 10.5772/intechopen.74159
26. Committee on Gynecological Practice. Committee Opinion No. 698: Hormone Therapy in Primary Ovarian Insufficiency. *Obstet Gynecol.* 2017; 129(5): e134-e141. doi: 10.1097/AOG.0000000000002044
27. Nadelyaeva YaG, Suturina LV. Polycystic ovary syndrome and menopause. *Doctor.ru.* 2018; 10(154): 47-50. doi: 10.31550/1727-2378-2018-154-10-47-50. (In Russ.)
28. Pluchino N, Carmignani A, Cubeddu A, Santoro A, Cela V, Errasti T. Androgen therapy in women: For whom and when. *Arch Gynecol Obstet.* 2013; 288(4): 731-737. doi: 10.1007/s00404-013-2969-7
29. Madaeva I, Semenova N, Berdina O, Kolesnikova L. OSA syndrome and sleep structure in climacteric women in East Siberia: Ethnic aspect. *Chest.* 2019; 155(4): 307a. doi: 10.1016/j.chest.2019.02.298
30. Semenova N, Madaeva I, Kolesnikova L. Insomnia in menopausal women: Racial differences. *Maturitas.* 2019; 124: 165. doi: 10.1016/j.maturitas.2019.04.149
31. Madaeva IM, Semenova NV, Kolesnikova LI. Ethnic features of sleep disorders in climacteric women. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry.* 2019; 119(4): 44-49. doi: 10.17116/jnevro201911904244. (In Russ.)
32. Tatarchuk TF, Kosei NV, Tutchenko TN. Premature ovarian insufficiency: A syndrome or diagnosis. Clinical lecture. *Reproductive endocrinology.* 2017; (2): 16-22. doi: 10.18370/2309-4117.2017.34.16-22. (In Russ.)
33. Lewis JE, Hilditch JR, Wong CJ. Further psychometric property development of the Menopause-Specific Quality of Life questionnaire and development of a modified version, MENQOL-Intervention questionnaire. *Maturitas.* 2005; 50(3): 209-221. doi: 10.1016/j.maturitas.2004.06.015
34. Cramer DW, Xu H, Harlow BL. Family history as a predictor of early menopause. *Fertil Steril.* 1995; 64(4): 740-745. doi: 10.1016/s0015-0282(16)57849-2
35. Luisi S, Orlandini C, Regini C, Pizzo A, Vellucci F, Pe-traglia F. Premature ovarian insufficiency: from pathogenesis to clinical management. *J Endocrinol Invest.* 2015; 38(6): 597-603. doi: 10.1007/s40618-014-0231-1
36. Abir R, Fisch B, Nahum R, Orvieto R, Nitke S, Rafael ZB. Turner's syndrome and fertility: current status and possible putative prospects. *Hum Reprod Update.* 2001; 7(6): 603-610. doi: 10.1093/humupd/7.6.603
37. Bukman A, Heineman MJ. Ovarian reserve testing and the use of prognostic models in patients with subfertility. *Hum Reprod Update.* 2001; 7(6): 581-590. doi: 10.1093/humupd/7.6.581
38. Panay N, Kalu E. Management of premature ovarian failure. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2008; 23(1): 129-140. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2008.10.008
39. Karkanaki A, Vosnakis C, Panidis D. The clinical significance of anti-müllerian hormone evaluation in gynecological endocrinology. *Hormones (Athens).* 2011; 10(2): 95-103. doi: 10.14310/horm.2002.1299
40. Kuznetsova IV, Drapkina YuS. Role of anti-müllerian hormone in female reproduction. *Medical alphabet.* 2017; 2(10): 9-16. (In Russ.)
41. Jeppesen JV, Anderson RA, Kelsey TW, Christiansen SL, Kristensen SG, Jayaprakasan K, et al. Which follicles make the most anti-Müllerian hormone in humans? Evidence for an abrupt decline in AMH production at the time of follicle selection. *Mol Hum Reprod.* 2013; 19(8): 519-527. doi: 10.1093/molehr/gat024
42. Dewailly D, Andersen CY, Balen A, Broekmans F, Dilaver N, Fanchin R, et al. The physiology and clinical utility of anti-Müllerian hormone in women. *Hum Reprod Update.* 2014; 20(3): 370-385. doi: 10.1093/humupd/dmt062
43. Fong SL, Visser JA, Welt CK, de Rijke YB, Eijkemans MJC, Broekmans FJ, et al. Serum anti-müllerian hormone levels in healthy females: A nomogram ranging from infancy to adulthood. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; 97(12): 4650-4655. doi: 10.1210/jc.2012-1440
44. Kelsey TW, Wright P, Nelson SM, Anderson RA, Wallace WHB. A validated model of serum Anti-Müllerian hormone from conception to menopause. *PLoS ONE.* 2011; 6(7): e22024. doi: 10.1371/journal.pone.0022024
45. Sahmay S, Usta TA, Erel T, Atakul N, Aydogan B. Elevated LH levels draw a stronger distinction than AMH in premature ovarian insufficiency. *Climacteric.* 2014; 17(2): 197-203. doi: 10.3109/13697137.2013.870149
46. van Disseldorp J, Lambalk CB, Kwee J, Looman CWN, Eijkemans MJC, Fauser BC, et al. Comparison of inter- and intra-cycle variability of anti-Müllerian hormone and antral follicle counts. *Hum Reprod.* 2010; 25(1): 221-227. doi: 10.1093/humrep/dep366
47. Randolph Jr JF, Harlow SD, Helmut ME, Zheng H, McConnell DS. Updated assays for inhibin B and AMH provide evidence for regular episodic secretion of inhibin B but not AMH in the follicular phase of the normal menstrual cycle. *Hum Reprod.* 2014; 29(3): 592-600. doi: 10.1093/humrep/det447
48. Tal R, Seifer DB. Potential mechanisms for racial and ethnic differences in antimüllerian hormone and ovarian reserve. *Int J Endocrinol.* 2013; 2013: 818912. doi: 10.1155/2013/818912

49. van Rooij IAJ, Broekmans FJM, Scheffer GJ, Looman CWN, Habbema JDF, de Jong FH, et al. Serum antimüllerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: A longitudinal study. *Fertil Steril*. 2005; 83(4): 979-987. doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.11.029

50. Decanter C, Morschhauser F, Pigny P, Lefebvre C, Gallo C, Dewailly D. Anti-Müllerian hormone follow-up in young women treated by chemotherapy for lymphoma: Preliminary results. *Reprod Biomed Online*. 2010; 20(2): 280-285. doi: 10.1016/j.rbmo.2009.11.010

51. Rosendahl M, Andersen CY, la Cour Freiesleben N, Juul A, Løssl K, Andersen AN. Dynamics and mechanisms of chemotherapy-induced ovarian follicular depletion in women of fertile age. *Fertil Steril*. 2010; 94(1): 156-166. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.02.043

52. Perloe M, Levy DP, Sills ES. Strategies for ascertaining ovarian reserve among women suspected of subfertility. *Int J Fertil Womens Med*. 2000; 45(3): 215-224.

53. Broer SL, Eijkemans MJC, Scheffer GJ, van Rooij IAJ, de Vet A, Themmen APN, et al. Anti-Müllerian hormone predicts menopause: A long-term follow-up study in normoovulatory women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96(8): 2532-2539. doi: 10.1210/jc.2010-2776

54. Willis SA, Kuehl TJ, Spiekerman AM, Sulak PJ. Greater inhibition of the pituitary – ovarian axis in oral contraceptive regimens with a shortened hormone-free interval. *Contraception*. 2006; 74(2): 100-103. doi: 10.1016/j.contraception.2006.02.006

55. Nelson SM. Biomarkers of ovarian response: current and future applications. *Fertil Steril*. 2013; 99(4): 963-969. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.11.051

Сведения об авторах

Салимова Мадинабону Долимжон кизи – аспирант, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: madinotchka.salimova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1432-4239>

Наделяева Яна Геннадьевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории гинекологической эндокринологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: ianadoc@mail.ru

Данусевич Ирина Николаевна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории гинекологической эндокринологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8862-5771>

Information about the authors

Madinabonu D. Salimova – Postgraduate, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: madinotchka.salimova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1432-4239>

Yana G. Nadelyaeva – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Gynecological Endocrinology, Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: ianadoc@mail.ru

Irina N. Danusevich – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Gynecological Endocrinology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8862-5771>

Статья получена: 10.06.2020. Статья принята: 08.12.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 10.06.2020. Accepted: 08.12.2020. Published: 26.12.2020.

ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ INTERNAL DISEASES

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.6

Современное представление о кишечной микробиоте у пациентов с сахарным диабетом*

Чугунова Е.В., Даренская М.А.

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

Автор, ответственный за переписку: Чугунова Елена Владимировна, e-mail: e.v_chugunova@mail.ru

Резюме

Сахарный диабет (СД) представляет собой одно из самых распространённых неинфекционных заболеваний в мире. Несмотря на длительную борьбу с данной нозологией, у медицинского сообщества до сих пор нет чёткого ответа на вопросы, касающиеся всех патогенетических звеньев этого заболевания. С каждым годом расширяется круг препаратов для коррекции гипергликемии, однако у пациентов продолжают формироваться поздние осложнения СД, приводящие к инвалидизации и гибели. Вероятно, это происходит потому, что до сих пор изучены не все аспекты патогенеза СД, и, следовательно, невозможно полноценно влиять на течение этого заболевания. На сегодняшний день одно из интересных и перспективных направлений видится в изучении и коррекции кишечной микробиоты пациентов с СД. Возникает множество вопросов о влиянии микробиоты кишечника на организм хозяина, а также большой интерес представляет и обратное взаимодействие – изменение бактериального состава под воздействием меняющегося в современном обществе стиля питания, экологической обстановки, изменение кишечной микробиоты при смене климатических и географических составляющих жизни человека. Возможно, имея больше данных об особенностях кишечной микробиоты при различных заболеваниях и возможности её изменения, медицинскому сообществу откроются новые перспективные направления в коррекции метаболических изменений при многих нозологических единицах. Известно влияние кишечной микробиоты на формирование и распространение различных патофизиологических процессов в организме, но насколько возможно изменение микробиоты кишечника с целью коррекции патологических процессов, в том числе формирования гипергликемии – это направление требует прицельного и многоцентрового изучения.

Ключевые слова: сахарный диабет, микробиота кишечника, штамм, воспаление, жировая ткань

Для цитирования: Чугунова Е.В., Даренская М.А. Современное представление о кишечной микробиоте у пациентов с сахарным диабетом. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 51-57. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.6.

Modern Understanding of the Gut Microbiota in Patients with Diabetes Mellitus

Chugunova E.V., Darenskaya M.A.

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

Corresponding author: Elena V. Chugunova, e-mail: e.v_chugunova@mail.ru

Abstract

Diabetes Mellitus (DM) is one of the most common non-communicable diseases in the world. Despite the long struggle with this nosology, the medical community still does not have a clear answer to all the pathogenetic links of this disease. Every year, the number of sugar-lowering medications increases, but most patients develop complications of diabetes. This is probably because not all aspects of the pathogenesis of DM have yet been studied, and therefore it is impossible to fully influence the course of this disease. One of the promising directions in the study of additional aspects of the pathogenesis of DM is the study of the gut microbiota of patients. Science knows the influence of microflora on the formation of eating behavior, various pathological processes, including inflammation, but this knowledge is limited. What influences the microflora itself and whether it is possible to change its composition with the help of changes in external factors? Additional research is required on the mutual influence of microflora and host organism, as well as the possibility of correcting these interactions. Several studies have confirmed the positive effect of lactobacilli on the physiological processes of the body. However, the human gut microbiota is very diverse, and the question of identifying bacteria that can participate and correct pathological processes requires additional research. Probably, if it is possible to influence the composition of the gut microbiota, the medical community can get a powerful tool for correcting many pathological conditions. It may be that this component is the missing component necessary for a more accurate impact in the treatment of many diseases, including diabetes.

Key words: diabetes mellitus, gut microbiota, strain, inflammation, adipose tissue

For citation: Chugunova E.V., Darenskaya M.A. Modern Understanding of the Gut Microbiota in Patients with Diabetes. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 51-57. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.6.

* Статья опубликована по материалам доклада на IV Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 16 октября 2020 года).

Сахарный диабет (СД) – группа метаболических заболеваний, характеризующихся хронической гипергликемией, связанной с нарушением секреции или действия инсулина [1]. Основная проблема и опасность длительно сохраняющейся в крови гипергликемии – это возникающие и прогрессирующие на её фоне изменения сосудистой стенки, приводящие к формированию поздних осложнений сахарного диабета: ретино- и нефропатии; формирования ишемических изменений, влекущих за собой возможность развития ишемической болезни сердца; цереброваскулярных изменений или повреждения сосудов нижних конечностей [2]. Согласно современной классификации Всемирной организации здравоохранения, выделяют СД 1-го типа, СД 2-го типа, гестационный СД и другие типы сахарного диабета [1]. В качестве факторов, предрасполагающих к формированию СД, выступают генетическая предрасположенность, наличие сопутствующих заболеваний (артериальная гипертензия, дислипидемия, ожирение для СД 2-го типа), особенности питания, гиподинамия, этническая предрасположенность, курение, возраст и т. д. [3, 4, 5, 6].

Среди перечисленных факторов риска часть может подвергаться модификации, а часть является независимой от пациента. Задача современной медицины – узнать как можно больше о факторах, на которые возможно воздействовать с целью коррекции углеводного обмена для достижения целевых показателей гликемии у пациентов с СД, что приведёт к значительному снижению количества поздних осложнений диабета, а может быть и позволит профилактировать возникновение этого заболевания [7]. На сегодняшний день большой интерес в качестве одного из крупных звеньев патогенетических изменений при СД вызывает микробиота кишечника человека. Микробиота – это разнообразие микробного сообщества, состоящее в тесной связи с самыми различными процессами, протекающими в организме хозяина [8]. Учитывая, что желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) является наиболее крупным по площади органом, возникает закономерный вопрос о его участии во всех видах обмена. Известно, что микробиота кишечника участвует в синтезе витаминов, способствует усвоению компонентов пищи, регулирует воспалительный ответ и иммунные реакции, участвует в синтезе нейромедиаторов [8, 9]. По современным данным в составе кишечной микробиоты человека преобладают бактерии *Firmicutes* (примерно 64 % от общего числа) и *Bacteroidetes* (примерно 23 % от общего числа) [10]. *Firmicutes*, населяющие желудочно-кишечный тракт, представлены четырьмя классами: *Bacilli*, *Clostridia*, *Erysipelotrichi* и *Negativicutes*. Среди имеющихся форм представлены как положительно влияющие на организм, например, пробиотический вид *Lactobacillus* spp., так и компоненты с патогенными свойствами – *Clostridium difficile*. При исследовании образцов фекалий R.J. Siezen и M. Kleerebezem выявили так называемые «энтеротипы» – устойчивые сообщества бактерий [11]. Первый энтеротип с преобладанием *Bacteroidetes*, второй энтеротип – с преобладанием *Prevotella*, третий – с преобладанием *Ruminococcus*. В исследованиях выявлено, что *Bacteroidetes* активно ферментируют углеводы для получения энергии и обладают высокой сахаролитической активностью. Второй энтеротип может разрушать гликопротеины муцина из слизистой оболочки кишечника, а третий энтеротип обладает способностью к связы-

ванию муцина, транспортировке и разрушению сахаров [11]. Учитывая роль бактерий в пищеварении, усвоении углеводов, закономерным видится вопрос об участии различных бактериальных видов в патогенезе сахарного диабета. В исследовании A. Giongo et al. выявлена разница между кишечной микробиотой пациентов с СД 1-го типа и контрольной группой здоровых лиц [12]: у пациентов с СД 1-го типа состав микробиоты был менее стабилен и менее разнообразен, у пациентов были выявлены нарушения в количественном соотношении двух основных видов, населяющих ЖКТ – *Bacteroidetes* и *Firmicutes* [13]. Подобные данные получили в своих исследованиях M.C. de Goffau et al. [14]: у пациентов с СД преобладали бактерии типа *Bacteroidetes*. Также M.C. de Goffau et al. в исследованиях выявили количественное снижение у пациентов с СД 1-го типа бутират-продуцирующей бактерии *Faecali bacterium prausnitzii*, которая крайне важна в формировании иммунных реакций организма [14]. Известно, что данные бактерии посредством образования бутирата как побочного продукта их жизнедеятельности участвуют в поддержании целостности эпителиального слоя кишечника и подавляют воспаление [15, 16]. Нарушение эпителиальной целостности кишечника, возникновение аутоиммунных реакций, повышение проницаемости кишечного барьера подтвердили в своих исследованиях у пациентов с СД 1-го типа E. Gülden et al. [17]. Однако не до конца изученным остаётся вопрос, что же является первопричиной – изменение кишечной микробиоты на фоне имеющихся у пациентов с СД воспалительных реакций и особенностей питания, или всё-таки нарушение состава бактерий, населяющих кишечник, запускает каскад иммуно-воспалительных реакций, приводящих к возникновению СД? В животных моделях A.S. Lee et al. продемонстрировали развитие СД у мышей на фоне изменения барьерной функции кишечника, связанной с инфицированием *C. rodentium* [18]. L. Wen et al. в исследовании на мышах подтвердили, что возникновение СД 1-го типа при наличии врождённых изменений иммунной системы (наличия белка MyD88) быстрее происходит у животных с нарушенным кишечным барьером, являясь важнейшим эпигенетическим фактором [19]. Патогенетически и СД 2-го типа имеет в своей основе воспалительный компонент [20], а нарушения в микробиоте кишечника дополнительно вызывают дезрегуляцию адаптивных процессов иммунных клеток, что усугубляет воспалительный компонент данного заболевания [21]. H.S. Ejtahed и L.G. Ooi et al. высказали предположение о возможности с помощью антиоксидантного эффекта некоторых пробиотических штаммов корректировать степень окислительного стресса [21, 22], что, возможно, затормозит формирование хронического воспалительного процесса и апоптоза В-клеток, а также позволит скорректировать липидный спектр, модулируя уровень ЛПНП, тем самым влияя на один из факторов риска развития СД 2-го типа [23]. По прогнозам Международной федерации диабета, к 2045 г. число людей, страдающих СД, приблизится к 629 млн человек [24], поэтому особенно важным становится вопрос поиска модифицируемых факторов патогенеза данной нозологии. Патогенез СД 2-го типа – это совокупность эпигенетических факторов, подвергающихся воздействию внешней среды [25]. Кишечная микробиота не только меняется под влиянием особенностей

питания, географических особенностей проживания хозяина, но и влияет на состояние здоровья, кодируя некоторые белки [26]. На сегодняшний день в ряде научных работ представлены данные об изменении состава кишечной микробиоты у людей с нормальной массой тела и ожирением [27], являющимся одним из главных звеньев патогенетических изменений при СД 2-го типа [28], так в своей работе E. Le Chatelier et al. при исследовании микробиоты у 123 человек без ожирения и у 169 человек с ожирением выявили, что у исследуемых с менее разнообразным бактериальным сообществом ожирение, дислипидемия и инсулинорезистентность встречаются чаще [29]. F. Karlsson et al. в своей работе описали фекальный метабеном у 145 человек с различным состоянием углеводного обмена: среди исследуемых были люди без СД, с наличием предиабета и СД. Авторы сделали предположение о метабеномной модели, способной идентифицировать СД 2-го типа [30]. Подобные результаты получили K.H. Allin et al. при изучении состава микробиоты у 134 человек с предиабетом и 134 человек без нарушения углеводного обмена: был зафиксирован изменённый состав микробиоты – в меньшем количестве у пациентов с предиабетом встречалась *Akkermansia muciniphila*, участвующая в метаболизме муцина [31]. Однако в исследованиях принимали участие только европейцы, что, вероятно, ограничивает использование данных результатов на другие географические территории [31, 32]. При исследовании влияния состава микробиоты кишечника на гликемический контроль особый интерес вызывает взаимодействие микробного сообщества и инкретинового звена патогенеза СД, ведь известно, что 60 % постпрандиальной секреции инсулина обусловлено работой данных гормонов. Одно из крупнейших исследований ADDITION-PRO, проведённое в 2015 г., в котором принимали участие 1462 человека, показало снижение уровня глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1) и нарушение пищевой фазы секреции инсулина у людей с ожирением и предиабетом в сравнении со здоровой группой контрольных лиц [32]. В нескольких современных работах представлена роль сульфатредуцирующих бактерий на активность секреции ГПП-1. Так, J. Pichette et al. продемонстрировали в исследовании на мышах, что увеличение в кишечном микробном сообществе данного вида бактерий посредством добавления в пищу пребиотиков, способствует повышению выработки ГПП-1 и улучшению гликемического контроля [33]. X. Li et al. при исследовании пребиотиков изучали влияние *Lactobacillus casei* CCFM419 у мышей с сахарным диабетом. При повышении количественного содержания данных бактерий у мышей снижался уровень глюкозы крови натощак и постпрандиально, снижался уровень провоспалительных маркеров, таких как интерлейкин-6 и фактор некроза опухоли альфа [34]. При значимом титре (10^9 КОЕ) *Lactobacillus casei*, добавленные в рацион мышей, способны повышать секрецию ГПП-1, корректировать соотношение *Bacteroidetes/Firmicutes* и улучшать гликемический контроль [35].

Важную роль в углеводном обмене играют также короткоцепочечные жирные кислоты, образующиеся в дистальном отделе кишечника, самыми распространёнными из которых являются бутират – около 15 %, ацетат – приблизительно 60 %, и пропионат – около 23 % [36]. Образовавшись в просвете кишечника в процессе

пищеварения, всасываясь в кровь, они участвуют в синтезе глюкозы и липидов, являясь одним из источников энергии в организме, улучшая окислительный статус, укрепляя защитный барьер эпителия [36, 37]. Бактерии, продуцирующие короткоцепочечные жирные кислоты, способны участвовать в улучшении гликемического состояния и создании гликемического равновесия хозяина [37]. Однако в исследовании, проведённом L. Zhao et al., выявлено, что лишь небольшое количество штаммов кишечных бактерий могут быть стимулированы с помощью изменений диеты пациента посредством добавления большого количества пищевых волокон [38]. В исследовании участвовали 16 пациентов с СД 2-го типа, которые придерживались классических рекомендаций по питанию, и 27 пациентов с диетой, обогащённой большим количеством пищевых волокон, калорийность при этом в обеих группах была идентична. Достижение целевых параметров гликемического контроля – уровня гликозилированного гемоглобина (HbA1c) менее 7,0 % – в группе с богатой пищевыми волокнами диетой зафиксировано у 89 % пациентов по сравнению с группой, употребляющей классический вариант питания пациента с СД, где целевого HbA1c достигли 50 % пациентов [38]. При трансплантации кишечной микробиоты пациентов из группы с питанием, богатым пищевыми волокнами, мышам, не имевшим нарушений углеводного обмена, у данной группы животных зафиксированы более низкие уровни гликемии натощак и постпрандиально в сравнении с группой мышей с трансплантированной микробиотой группы пациентов с классическим питанием при СД. В исследовании выявлено, что *Bifidobacterium pseudocatenulatum* – один из самых значимых производителей короткоцепочечных жирных кислот, *B. pseudocatenulatum* штамм C95 значительно снижал прибавку в весе, уровень гликемии натощак [38]. В своём исследовании C.M. van der Beek et al. при изучении уровня глюкозы у 14 пациентов с ожирением и избыточной массой тела на фоне употребления бифидобактерий в виде молочного коктейля с высоким содержанием жиров выявили повышенную выработку короткоцепочечных жирных кислот в сравнении с группой пациентов, употреблявших плацебо, а уровень гликемии был ниже после приёма у пациентов в исследуемой группе по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$) [39].

Безусловно, не последнюю роль в формировании СД и достижении целевых значений гликемии при данном заболевании играет непосредственно жировая ткань [40]. На сегодняшний день известно, что жировая ткань представляет собой не просто энергетическое депо, а является важнейшим эндокринным органом, участвующим в процессах воспаления, гомеостаза, изменениях гликемического равновесия [41, 42]. Относительно вопроса влияния кишечной микробиоты на жировую ткань, вероятно, научное сообщество вновь имеет дело с коррекцией уровня ГПП-1, ведь достаточная секреция этого гормона способна снижать процесс воспаления в жировой ткани. Это в своём исследовании на мышах продемонстрировали Y.S. Lee et al. [42]. А снижение воспалительного процесса в адипоцитах, вероятно, приводит к снижению инсулинорезистентности, тем самым улучшая уровень глюкозы крови. Среди штаммов, способных снижать воспаление в жировой ткани, выделен *Lactobacillus fermentum* MTCC5689, при добавлении которого в течение 6 месяцев в рацион мышей с ожирением

нием, зафиксировано снижение таких воспалительных маркеров как интерлейкин-6 и ФНО- α , а *Lactobacillus sakei* способствует снижению уровня интерлейкина-10, даже при наличии в рационе диеты с высоким содержанием жиров [43]. Можно ли с помощью изменений микробного соотношения не просто корректировать последствия ожирения, а влиять непосредственно на снижение массы тела? В своих работах L.H. Chen et al. определили влияние пробиотического штамма *Lactobacillus reuteri* 263 на фоне 8-недельного лечения на белую жировую ткань – увеличилось потребление кислорода, а также был зафиксирован процесс потемнения жировой ткани у 34 пациентов с ожирением [44]. *Akkermansia muciniphila* при достаточном содержании в микробном сообществе кишечника способна увеличивать количество бурой жировой ткани, что в своём исследовании на мышах с ожирением продемонстрировали J. Liu et al. [45]. Данное направление является немаловажным, т.к. бурая жировая ткань способна к активному энергообмену, что является составляющей профилактики ожирения [46, 47, 48].

Таким образом, имеющиеся данные говорят о тесной связи состава микробиоты кишечника и протекающих в организме хозяина иммунных и провоспалительных процессов. Вероятно, при сохранении эпителиальной целостности кишечника, за счёт коррекции в том числе микробного сообщества кишечника, возможно сдерживать аутоиммунные реакции, предотвращать повышение проницаемости кишечного барьера [49]. Изменение кишечной микробиоты ведёт за собой сдвиги в данных направлениях, что, вероятно, даёт научному сообществу новую возможность в формировании современных подходов коррекции углеводного обмена у пациентов с СД, а в ряде случаев, возможно, позволит говорить и о профилактике данного заболевания [50]. Однако далеко не все штаммы микробов способны участвовать в регуляции углеводного обмена и иметь протективное действие на развитие СД [51]. Задача современного медицинского сообщества выявить именно те виды бактерий, которые могут активно влиять на изменение воспалительного процесса, липидного статуса, гликемического гомеостаза [52, 53], а главное делать это стабильно в течение длительного времени. Большинство имеющихся на сегодняшний день научных работ требуют более детального изучения данной темы. Активного изучения требует вопрос сочетания определённых микробных сообществ с генетическими особенностями отдельного индивидуума [54]. Недостаточно изученным остаётся и вопрос о влиянии физической нагрузки [55], географических, социально-экономических, экологических, этнических факторов на формирование и стабильность поддержания микробиоты кишечника.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с рукописью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дедов И.И., Шестакова М.В., Майоров А.Ю. (ред.). *Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом*. 9-й выпуск. М.; 2019. doi: 10.14341/DM221S1
2. Shemyakina NA, Namokonov EV, Darenskaya MA, Kolesnikov SI, Kolesnikova LI. Advanced glycation end products and glutathione status in patients with type 2 diabetes mellitus

and macroangiopathy of the lower limbs. *Free Radic Biol Med*. 2018; 120(S1): S60-S61. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.04.200

3. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Ghusina SV, Kolesnikov SI. Oxidative stress in type 1 diabetes mellitus: Ethnic aspects. In: Rizwan Ahmad (ed.). *Free Radicals, Antioxidants and Diseases*. Rijeka: Intech Open; 2018: 65-72. doi: 10.5772/intechopen.76512
4. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Semenova NV, Grebenkina LA, Suturina LV, Dolgikh MI, et al. Lipid peroxidation and antioxidant protection in girls with type 1 diabetes mellitus during reproductive system development. *Medicina*. 2015; 51(2): 107-111. doi: 10.1016/j.medic.2015.01.009
5. Darenskaya MA, Kolesnikov SI, Rychkova LV, Grebenkina LA, Kolesnikova LI. Oxidative stress and antioxidant defense parameters in different diseases: Ethnic aspects. *Free Radic Biol Med*. 2018; 120(S1): S60. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.04.199
6. Kolesnikova LI, Kolesnikov SI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Semenova NV, Osipova EV, et al. Lipid status and predisposing genes in patients with diabetes mellitus type 1 from various ethnic groups. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2015; 160: 278-280. doi: 10.1007/s10517-015-3149-5
7. Дедов И.И., Колесникова Л.И., Бардымова Т.П., Прокофьев С.А., Иванова О.Н., Гнусина С.В. Этнические особенности сахарного диабета у народов Прибайкалья. *Бюллетень СО РАМН*. 2008; 28(1): 16-20.
8. Boulange CL, Neves AL, Chilloux J, Nicholson JK, Dumas ME. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Med*. 2016; 8(1): 42. doi: 10.1186/s13073-016-0303-2
9. Galland L. The gut microbiome and the brain. *J Med Food*. 2014; 17(12): 1261-1272. doi: 10.1089/jmf.2014.7000
10. Дзгоева Ф.Х., Егшатын Л.В. Кишечная микробиота и сахарный диабет типа 2. *Эндокринология: новости, мнения, обучение*. 2018; 7(3): 55-63. doi: 10.24411/2304-9529-2018-13005
11. Siezen RJ, Kleerebezem M. The human gut microbiome: Are we our enterotypes? *Microb Biotechnol*. 2011; 4(5): 550-553. doi: 10.1111/j.1751-7915.2011.00290.x
12. Giongo A, Gano KA, Crabb DB, Mukherjee N, Novelo LL, Casella G, et al. Toward defining the autoimmune microbiome for type 1 diabetes. *ISME J*. 2011; 5(1): 82-91. doi: 10.1038/ismej.2010.92
13. De Goffau MC, Fuentes S, van den Bogert B, Honkanen H, de Vos WM, Welling GW, et al. Aberrant gut microbiota composition at the onset of type 1 diabetes in young children. *Diabetologia*. 2014; 57(8): 1569-1577. doi: 10.1007/s00125-014-3274-0
14. de Goffau MC, Luopajarvi K, Knip M, Ilonen J, Ruotula T, Harkonen T, et al. Fecal microbiota composition differs between children with beta-cell autoimmunity and those without. *Diabetes*. 2013; 62(4): 1238-1244. doi: 10.2337/db12-0526
15. Ye Z, Zhang N, Wu C, Zhang X, Wang Q, Huang X, et al. A metagenomic study of the gut microbiome in Behcet's disease. *Microbiome*. 2018; 6(1): 135. doi: 10.1186/s40168-018-0520-6
16. Zimmerman MA, Singh N, Martin PM, Thangaraju M, Ganapathy V, Waller JL, et al. Butyrate suppresses cholangitis inflammation through HDAC1-dependent Fas upregulation and Fas-mediated apoptosis of T cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2012; 302(12): G1405-G1415. doi: 10.1152/ajpgi.00543.2011
17. Gulden E, Wong FS, Wen L. The gut microbiota and type 1 diabetes. *Clin Immunol*. 2015; 159(2): 143-153. doi: 10.1016/j.clim.2015.05.013
18. Lee AS, Gibson DL, Zhang Y, Sham HP, Vallance BA, Dutz JP. Gut barrier disruption by an enteric bacterial pathogen accelerates insulinitis in NOD mice. *Diabetologia*. 2010; 53(4): 741-748. doi: 10.1007/s00125-009-1626-y
19. Wen L, Ley RE, Volchkov PY, Stranges PB, Avanesyan L, Stonebraker AC, et al. Innate immunity and intestinal microbiota in the development of type 1 diabetes. *Nature*. 2008; 455(7216): 1109-1113. doi: 10.1038/nature07336
20. Mc Ardle MA, Finucane OM, Connaughton RM, Mc Morrow AM, Roche HM. Mechanisms of obesity-induced inflam-

mation and insulin resistance: insights into the emerging role of nutritional strategies. *Front Endocrinol.* 2013; 4: 52. doi: 10.3389/fendo.2013.00052

21. Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2009; 9(5): 313-323. doi: 10.1038/nri2515

22. Ejtahed HS, Mohtadi-Nia J, Homayouni-Rad A, Niafar M, Asghari-Jafarabadi M, Mofid V. Probiotic yogurt improves anti-oxidant status in type 2 diabetic patients. *Nutrition.* 2012; 28(5): 539-543. doi: 10.1016/j.nut.2011.08.013

23. Ooi LG, Liong MT. Cholesterol-lowering effects of probiotics and prebiotics: A review of in vivo and in vitro findings. *Int J Mol Sci.* 2010; 11(6): 2499-2522. doi: 10.3390/ijms11062499

24. Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, Huang Y, da Rocha Fernandes JD, Ohlrogge AW, et al. IDF diabetes atlas: global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract.* 2018; 138: 271-281. doi: 10.1016/j.diabres.2018.02.023

25. Дедов И.И., Колесникова Л.И., Бардымова Т.П., Прокофьев С.А., Иванова О.Н. Клинические, генетические и метаболические особенности сахарного диабета у больных бурятской популяции. *Сахарный диабет.* 2006; (3): 2-5.

26. Ussar S, Fujisaka S, Kahn CR. Interactions between host genetics and gut microbiome in diabetes and metabolic syndrome. *Mol Metab.* 2016; 5(9): 795-803. doi: 10.1016/j.molmet.2016.07.004

27. Belkova NL, Nemchenko UM, Pogodina AV, Romanitsa AI, Novikova EA, Rychkova LV, et al. Composition and structure of gut microbiome in adolescents with obesity and different breastfeeding duration. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2019; 167(6): 759-762. doi: 10.1007/s10517-019-04617-7

28. Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, Prifti E, Pons N, Le Chatelier E, et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature.* 2013; 500: 585-588. doi: 10.1038/nature12480

29. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature.* 2013; 500(7464): 541-546. doi: 10.1038/nature12506

30. Karlsson F, Tremaroli V, Nielsen J, Bäckhed F. Assessing the human gut microbiota in metabolic diseases. *Diabetes.* 2013; 62(10): 3341-3349. doi: 10.2337/db13-0844

31. Allin KH, Tremaroli V, Caesar R, Jensen BAH, Damgaard MTF, Bahl MI, et al. Aberrant intestinal microbiota in individuals with prediabetes. *Diabetologia.* 2018; 61(4): 810-820. doi: 10.1007/s00125-018-4550-1

32. Faerch K, Torekov SS, Vistisen D, Johansen NB, Witte DR, Jonsson A, et al. GLP-1 response to oral glucose is reduced in prediabetes, screen-detected type 2 diabetes, and obesity and influenced by sex: The ADDITION-PRO study. *Diabetes.* 2015; 64: 2513-2525. doi: 10.2337/db14-1751

33. Pichette J, Fynn-Sackey N, Gagnon J. Hydrogen sulfide and sulfate prebiotic stimulates the secretion of GLP-1 and improves glycemia in male mice. *Endocrinology.* 2017; 158(10): 3416-3425. doi: 10.1210/en.2017-00391

34. Wang G, Li X, Zhao J, Zhang H, Chen W. Lactobacillus casei CCFM419 attenuates type 2 diabetes via a gut microbiota dependent mechanism. *Food Funct.* 2017; 8(9): 3155-3164. doi: 10.1039/C7FO00593H

35. Macfarlane GT, Macfarlane S. Bacteria, colonic fermentation, and gastrointestinal health. *J AOAC Int.* 2012; 95(1): 50-60. doi: 10.5740/jaoacint.sge_macfarlane

36. Puddu A, Sanguineti R, Montecucco F, Viviani GL. Evidence for the gut microbiota short-chain fatty acids as key pathophysiological molecules improving diabetes. *Mediators Inflamm.* 2014; 2014: 162021. doi: 10.1155/2014/162021

37. Wang S, Li Q, Zang Y, Zhao Y, Liu N, Wang Y, et al. Apple polysaccharide inhibits microbial dysbiosis and chronic inflammation and modulates gut permeability in HFD-fed rats. *Int J Biol Macromol.* 2017; 99: 282-292. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.02.074

38. Zhao L, Zhang F, Ding X, Wu G, Lam YY, Wang X, et al. Gut bacteria selectively promoted by dietary fibers alleviate type 2

diabetes. *Science.* 2018; 359(6380): 1151-1156. doi: 10.1126/science.aao5774

39. van der Beek CM, Canfora EE, Kip AM, Gorissen SHM, OldeDamink SWM, van Eijk HM, et al. The prebiotic inulin improves substrate metabolism and promotes short-chain fatty acid production in overweight to obese men. *Metabolism.* 2018; 87: 25-35. doi: 10.1016/j.metabol.2018.06.009

40. Torres S, Fabersani E, Marquez A, Gauffin-Cano P. Adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. The proactive role of probiotics. *Eur J Nutr.* 2019; 58(1): 27-43. doi: 10.1007/s00394-018-1790-2

41. Gérard C, Brown KA. Obesity and breast cancer – Role of estrogens and the molecular underpinnings of aromatase regulation in breast adipose tissue. *Mol Cell Endocrinol.* 2018; 466: 15-30. doi: 10.1016/j.mce.2017.09.014

42. Lee YS, Park MS, Choung JS, Kim SS, Oh HH, Choi CS, et al. Glucagon-like peptide-1 inhibits adipose tissue macrophage infiltration and inflammation in an obese mouse model of diabetes. *Diabetologia.* 2012; 55(9): 2456-2468. doi: 10.1007/s00125-012-2592-3

43. Balakumar M, Prabhu D, Sathishkumar C, Prabu P, Rokana N, Kumar R, et al. Improvement in glucose tolerance and insulin sensitivity by probiotic strains of Indian gut origin in high-fat diet-fed C57BL/6J mice. *Eur J Nutr.* 2018; 57(1): 279-295. doi: 10.1007/s00394-016-1317-7

44. Chen LH, Chen YH, Cheng KC, Chien TY, Chan CH, Tsao SP, et al. Antiobesity effect of Lactobacillus reuteri 263 associated with energy metabolism remodeling of white adipose tissue in high-energy-diet-fed rats. *J Nutr Biochem.* 2018; 54: 87-94. doi: 10.1016/j.jnutbio.2017.11.004

45. Liu J, Li Y, Yang P, Wan J, Chang Q, Wang TTY, et al. Gypenosides reduced the risk of overweight and insulin resistance in C57BL/6J mice through modulating adipose thermogenesis and gut microbiota. *J Agric Food Chem.* 2017; 65(42): 9237-9246. doi: 10.1021/acs.jafc.7b03382

46. Vargas-Castillo A, Fuentes-Romero R, Rodriguez-Lopez LA, Torres N, Tovar AR. Understanding the biology of thermogenic fat: Is browning a new approach to the treatment of obesity? *Arch Med Res.* 2017; 48(5): 401-413. doi: 10.1016/j.arcmed.2017.10.002

47. Trayhurn P. Recruiting brown adipose tissue in human obesity. *Diabetes.* 2016; 65(5): 1158-1160. doi: 10.2337/dbi16-0002

48. Trayhurn P. Brown adipose tissue – a therapeutic target in obesity? *Front Physiol.* 2018; 9: 1672. doi: 10.3389/fphys.2018.01672

49. Choksi YA, Reddy VK, Singh K, Barrett CW, Short SP, Parang B, et al. BVES is required for maintenance of colonic epithelial integrity in experimental colitis by modifying intestinal permeability. *Mucosal Immunology.* 2018; 11(5): 1363-1374. doi: 10.1038/s41385-018-0043-2

50. Gérard C, Vidal H. Impact of gut microbiota on host glycemic control. *Front Endocrinol.* 2019; 10: 29. doi: 10.3389/fendo.2019.00029

51. Brunkwall L, Orho-Melander M. The gut microbiome as a target for prevention and treatment of hyperglycaemia in type 2 diabetes: From current human evidence to future possibilities. *Diabetologia.* 2017; 60(6): 943-951. doi: 10.1007/s00125-017-4278-3

52. Mahboobi S, Rahimi F, Jafarnejad S. Effects of prebiotic and synbiotic supplementation on glycaemia and lipid profile in type 2 diabetes: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Adv Pharm Bull.* 2018; 8(4): 565-574. doi: 10.15171/apb.2018.065

53. Mahboobi S, Iraj B, Maghsoudi Z, Feizi A, Ghiasvand R, Askari G, et al. The effects of probiotic supplementation on markers of blood lipids, and blood pressure in patients with prediabetes: a randomized clinical trial. *Int J Prev Med.* 2014; 5(10): 1239-1246.

54. Bonder MJ, Kurilshikov A, Tigchelaar EF, Mujagic Z, Imhann F, Vila AV, et al. The effect of host genetics on the gut microbiome. *Nat Gen.* 2016; 48(11): 1407-1412. doi: 10.1038/ng.3663

55. Petersen LM, Bautista EJ, Nguyen H, Hanson BM, Chen L, Lek SH, et al. Community characteristics of the gut microbiomes

of competitive cyclists. *Microbiome*. 2017; 5: 98. doi: 10.1186/s40168-017-0320-4

REFERENCES

1. Dedov II, Shestakova MV, Mayorov AY. *Algorithms of specialized medical care for patients with diabetes mellitus*. 9th edition. Moscow; 2019. doi: 10.14341/DM22151. (In Russ.)
2. Shemyakina NA, Namokonov EV, Darenskaya MA, Kolesnikov SI, Kolesnikova LI. Advanced glycation end products and glutathione status in patients with type 2 diabetes mellitus and macroangiopathy of the lower limbs. *Free Radic Biol Med*. 2018; 120(S1): S60-S61. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.04.200
3. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Gnusina SV, Kolesnikov SI. Oxidative stress in type 1 diabetes mellitus: Ethnic aspects. In: Rizwan Ahmad (ed.). *Free Radicals, Antioxidants and Diseases*. Rijeka: Intech Open; 2018: 65-72. doi: 10.5772/intechopen.76512
4. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Semenova NV, Grebenkina LA, Suturina LV, Dolgikh MI, et al. Lipid peroxidation and antioxidant protection in girls with type 1 diabetes mellitus during reproductive system development. *Medicina*. 2015; 51(2): 107-111. doi: 10.1016/j.medici.2015.01.009
5. Darenskaya MA, Kolesnikov SI, Rychkova LV, Grebenkina LA, Kolesnikova LI. Oxidative stress and antioxidant defense parameters in different diseases: Ethnic aspects. *Free Radic Biol Med*. 2018; 120(S1): S60. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.04.199
6. Kolesnikova LI, Kolesnikov SI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Semenova NV, Osipova EV, et al. Lipid status and predisposing genes in patients with diabetes mellitus type 1 from various ethnic groups. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2015; 160: 278-280. doi: 10.1007/s10517-015-3149-5
7. Dedov II, Kolesnikova LI, Bardymova TP, Prokofiev SA, Ivanova ON, Gnusina SV. Ethnic features of diabetes mellitus in the peoples of the Baikal region. *Bulletin of the Siberian branch of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2008; 28(1): 16-20. (In Russ.)
8. Boulangé CL, Neves AL, Chilloux J, Nicholson JK, Dumas ME. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Med*. 2016; 8(1): 42. doi: 10.1186/s13073-016-0303-2
9. Galland L. The gut microbiome and the brain. *J Med Food*. 2014; 17(12): 1261-1272. doi: 10.1089/jmf.2014.7000
10. Dzugoeva FK, Yegshatyan LV. Intestinal microbiota and type 2 diabetes mellitus. *Endocrinology: news, opinions, training*. 2018; 7(3): 55-63. doi: 10.24411/2304-9529-2018-13005. (In Russ.)
11. Siezen RJ, Kleerebezem M. The human gut microbiome: Are we our enterotypes? *Microb Biotechnol*. 2011; 4(5): 550-553. doi: 10.1111/j.1751-7915.2011.00290.x
12. Giongo A, Gano KA, Crabb DB, Mukherjee N, Novelo LL, Casella G, et al. Toward defining the autoimmune microbiome for type 1 diabetes. *ISME J*. 2011; 5(1): 82-91. doi: 10.1038/ismej.2010.92
13. De Goffau MC, Fuentes S, van den Bogert B, Honkanen H, de Vos WM, Welling GW, et al. Aberrant gut microbiota composition at the onset of type 1 diabetes in young children. *Diabetologia*. 2014; 57(8): 1569-1577. doi: 10.1007/s00125-014-3274-0
14. de Goffau MC, Luopajarvi K, Knip M, Ilonen J, Ruotula T, Harkonen T, et al. Fecal microbiota composition differs between children with beta-cell autoimmunity and those without. *Diabetes*. 2013; 62(4): 1238-1244. doi: 10.2337/db12-0526
15. Ye Z, Zhang N, Wu C, Zhang X, Wang Q, Huang X, et al. A metagenomic study of the gut microbiome in Behcet's disease. *Microbiome*. 2018; 6(1): 135. doi: 10.1186/s40168-018-0520-6
16. Zimmerman MA, Singh N, Martin PM, Thangaraju M, Ganapathy V, Waller JL, et al. Butyrate suppresses colonic inflammation through HDAC1-dependent Fas upregulation and Fas-mediated apoptosis of T cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2012; 302(12): G1405-G1415. doi: 10.1152/ajpgi.00543.2011
17. Glden E, Wong FS, Wen L. The gut microbiota and type 1 diabetes. *Clin Immunol*. 2015; 159(2): 143-153. doi: 10.1016/j.clim.2015.05.013

18. Lee AS, Gibson DL, Zhang Y, Sham HP, Vallance BA, Dutz JP. Gut barrier disruption by an enteric bacterial pathogen accelerates insulinitis in NOD mice. *Diabetologia*. 2010; 53(4): 741-748. doi: 10.1007/s00125-009-1626-y
19. Wen L, Ley RE, Volchkov PY, Stranges PB, Avanesyan L, Stonebraker AC, et al. Innate immunity and intestinal microbiota in the development of type 1 diabetes. *Nature*. 2008; 455(7216): 1109-1113. doi: 10.1038/nature07336
20. Mc Ardle MA, Finucane OM, Connaughton RM, Mc Morrow AM, Roche HM. Mechanisms of obesity-induced inflammation and insulin resistance: insights into the emerging role of nutritional strategies. *Front Endocrinol*. 2013; 4: 52. doi: 10.3389/fendo.2013.00052
21. Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2009; 9(5): 313-323. doi: 10.1038/nri2515
22. Ejtahed HS, Mohtadi-Nia J, Homayouni-Rad A, Niafar M, Asghari-Jafarabadi M, Mofid V. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. *Nutrition*. 2012; 28(5): 539-543. doi: 10.1016/j.nut.2011.08.013
23. Ooi LG, Liong MT. Cholesterol-lowering effects of probiotics and prebiotics: A review of in vivo and in vitro findings. *Int J Mol Sci*. 2010; 11(6): 2499-2522. doi: 10.3390/ijms11062499
24. Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, Huang Y, da Rocha Fernandes JD, Ohlrogge AW, et al. IDF diabetes atlas: global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract*. 2018; 138: 271-281. doi: 10.1016/j.diabres.2018.02.023
25. Dedov II, Kolesnikova LI, Bardymova TP, Prokofiev SA, Ivanova ON. Clinical, genetic and metabolic features of diabetes mellitus in patients of the Buryat population. *Diabetes Mellitus*. 2006; (3): 2-5. (In Russ.)
26. Ussar S, Fujisaka S, Kahn CR. Interactions between host genetics and gut microbiome in diabetes and metabolic syndrome. *Mol Metab*. 2016; 5(9): 795-803. doi: 10.1016/j.molmet.2016.07.004
27. Belkova NL, Nemchenko UM, Pogodina AV, Romanitsa AI, Novikova EA, Rychkova LV, et al. Composition and structure of gut microbiome in adolescents with obesity and different breastfeeding duration. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019; 167(6): 759-762. doi: 10.1007/s10517-019-04617-7
28. Cotillard A, Kennedy SP, Kong LC, Prifti E, Pons N, Le Chatelier E, et al. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature*. 2013; 500: 585-588. doi: 10.1038/nature12480
29. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 2013; 500(7464): 541-546. doi: 10.1038/nature12506
30. Karlsson F, Tremaroli V, Nielsen J, Bäckhed F. Assessing the human gut microbiota in metabolic diseases. *Diabetes*. 2013; 62(10): 3341-3349. doi: 10.2337/db13-0844
31. Allin KH, Tremaroli V, Caesar R, Jensen BAH, Damgaard MTF, Bahl MI, et al. Aberrant intestinal microbiota in individuals with prediabetes. *Diabetologia*. 2018; 61(4): 810-820. doi: 10.1007/s00125-018-4550-1
32. Faerch K, Torekov SS, Vistisen D, Johansen NB, Witte DR, Jonsson A, et al. GLP-1 response to oral glucose is reduced in prediabetes, screen-detected type 2 diabetes, and obesity and influenced by sex: The ADDITION-PRO study. *Diabetes*. 2015; 64: 2513-2525. doi: 10.2337/db14-1751
33. Pichette J, Fynn-Sackey N, Gagnon J. Hydrogen sulfide and sulfate prebiotic stimulates the secretion of GLP-1 and improves glycemia in male mice. *Endocrinology*. 2017; 158(10): 3416-3425. doi: 10.1210/en.2017-00391
34. Wang G, Li X, Zhao J, Zhang H, Chen W. Lactobacillus casei CCFM419 attenuates type 2 diabetes via a gut microbiota dependent mechanism. *Food Funct*. 2017; 8(9): 3155-3164. doi: 10.1039/C7FO00593H
35. Macfarlane GT, Macfarlane S. Bacteria, colonic fermentation, and gastrointestinal health. *J AOAC Int*. 2012; 95(1): 50-60. doi: 10.5740/jaoacint.sge_macfarlane

36. Puddu A, Sanguineti R, Montecucco F, Viviani GL. Evidence for the gut microbiota short-chain fatty acids as key pathophysiological molecules improving diabetes. *Mediators Inflamm.* 2014; 2014: 162021. doi: 10.1155/2014/162021
37. Wang S, Li Q, Zang Y, Zhao Y, Liu N, Wang Y, et al. Apple polysaccharide inhibits microbial dysbiosis and chronic inflammation and modulates gut permeability in HFD-fed rats. *Int J Biol Macromol.* 2017; 99: 282-292. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.02.074
38. Zhao L, Zhang F, Ding X, Wu G, Lam YY, Wang X, et al. Gut bacteria selectively promoted by dietary fibers alleviate type 2 diabetes. *Science.* 2018; 359(6380): 1151-1156. doi: 10.1126/science.aao5774
39. van der Beek CM, Canfora EE, Kip AM, Gorissen SHM, OldeDamink SWM, van Eijk HM, et al. The prebiotic inulin improves substrate metabolism and promotes short-chain fatty acid production in overweight to obese men. *Metabolism.* 2018; 87: 25-35. doi: 10.1016/j.metabol.2018.06.009
40. Torres S, Fabersani E, Marquez A, Gauffin-Cano P. Adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. The proactive role of probiotics. *Eur J Nutr.* 2019; 58(1): 27-43. doi: 10.1007/s00394-018-1790-2
41. Gérard C, Brown KA. Obesity and breast cancer – Role of estrogens and the molecular underpinnings of aromatase regulation in breast adipose tissue. *Mol Cell Endocrinol.* 2018; 466: 15-30. doi: 10.1016/j.mce.2017.09.014
42. Lee YS, Park MS, Choung JS, Kim SS, Oh HH, Choi CS, et al. Glucagon-like peptide-1 inhibits adipose tissue macrophage infiltration and inflammation in an obese mouse model of diabetes. *Diabetologia.* 2012; 55(9): 2456-2468. doi: 10.1007/s00125-012-2592-3
43. Balakumar M, Prabhu D, Sathishkumar C, Prabu P, Rokana N, Kumar R, et al. Improvement in glucose tolerance and insulin sensitivity by probiotic strains of Indian gut origin in high-fat diet-fed C57BL/6J mice. *Eur J Nutr.* 2018; 57(1): 279-295. doi: 10.1007/s00394-016-1317-7
44. Chen LH, Chen YH, Cheng KC, Chien TY, Chan CH, Tsao SP, et al. Antiobesity effect of *Lactobacillus reuteri* 263 associated with energy metabolism remodeling of white adipose tissue in high-energy-diet-fed rats. *J Nutr Biochem.* 2018; 54: 87-94. doi: 10.1016/j.jnutbio.2017.11.004
45. Liu J, Li Y, Yang P, Wan J, Chang Q, Wang TTY, et al. Gypenosides reduced the risk of overweight and insulin resistance in C57BL/6J mice through modulating adipose thermogenesis and gut microbiota. *J Agric Food Chem.* 2017; 65(42): 9237-9246. doi: 10.1021/acs.jafc.7b03382
46. Vargas-Castillo A, Fuentes-Romero R, Rodriguez-Lopez LA, Torres N, Tovar AR. Understanding the biology of thermogenic fat: Is browning a new approach to the treatment of obesity? *Arch Med Res.* 2017; 48(5): 401-413. doi: 10.1016/j.arcmed.2017.10.002
47. Trayhurn P. Recruiting brown adipose tissue in human obesity. *Diabetes.* 2016; 65(5): 1158-1160. doi: 10.2337/dbi16-0002
48. Trayhurn P. Brown adipose tissue – a therapeutic target in obesity? *Front Physiol.* 2018; 9: 1672. doi: 10.3389/fphys.2018.01672
49. Choksi YA, Reddy VK, Singh K, Barrett CW, Short SP, Parang B, et al. BVES is required for maintenance of colonic epithelial integrity in experimental colitis by modifying intestinal permeability. *Mucosal Immunology.* 2018; 11(5): 1363-1374. doi: 10.1038/s41385-018-0043-2
50. Gérard C, Vidal H. Impact of gut microbiota on host glycemic control. *Front Endocrinol.* 2019; 10: 29. doi: 10.3389/fendo.2019.00029
51. Brunkwall L, Orho-Melander M. The gut microbiome as a target for prevention and treatment of hyperglycaemia in type 2 diabetes: From current human evidence to future possibilities. *Diabetologia.* 2017; 60(6): 943-951. doi: 10.1007/s00125-017-4278-3
52. Mahboobi S, Rahimi F, Jafarnejad S. Effects of prebiotic and synbiotic supplementation on glycaemia and lipid profile in type 2 diabetes: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Adv Pharm Bull.* 2018; 8(4): 565-574. doi: 10.15171/apb.2018.065
53. Mahboobi S, Iraj B, Maghsoudi Z, Feizi A, Ghiasvand R, Askari G, et al. The effects of probiotic supplementation on markers of blood lipids, and blood pressure in patients with prediabetes: a randomized clinical trial. *Int J Prev Med.* 2014; 5(10): 1239-1246.
54. Bonder MJ, Kurilshikov A, Tigchelaar EF, Mujagic Z, Imhann F, Vila AV, et al. The effect of host genetics on the gut microbiome. *Nat Gen.* 2016; 48(11): 1407-1412. doi: 10.1038/ng.3663
55. Petersen LM, Bautista EJ, Nguyen H, Hanson BM, Chen L, Lek SH, et al. Community characteristics of the gut microbiomes of competitive cyclists. *Microbiome.* 2017; 5: 98. doi: 10.1186/s40168-017-0320-4

Сведения об авторах

Чугунова Елена Владимировна – аспирант, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: e.v_chugunova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2546-6320>

Даренская Марина Александровна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», <http://orcid.org/0000-0003-3255-2013>

Information about the authors

Elena V. Chugunova – Postgraduate, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: e.v_chugunova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2546-6320>

Marina A. Darenskaya – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, <http://orcid.org/0000-0003-3255-2013>

Статья получена: 10.06.2020. Статья принята: 03.12.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 10.06.2020. Accepted: 03.12.2020. Published: 26.12.2020.

ГЕНЕТИКА, ПРОТЕОМИКА И МЕТАБОЛОМИКА GENETICS, PROTEOMICS AND METABOLOMICS

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.7

Ассоциации полиморфизмов гена интерлейкина-10 с язвенным колитом

Жилин И.В.¹, Чашкова Е.Ю.¹, Жилина А.А.², Марковский А.В.², Ким А.Д.¹

¹ ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия);

² ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России (672000, г. Чита, ул. Горького, 39А, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Жилин Иван Валерьевич, e-mail: zhivoj1113@yandex.ru

Резюме

Представленный обзор литературы посвящён изучению роли полиморфных вариантов гена противовоспалительного интерлейкина-10 (Interleukin-10, IL-10) в этиологии и патогенезе язвенного колита у пациентов различных этнических групп.

Цель. Обобщить результаты, полученные из электронных баз данных, по изучению особенностей течения язвенного колита у пациентов разных этнических групп с учётом носительства полиморфизмов гена IL10. **Материалы и методы.** Выбрано 25 исследований, в том числе 4 метаанализа, посвящённых изучению ассоциативных связей однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphism, SNP) гена IL10, выделенного из образцов крови, в позициях -592AA/CA, -819CT, -1082AA/GA и rs3024505 в развитии и течении язвенного колита.

Результаты. Ряд исследователей из Европы, Саудовской Аравии сообщают о повышенной частоте встречаемости язвенного колита среди носителей SNP IL10-1082AA и низкой у носителей -592AA. Положительные ассоциации IL10-819CT с распространённостью язвенного колита представлены в единичных сообщениях из Европы, Ближнего Востока и в ряде исследований из Азиатских стран. Однако выявленные ассоциации даже в пределах одной популяции нередко носят противоречивый характер. Возможно, различия обусловлены этнической гетерогенностью групп в рассматриваемых когортах, в связи с чем необходимо продолжать эпидемиологические исследования с большим объёмом выборки в конкретных географических зонах.

Ключевые слова: полиморфизм гена IL10, этнические группы, язвенный колит, воспалительные заболевания кишечника

Для цитирования: Жилин И.В., Чашкова Е.Ю., Жилина А.А., Марковский А.В., Ким А.Д. Ассоциации полиморфизмов гена интерлейкина-10 с язвенным колитом. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 58-65. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.7.

Association of Interleukin-10 Gene Polymorphisms with Ulcerative Colitis

Zhilin I.V.¹, Chashkova E.Yu.¹, Zhilina A.A.², Markovskiy A.V.², Kim A.D.¹

¹ Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation);

² Chita State Medical Academy (Gorkogo str. 39A, Chita 672000, Russian Federation)

Corresponding author: Ivan V. Zhilin, e-mail: zhivoj1113@yandex.ru

Abstract

This literature review is devoted to the study of the role of polymorphic variants of the anti-inflammatory interleukin-10 gene (Interleukin-10, IL10) in the etiology and pathogenesis of ulcerative colitis in patients of various ethnic groups.

Aim. To generalize the results obtained from electronic databases on the study of the characteristics of the course of ulcerative colitis in patients of different ethnic groups, taking into account the carriage of IL10 gene polymorphisms.

Materials and methods. Twenty-five studies were selected, including four meta-analyses devoted to the study of associative relationships of single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the IL10 gene isolated from blood samples at positions -592AA/CA, -819CT, -1082AA/GA, and rs3024505 in the development and course of ulcerative colitis.

Results. A number of researchers from Europe, Saudi Arabia report an increased incidence of ulcerative colitis among carriers of the IL10-1082AA SNP and a low incidence among carriers of -592AA. Positive associations of IL10-819CT with the prevalence of ulcerative colitis are presented in single reports from Europe, the Middle East and in a number of studies from Asian countries. However, the identified associations, even within the same population, are often contradictory. Perhaps the discrepancies are due to the ethnic heterogeneity of the groups in the considered cohorts, and therefore it is necessary to continue epidemiological studies with a large sample size in specific geographic areas.

Key words: IL10 gene polymorphism, ethnic groups, ulcerative colitis, inflammatory bowel diseases

For citation: Zhilin I.V., Chashkova E.Yu., Zhilina A.A., Markovskiy A.V., Kim A.D. Association of Interleukin-10 Gene Polymorphisms with Ulcerative Colitis. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 58-65. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.7.

ВВЕДЕНИЕ

Патогенетические пути язвенного колита (ЯК) представляют сложный комплекс иммуновоспалительных реакций, характеризующихся дисбалансом секреции и регуляции цитокинов, вовлечением комменсальной микрофлоры, повреждением эпителиального барьера, генетических и других, возможно ещё не выявленных факторов [1]. Достаточно большое количество исследований провоспалительных (фактор некроза опухоли альфа (TNF- α), интерлейкины (IL-1, IL-6, IL-9, IL-13, IL-33)) и противовоспалительных (TGF- β , IL-10, IL-37) цитокинов показало возможность использования их в качестве биомаркеров активности ряда системных иммуно-опосредованных заболеваний, в том числе и воспалительных заболеваний кишечника. Поэтому широко изучаются полиморфные варианты генов цитокинов, образующих сложные сети межгенных взаимодействий, как в качестве предикторов развития событий, так и в связи с фенотипическими, клиническими проявлениями болезни и ответа на проводимую таргетную терапию [2, 3]. Однако, несмотря на достигнутые знания, развитие генно-инженерной биологической терапии, создание синтетических «малых» молекул, в клинической практике нередко наблюдается их неэффективность. Danese S. (2012) отмечает, что из 20 новых разработанных препаратов, лишь 9 обладают ожидаемым эффектом и, соответственно, цитокины в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) играют неоднозначную роль в качестве мишени [4]. Одним из ключевых биологически активных веществ в патогенезе ЯК является интерлейкин-10, впервые описанный в 1989 г. Fiorentino et al., обладающий мощным противовоспалительным эффектом за счёт ингибирования синтеза провоспалительных цитокинов, таких как интерферон- γ , интерлейкин-2, интерлейкин-3 и TNF- α [5]. Человеческий ген *IL 10* расположен на 1-й хромосоме в позиции 1q31-q32, содержит четыре интрона и пять экзонов, выявлено большое количество его полиморфных вариантов. В промоторной области гена *IL 10* идентифицировали несколько полиморфизмов, таких как -1082AG (rs1800896), -829CT (rs1800871) и -592AC (rs1800872) [6] и было подтверждено, что SNP -1082G и -819C тесно связаны с темпом транскрипции и непосредственно влияют на уровень продукции и экспрессии *IL 10* [1], а гаплотипы ACC и ATA демонстрируют средний и низкий уровни транскрипции гена *IL 10* [7]. Считается, что генетические взаимодействия между различными локусами имеют первостепенное значение в развитии иммунных патологических состояний. Несколько опубликованных метаанализов показали, что полиморфизм промотора IL10-1082AG связан с восприимчивостью к некоторым аутоиммунным заболеваниям, таким как ревматоидный артрит, псориаз и системная красная волчанка [8–15]. В отдельных публикациях сообщается о том, что некоторые линии карцином толстой кишки, желудка продуцируют этот противовоспалительный цитокин; также изучается его роль в патогенезе септического шока, сердечно-сосудистой патологии, остеопороза на фоне сахарного диабета и ряде других заболеваний [16, 17]. Источниками синтеза многофункционального цитокина IL-10 являются некоторые подклассы дендритных клеток, почти все лейкоциты, включая стимулированные макрофаги, нейтрофилы, NK-клетки, В-клетки и CD8⁺-T-клетки, однако основными продуцентами являются

CD4⁺-T-клетки [17]. Например, транскрипционный фактор FoxP3(+), регуляторные CD4⁺-T-клетки (T-regs, тимус и периферические клетки) и FoxP3(-), регуляторные CD4⁺-T-клетки (Tr1-клетки) ослабляют T-клетки и Th17-клеточный ответ, в частности, через IL-10 [17, 18]. IL-10 циркулирует как димер, состоящий из двух плотно упакованных 178-аминокислотных белковых молекул. Свои эффекты IL-10 осуществляет через рецепторный комплекс, который экспрессируется на поверхности многих клеток [6]. Рецептор для IL-10 является высокоаффинным и имеет молекулярную массу 110 кДа. Точками приложения для IL-10 являются тучные клетки, В-лимфоциты, нейтрофилы, натуральные киллеры, моноциты/макрофаги, но главные цели для него представлены антиген-представляющими клетками и лимфоцитами [2, 18–20]. Исследования роли полиморфных вариантов гена *IL 10* и его рецепторов в прогнозе развития ЯК, фенотипических проявлений заболевания выявили интересные и противоречивые результаты, в частности, выявлена связь между низким уровнем секреции IL-10 и тяжёлым течением ЯК с дебютом заболевания в раннем возрасте [21]. Другие исследователи не нашли ассоциации между 1082AG полиморфизмом гена *IL 10* и язвенным колитом [22]. Противоречивые данные о роли полиморфных вариантов гена *IL 10* в клинических проявлениях язвенного колита, побудили нас подготовить настоящий обзор доступной литературы.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обобщить результаты, полученные из электронных баз данных, по изучению особенностей течения ЯК у пациентов разных этнических групп с учётом носительства полиморфизмов гена *IL 10*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Поиск литературы проведён с использованием электронных баз данных медицинской литературы (Cochrane Library databases, PubMed, NCI, Medline) по следующим ключевым словам: *IL 10 gene polymorphism, ethnic groups, genetic prognostic factors of ulcerative colitis*. В научной электронной библиотеке eLIBRARY.RU выполнен поиск русскоязычных публикаций по аналогичным запросам на русском языке. В обзор мы включали клинические исследования, систематические обзоры и метаанализы в формате полнотекстовых статей с оценкой полиморфных вариантов в гене *IL 10* относительно риска развития ВЗК и предоставлением данных по статистической обработке материала (отношения шансов (ОШ) и соответствующего 95% доверительного интервала (ДИ)). Публикации, посвящённые отдельным клиническим наблюдениям, отсутствие в дизайне контрольной группы служили для нас критериями исключения. Всего в обзор включено 25 исследований, из них 4 метаанализа, посвящённых изучению роли полиморфизма гена *IL 10* в этиологии и патогенезе ЯК. Особое внимание уделяли выборкам из определённых географических зон для выявления однородных этнических групп. В силу схожих звеньев патогенеза ЯК и болезни Крона (БК) в дизайн большинства отобранных нами публикаций включена часть исследований, которая посвящена изучению БК. В связи с этим для представления целостной структуры работ, включённых в обзор, мы также будем касаться и данных о БК.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Несмотря на большой объём публикаций, посвящённых непосредственно *IL10* и его роли в сложном механизме патогенеза воспалительных заболеваний кишечника, количество публикаций по изучению полиморфных вариантов гена *IL10* и их ассоциации с язвенным колитом несколько ограничено. В отечественной литературе мы нашли публикации Д.С. Сташкевич и соавт. [23, 24], изучавших частоту встречаемости аллелей гена *IL10*, комбинаций генотипов SNPs -1082GA, -819CT, -592CA у 115 пациентов русской популяции в Челябинской области (2015 г.). Этническую принадлежность в проведённых исследованиях авторы определяли по данным генеалогического анамнеза до третьего поколения (согласно рекомендациям VIII Международного симпозиума, Лос-Анджелес, США, 1980 г.). Оказалось, что гомозиготный генотип -592AA чаще встречался у здоровых людей контрольной группой ($n = 118$): 5,4 % против 0,9 % в группе с ЯК, $p = 0,08$. Частоты аллельных вариантов и генотипов -1082GA, -819CT, 819CC и -592CA не различались между исследуемыми группами и половой принадлежностью. В дальнейшем (2018 г.) авторы провели сравнительный анализ межгенных взаимодействий цитокинов IL-1 β , TNF- α , IL-1 γ , IL-10, IL-6 с использованием метода сокращения многофакторной размерности, у больных с синдромом раздражённого кишечника (СРК) ($n = 61$), у больных язвенным колитом ($n = 165$) и в группе контроля ($n = 66$), в результате которого, установленная четырёхлокусная модель *IL1 β (+3953)T/TNF α (-308)A/IL10(-1082)G/IL6(-174)G* оказалась статистически незначимой в качестве предикции для группы ЯК, относительно группы пациентов СРК ($p < 0,001$).

Интересно, что в группе женщин, больных СРК, снижена частота гетерозиготного генотипа CT-819, повышена частота гомозиготного генотипа CC и выявлена комбинация генотипов *IL10* CC-819-CA-592, носительство которой повышает вероятность развития СРК в русской популяции, проживающей в конкретном регионе.

По данным исследований, включающих пациентов украинской популяции ($n = 97$), оказалось, что SNP C-592-A *IL10* и аллели A и C (ОШ = 8,71) подавляют активность факторов, ограничивающих воспалительный ответ [25, 26]. Результаты изучения полиморфных вариантов дикого типа гена *IL10* (C-592-A, C-819-T, G-1082-A) у пациентов ВЗК однородной этнической украинской когорты ($n = 53$), представлены в 2017 г. Е.А. Кирьян [27]. В исследование также включены 49 здоровых лиц, 36 пациентов с полипами толстой кишки, 46 пациентов с СРК и 30 пациентов с колоректальным раком и наличием в анамнезе ВЗК, полипов и СРК. Оказалось, что SNP гена *IL10* -592AC (rs1800872) дикого типа в исследуемых группах встречался с одинаковой частотой. SNP *IL10* -1082AG (rs1800896) статистически значимо чаще наблюдали у пациентов с ВЗК (16 чел., 30,2 %, $p < 0,05$) и в группе с полипами толстой кишки (17 чел., 47,2 %, $p < 0,01$), относительно контрольной группы здоровых лиц. Частота SNP дикого типа гена *IL10* -829CT (rs1800871) выше, чем в контрольной группе здоровых лиц, у пациентов с СРК – 30 (65,2 %, $p < 0,05$); в остальных группах статистической значимости нет. У пациентов всех исследуемых групп были выявлены гетерозиготные SNP гена *IL10*. Гомозиготный *IL10* (C592A, C819T, G1082A) по обоим аллелям также определили во всех группах, кроме пациентов

с полипами толстой кишки. У пациентов контрольной группы здоровых лиц не выявили локус -829CT, в группе с колоректальным раком не выявили -592AC и -829CT. Отмечался статистически значимо более частый гомозиготный полиморфизм -1082A и G у пациентов с СРК ($p < 0,05$), что, возможно, по мнению автора, определяет взаимосвязь данных изменений с возникновением заболевания. С нашей точки зрения, уникальность представленных исследований российских и украинских авторов в том, что получены концептуально схожие результаты в однородных популяционных когортах, которые могут иметь практическое значение в персонализированном подходе к диагностике и лечению пациентов как с ВЗК, так и СРК с учётом выявленной модели в сети межгенных взаимодействий. Исследователи из Индии [28], в отличие от результатов генотипирования пациентов-славян, показали высокую ассоциацию генотипа -592AA с группой СРК ($n = 56$) и группой пациентов ЯК ($n = 36$), относительно здоровых пациентов группы контроля ($n = 16$). Но авторы не выявили значимости различий в группах по частоте распределения аллелей *IL10*-1082A/G, а также *IL10*-819C/T. Следует отметить, что это исследование проведено на небольшой выборке и не указана популяционная однородность изучаемых групп.

Mijac D., Petrovic I.V. и соавт. (2016 г.) представили результаты исследования G-1082A, C-819T и rs3024505 в сербской когорте пациентов с ВЗК (БК – $n = 107$; ЯК – $n = 99$), причём генотипы всех проанализированных SNP *IL10* находились в равновесии Харди – Вайнберга, но авторы исключили из анализа rs1800872 (C-592A), так как проведёнными ранее исследованиями Turner D.M. и соавт. (1997 г.) было показано, что C-819T и C-592A находятся в полном неравновесном состоянии связей у европеоидов, т. е. гаплотипы GCC, ACC и ATA присутствуют только в белой популяции людей [29]. Статистически значимая ассоциация выявлена между носительством полиморфизма *IL10* rs3024505 и БК, при этом T-аллель определён как потенциальный маркер восприимчивости к БК. Интересно, что в странах Западной Европы T-аллель rs3024505 статистически значимо ассоциирован как с ЯК, так и с БК, но в странах Восточной Европы такой связи не выявлено. Полиморфизмы в промоторной области гена *IL10* (G-1082A и C-819T) не были связаны с какой-либо формой ВЗК в изучаемой сербской когорте [29].

Диаметриально противоположные данные получили Tedde A. с соавт. (2008 г.), проанализировав результаты исследования пациентов с язвенным колитом итальянской когорты ($n = 203$) и 391 человека группы сравнения. Оказалось, что частота аллеля -1082A была статистически значимо выше у пациентов, чем в контроле ($p = 0,00003$), частота аллеля -1082G находится в низкой ассоциации с ЯК ($p < 0,001$); частоты генотипа -1082 также статистически значимо различались между пациентами с ЯК и контролем ($p = 0,0001$). Частоты аллелей и генотипов -819 TC/C статистически значимо не ассоциировались с ЯК. Частоты гаплотипов -1082A/-819C и -1082A/-819T имели более низкую промоторную активность и были статистически значимо выше у пациентов с ЯК ($p = 0,0004$). Авторы обнаружили гендерную разницу в частотах аллеля -1082A ($p = 0,00004$) и генотипа ($p = 0,0002$) только между пациентками с ЯК и контрольной группой; такой же результат был получен для гаплотипов -1082A/-819C и -1082A/-819T ($p = 0,0006$). Авторы заключают, что жен-

щины с генотипами AG/AA IL10 и AC/AT имеют более высокий риск развития ЯК в более молодом возрасте. Это открытие авторы объяснили более низкой продукцией IL10, связанной с аллелем -1082A, и понижающим регулирующим действием эстрогенов на IL10 [30]. Ещё одно исследование итальянской когорты M. Girardelli и соавт. (2018 г.), основанное на многофакторном анализе и прогнозировании методом «in silico», секвенированных 94 вариантов генов, доказано ассоциированных с развитием ВЗК, не выявило прогностического влияния генов NOD2, IL10(-1082A) и IL10RB на ранний или очень ранний дебют ВЗК [31].

В систематическом обзоре, проведённом группой венгерских авторов в 2014 г. [32], представлен анализ 130 публикаций, посвящённых ассоциативным связям интерлейкинов и их полиморфизмов с воспалительными заболеваниями кишечника с глубиной поиска в 10 лет. В исследованиях полногеномных ассоциаций rs3024505 ген IL10 показал наиболее значимую ассоциацию в комбинированных проверочных выборках ЯК, а с БК – слабой. Подобные результаты представлены в крупномасштабном исследовании 440 794 SNP локусов восприимчивости к ЯК в большой выборке из 1167 пациентов из английской, немецкой, бельгийской и нидерландской когорт пациентов и 777 здоровых людей группы контроля [33]. Спустя несколько лет, в исследовании 1652 пациентов с ЯК из Австралии и Новой Зеландии (контрольная группа здоровых лиц составила 2363 чел.), из 29 однонуклеотидных полиморфизмов с доказанной генетической predisposition к БК 28 не были связаны с ЯК, высокую ассоциацию показал только rs3024505. Это доказывает низкий уровень перекрытия между двумя основными формами ВЗК для изучаемых SNP [34].

В исследовании белой когорты из мадридского региона [35] генотипировали 242 испанских пациентов с язвенным колитом и 228 пациентов с болезнью Крона, а также этнически подобранную группу контроля (572 здоровых субъекта). Впервые в испанской популяции выявили ассоциативные связи между БК и двумя аллелями: IL10G14 микросателлитным аллелем и -1082G аллелем в промоторной области гена IL10, их совместное присутствие увеличивает риск развития БК подвздошной и толстой кишки ($p = 0,00006$, ОШ = 3,18). Более слабый эффект наблюдали у пациентов с распространённым ЯК. Следует отметить, что существование в промоторе гена IL10 двух независимых факторов восприимчивости может объяснить полученные ранее отрицательные результаты в ассоциативных связях с развитием ВЗК, поскольку отсутствуют данные по их одновременному изучению.

В другом испанском исследовании [36] (99 пациентов с ЯК и 146 с БК, группа сравнения – 343 здоровых добровольца) выявили повышенную частоту встречаемости стероидозависимых форм ВЗК среди пациентов с полиморфизмом IL10-1082AA ($p < 0,0001$; ЯК – $p = 0,004$; БК – $p = 0,003$). Выявлены ассоциации данной генетической вариации с пенетрирующим типом БК ($p = 0,010$), а также с её внекишечными проявлениями в форме артрита ($p = 0,011$). Однако в ранее проведённом исследовании неоднородной испанской когорты пациентов [37] с аналогичным дизайном, ассоциации нуклеотидов гена IL10 -1082A/A (rs1800896), -592A/C (rs1800872), -819C/T (rs1800871) с ВЗК не обнаружено.

В 2013 г. H. Zhu и соавт. представили результаты мета-анализа, в который вошли исследования в период с 1999 по 2012 г., включающие базы данных генотипирования 7704 пациентов с ВЗК и 9881 человека группы контроля и оценивающие связь между полиморфизмом -1082A/G в гене IL10 и риском развития ВЗК. Два исследования были представлены азиатской когортой (307 пациентов и 405 здоровых лиц), остальные 7397 пациентов – когорты европеоидов. Проведённый анализ выявил повышенный на 28 % риск развития болезни Крона у людей с гетерозиготным генотипом GA IL10 (ОШ = 1,28, 95 % ДИ: 1,05–1,55) и на 22 % (ОШ = 1,22, 95 % ДИ: 1,02–1,46) – у носителей аллеля G. Стратифицированные по этническому признаку значимые ассоциации обнаружили у европейской когорты пациентов: GG + GA по сравнению с AA (ОШ = 1,23, 95 % ДИ: 1,02–1,48, $p = 0,034$); GA по сравнению с AA (ОШ = 1,29, 95 % ДИ: 1,04–1,59, $p = 0,018$). При этом значимой ассоциации в азиатской популяции не нашли [22]. По данным другого метаанализа, изучавшего носительство полиморфизма -819C/T гена IL10 и риски возникновения ВЗК, опубликованного в 2016 г. [38] и включающего 1890 пациентов и 2929 человек группы контроля, оказалось, что полиморфизм -819C/T гена IL10 может быть связан с восприимчивостью к БК как в европеоидной, так и в азиатской когорте. Как в общем статистическом анализе, так и в анализе этнических подгрупп не было выявлено связи IL10-819C/T и ВЗК. Но в анализе подгрупп ЯК и БК значимую ассоциацию выявили в подгруппе БК: -819CT против -819CC (ОШ = 0,68, 95 % ДИ: 0,48–0,97). Несмотря на качественно проведённый анализ в относительно однородных когортах, азиатская группа представлена небольшой выборкой – 153 пациента и 207 человек группы контроля; авторы считают, что существует необходимость широкомасштабного исследования азиатской популяции. Противоположные результаты выявил метаанализ H. Lv, Y. Jiang и соавт. [39], проведённый в 2014 г., где продемонстрирована взаимосвязь -819C/T с риском развития ВЗК (ОШ = 1,093, 95 % ДИ: 1,004–1,190) у представителей европейской когорты, а также ассоциации БК с полиморфизмами -819C/T (С против Т: ОШ = 1,104, 95 % ДИ: 1,010–1,206; СС + СТ против ТТ: ОШ = 1,328, 95 % ДИ: 1,006–1,754; СС против ТТ: ОШ = 1,339, 95 % ДИ: 1,008–1,778) и ЯК (СС против СТ + ТТ: ОШ = 1,188, 95 % ДИ: 1,019–1,385). Кроме того, не было обнаружено значимой связи между полиморфизмом -592C/A и ВЗК, а также БК или ЯК, но чётко определена связь полиморфизмов IL10 -1082G/A и риском развития ВЗК. В ранее исследованиях корейской популяции, проведённых T.H. Kim [40], различий частот полиморфизмов в промоторной области IL10 между больными ЯК ($n = 91$) и группой контроля ($n = 200$) не выявлено. Также не обнаружено статистически значимых различий в частоте встречаемости IL10-1082GA у пациентов турецкой когорты (120 пациентов с ЯК, 70 – с БК) и контрольной группы ($n = 105$) [41]. Спустя 8 лет после этой публикации, ещё одно исследование группы этнических турков (51 чел. с ЯК, 18 чел. с БК и 100 здоровых лиц), проживающих в Черноморском регионе Северной Турции [42], не выявило различий в частоте встречаемости IL10-1082GA в этих группах, но была обнаружена статистически значимая разница в снижении частоты полиморфизмов гена IL10 -819A и -819C в группе контроля, относительно групп БК и ЯК соответственно. В этнически однородной

когорте пациентов из Саудовской Аравии (84 чел. с ЯК, 95 чел. с БК и 200 здоровых лиц) [43] выявлено значительное повышение частоты генотипа IL10-1082GG ($p = 0,02$) у пациентов с ВЗК (15,08 %) по сравнению с представителями контрольной группы (7,50 %). Гомозиготный вариант IL10-AA встречался значительно реже ($p = 0,02$) у пациентов с ВЗК (9,50 %) по сравнению с контролем (17,50 %). Так же, как и в исследовании турецкой популяции, гетерозиготный вариант IL10-1082G/A с одинаковой частотой встречался и у пациентов, и у группы сравнения ($p = 0,99$). При стратификации по нозологическим группам ВЗК, обнаружено, что генотип -GG чаще встречался среди пациентов с БК, в то время как частота генотипа AA была значительно ниже по сравнению с контролем. Статистически значимых различий в частотах аллелей и генотипов между группой ЯК и группой контроля не было. Частота IL10-819CC составляла 33,52 % у пациентов с ВЗК по сравнению с 41,50 % в группе сравнения, в то время как СТ составлял 38,12 % у пациентов с ВЗК по сравнению с 48,50 % в контроле. Не выявлено различий в частоте встречаемости гомозиготного генотипа TT среди пациентов с ВЗК и у здоровых лиц (10,61 против 10,0 %). Встречаемость IL10-819C/T не различалась среди исследуемых групп. В иранской когорте пациентов и здоровых лиц, проведённых N. Ebrahimi Daryani и соавт. (140 здоровых лиц, 40 пациентов с БК и 35 – с ЯК), ни аллели, ни частоты генотипов полиморфизмов IL10 (-1082A/G, -592A/C, -819T/C) не были связаны с ВЗК [44].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Неуклонный рост воспалительных заболеваний кишечника во всём мире, затрагивающий социально активных людей молодого детородного возраста, диктует необходимость медикаментозного персонифицированного контроля за течением и развитием заболевания с применением новейших научных разработок. На сегодняшний день подтверждено более 163 полиморфизмов генов восприимчивости к ВЗК. Роль противовоспалительного интерлейкина-10, как показывают данные генетических исследований, весьма неоднозначна и различна в ассоциативных связях при болезни Крона и язвенном колите. Результаты этих исследований отличаются внутри европеоидной когорты стран Западной и Восточной Европы, стран Ближнего Востока и Азии, Африканского континента, что подтверждает реализацию генетической информации с учётом этнической принадлежности и длительного проживания популяционной когорты в одной географической зоны. По данным большинства исследований, результаты генотипирования для IL10-1082G/A полиморфизма показали, что генотип -1082GG и аллель G восприимчивы к ВЗК; генотип AA и аллель A резистентны к ВЗК; в ряде исследований (когорты пациентов Ближнего Востока, Мексики, Западной Европы, Индии, Англии) эти показатели характерны для БК.

Тем не менее, в некоторых исследованиях сообщалось об отсутствии статистически значимых различий в частотах аллелей и генотипов полиморфизма IL10-1082G/A между пациентами с ВЗК и контрольной группой в различных популяциях других регионов даже в пределах одной географической зоны, в частности, IL10-1082G/A полиморфизм не связан с предрасположенностью к ВЗК в немецкой, латино-испанской и турецких когортах. Также обнаружили восприимчивость женского пола и молодого

возраста с генотипами AG/AA IL10-1082G/A к язвенному колиту в европейской популяции. Носительство генотипа -1082AA является релевантным фактором риска развития стероидозависимого ВЗК. Существует мнение, что люди, генетически предрасположенные к выработке меньшего количества IL10, подвергаются более высокому риску развития ВЗК, а частота высокого уровня IL10 аллель продуцента (-1082G) снижен во всей группе ВЗК и у больных ЯК по сравнению с нормой. Два других полиморфизма гена IL10 (-819C/T и -592C/A), по данным большинства исследователей, не связаны предрасположенностью к ВЗК, поскольку частотное распределение генотипов и аллелей этих двух полиморфизмов статистически значимо не различалось. Точный механизм, с помощью которого IL10 влияет на восприимчивость и патогенез ВЗК, окончательно не ясен, воспаление кишечника при ВЗК контролируется сложным взаимодействием врождённых и адаптивных иммунных механизмов и нуждается в дальнейшем изучении.

Конфликт интересов

Представленный обзор не имеет спонсорской поддержки. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Авторы заявляют об отсутствии финансовой заинтересованности и конфликтов интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tatiya-Aphiradee N, Chatuphonprasert W, Jarukamjorn K. Immune response and inflammatory pathway of ulcerative colitis. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2018; 30(1): 1-10. doi: 10.1515/jbcp-2018-0036
2. Kany S, Vollrath JT, Relja B. Cytokines in inflammatory disease. *Int J Mol Sci*. 2019; 20: 6008. doi: 10.3390/ijms 20236008
3. Hernández-Rocha C, Ibáñez P, Molina ME, Klaassen J, Valenzuela A, Candia R, et al. Management of severe ulcerative colitis: An up-to-date. *Rev Med Chil*. 2017; 145(1): 75-84. doi: 10.4067/S0034-98872017000100013
4. Danese S. New therapies for inflammatory bowel disease: from the bench to the bedside. *Gut*. 2012; 61: 918-932.
5. Kim JW, Hwang SW, Park SH, Song TJ, Kim MH, Lee HS, et al. Clinical course of ulcerative colitis patients who develop acute pancreatitis. *World J Gastroenterol*. 2017; 23(19): 3505-3512. doi: 10.3748/wjg.v23.i19.3505
6. Серебренникова С.Н., Семинский И.Ж., Семенов Н.В., Гузовская Е.В. Интерлейкин-1, интерлейкин-10 в регуляции воспалительного процесса. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2012; 115(8): 5-7.
7. Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott PJ, Hutchinson IV. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet*. 1997; 24: 1-8. doi: 10.1111/j.1365-2370.1997.tb00001
8. Walter MR. The molecular basis of IL-10 function: from receptor structure to the onset of signaling. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2014; 380: 191-212. doi: 10.1007/978-3-662-43492-5
9. Llopiz D, Ruiz M, Silva L, Sarobe P. Enhancement of anti-tumor vaccination by targeting dendritic cell-related IL-10. *Front Immunol*. 2018; 9: 1923. doi: 10.3389/fimmu.2018.01923
10. Diaz Orea MA, Muñoz Perez V, Gómez Conde E, Castellanos Sánchez VO, Gonzalez Lopez R, Flores Alonso JC, et al. Expression of cytokines interleukin-2, interleukin-4, interleukin-10 and transforming growth factor β in gastric adenocarcinoma biopsies obtained from Mexican patients. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2017; 18(2): 577-582. doi: 10.22034/APJCP.2017.18.2.577
11. Tian S, Yan Y, Qi X, Li X, Li Z. Treatment of type II collagen-induced rat rheumatoid arthritis model by interleukin 10 (IL10)-

mesenchymal stem cells (BMSCs). *Med Sci Monit.* 2019; 25: 2923-2934. doi: 10.12659/MSM.911184

12. Georgescu SR, Tampa M, Caruntu C, Sarbu M, Mitran C, Mitran M, et al. Advances in understanding the immunological pathways in psoriasis. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(3): E739. doi: 10.3390/ijms20030739

13. Sharma N, Toor D. Interleukin-10: Role in increasing susceptibility and pathogenesis of rheumatic fever/rheumatic heart disease. *Cytokine.* 2017; 90: 169-176. doi: 10.1016/j.cyt.2016.11.010

14. Dai W, Ye Z, Lu H, Su Q, Li H, Li L. Meta-analysis of the relationship between single nucleotide polymorphism of IL-10-1082G/A and rheumatic heart disease. *Oncotarget.* 2018; 9(15): 12343-12350. doi: 10.18632/oncotarget.23901

15. Mohammadi S, Saghaei Jazi M, Zare Ebrahimabad M, Eghbalpour F, Abdolahi N, Tabarraei A, et al. Interleukin 10 gene promoter polymorphisms (rs1800896, rs1800871 and rs1800872) and haplotypes are associated with the activity of systemic lupus erythematosus and IL10 levels in an Iranian population. *Int J Immunogenet.* 2019; 46(1): 20-30. doi: 10.1111/iji.12407

16. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol.* 2001; 19: 683-676.

17. Geginat J, Larghi P, Paroni M, Nizzoli G, Penatti A, Pagani M, et al. The light and the dark sides of Interleukin-10 in immune-mediated diseases and cancer. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2016; 30: 87-93.

18. Huber S, Gagliani N, Esplugues E, O'Connor W, Huber FJ, Chaudhry A, et al. Th17 cells express interleukin-10 receptor and are controlled by Foxp3- and Foxp3+ regulatory CD4+ T-cells in an interleukin-10-dependent manner. *Immunity.* 2011; 34: 554-565.

19. Батенева Е.И., Трофимов Д.Ю., Хаитов Р.М. и др. Использование количественной полимеразной цепной реакции для оценки цитокинового профиля человека. *Иммунология.* 2006; 27(1): 9-13.

20. Al-Robayan A, Arfin M, Saleh Al-Meghaseeb E, Al-Amro R, Al-Asmari AK. Inflammatory bowel disease: The association of inflammatory cytokine gene polymorphisms. *New Insights into Inflammatory Bowel Disease.* 2016; 21. doi: 10.5772/65380

21. Engelhardt KR, Grimbacher B. IL-10 in humans: Lessons from the gut, IL-10/IL-10 receptor deficiencies, and IL-10 polymorphisms. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2014; 380: 1-18. doi: 10.1007/978-3-662-43492-5

22. Zhu H, Lei X, Liu Q, Wang Y. Interleukin-10-1082A/G polymorphism and inflammatory bowel disease susceptibility: A meta-analysis based on 17,585 subjects. *Cytokine.* 2013; 61(1): 146-153. doi: 10.1016/j.cyt.2012.09.009

23. Сташкевич Д.С., Василенко А.Г., Иванова Е.Л. Полиморфизм гена IL-10 у больных неспецифическим язвенным колитом и синдромом раздражённого кишечника русской популяции Челябинской области. *Вестник ЧелГУ.* 2015; 21(376): 23-27.

24. Сташкевич Д.С., Беляева С.В., Филиппова Ю.Ю., Бурмистрова А.Л. Межгенные взаимодействия генов цитокинов IL1, IL1ra, IL6, IL10 и TNFa у больных синдромом раздражённого кишечника и неспецифическим язвенным колитом русской популяции Челябинской области. *Медицинская иммунология.* 2018; 6: 921-926.

25. Дорофеев А.Э., Вдовиченко В.И., Нагурна Я.В., Хальди Хатем, Дорофеева А.А. Сравнительная распространённость и особенности течения неспецифического язвенного колита в странах одного географического меридиана: Украина – Тунис. Проверка гипотезы «Север – Юг». *Гастроэнтерология.* 2019; 53(1): 34-38. doi: 10.22141/2308-2097.53.1.2019.163455

26. Dorofeyev AE, Kharchenko NV, Rudenko NN, et al. The peculiarities of genetic profile in patients with inflammatory bowel disease in Ukraine and strategy for their management. *Modern Gastroenterology.* 2017; (93): 22-29.

27. Кирьян Е.А. Особенности влияния генетических факторов на развитие кишечной патологии. Актуальн

проблеми сучасної медицини. *Вісник української медичної стоматологічної академії.* 2017; 4-2(60): 169-172.

28. Manish T, Pankaj K, Jitendra C, Artrika R, Neha G, Vinod D, et al. Assessment of allelic and genotypic distribution of IL-6 and IL-10 cytokine genes in ulcerative colitis. *Inflam Bowel Dis.* 2014;20(suppl 1): S99-S100.

29. Mijac D, Petrovic IV, Djuranovic S, Perovic V, et al. The polymorphism rs3024505 (C/T) downstream of the IL10 gene is associated with Crohn's disease in Serbian patients with inflammatory bowel disease. *Tohoku J Exp Med.* 2016; 240(1): 15-24.

30. Tedde A, Putignano LA, Bagnoli S, Congregati C, Milla M, Sorbi S, et al. Interleukin-10 promoter polymorphisms influence susceptibility to ulcerative colitis in a gender-specific manner. *Scand J Gastroenterol.* 2008; 43(6): 712-718.

31. Girardelli M, Basaldella F, Paolera SD, Vuch J, Tommasini A, Martelossi S, et al. Genetic profile of patients with early onset inflammatory bowel disease. *Gene.* 2018; 645: 18-29.

32. Magyari L, Kovacs E, Sarlos P, Javorhazy A, Sumegi K, Melegh B. Interleukin and interleukin receptor gene polymorphisms in inflammatory bowel diseases susceptibility. *World J Gastroenterol.* 2014; 20(12): 3208-3222. doi: 10.3748/wjg.v20.i12.3208

33. Franke A, Balschun T, Karlsen TH, Sventoraityte J, Nikolaus S, Mayr G, et al. Sequence variants in IL10, ARPC2 and multiple other loci contribute to ulcerative colitis susceptibility. *Nat Genet.* 2008; 40: 1319-1323. doi: 10.1038/ng.221

34. Doecke JD, Simms LA, Zhao ZZ, Huang N, Hanigan K, Krishnaprasad K, et al. Genetic susceptibility in IBD: overlap between ulcerative colitis and Crohn's disease. *Inflam Bowel Dis.* 2013; 19: 240-245. doi: 10.1097/MIB.0b013e3182810041

35. Fernandez L, Martinez A, Mendoza JL, Urcelay E, et al. Interleukin-10 polymorphisms in Spanish patients with IBD. *Inflam Bowel Dis.* 2005; 11(8): 739-743.

36. Castro-Santos P, Suarez A, López-Rivas L, Mozo L, et al. TNF alpha and IL-10 gene polymorphisms in inflammatory bowel disease. Association of -1082 AA low producer IL-10 genotype with steroid dependency. *Am J Gastroenterol.* 2006; 101(5): 1039-1047.

37. López-Hernández R, Valdés M, Campillo JA, Martínez-García P, et al. Pro- and anti-inflammatory cytokine gene single-nucleotide polymorphisms in inflammatory bowel disease. *Int J Immunogenet.* 2015; 42(1): 38-45.

38. Wu H, Guo JJ, He Y, Yin H, Shu JC. Relationship between IL-10 gene -819C/T polymorphism and the risk of inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Afri Health Sci.* 2016; 16(3): 866-872. doi: 0.4314/ahs.v16i3.30

39. Lv H, Jiang Y, Li J, Zhang M, Shang Z, Zheng J, et al. Association between polymorphisms in the promoter region of interleukin-10 and susceptibility to inflammatory bowel disease. *Mol Biol Rep.* 2014; 41(3): 1299-1310.

40. Kim TH, Kim BG, Shin HD, Kim JW. Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 gene polymorphisms in Korean patients with inflammatory bowel disease. *Kor J Gastroenterol.* 2003; 42(5): 377-386.

41. Celik Y, Dagli U, Kiliç MY, Törün M. Cytokine gene polymorphisms in Turkish patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol.* 2006; 41(5): 559-565.

42. Gök I, Uçar F, Özgür O, Efe H. Analysis Of cytokine gene polymorphism allelic variation in the Turkish population with inflammatory bowel disease. *Biomed Res.* 2014; 25(4): 26-34.

43. Al-Meghaseeb ES, Al-Robayan AA, Al-Otaibi MM, Arfin M, Al-Asmari AK. Association of tumor necrosis factor-α and -β gene polymorphisms in inflammatory bowel disease. *J Inflamm Res.* 2016; 9: 133-140. doi: 10.2147/JIR.S101225

44. Daryani EN, Saghaeideh A, Moossavi S, Sadr M, Shahkarami S, Soltani S, et al. Interleukin-4 and interleukin-10 gene polymorphisms in patients with inflammatory bowel disease. *Immunol Invest.* 2017; 46(7): 714-729. doi: 10.1080/08820139.2017.1360343

REFERENCES

1. Tatiya-Aphiradee N, Chatuphonprasert W, Jarukamjorn K. Immune response and inflammatory pathway of ulcerative coli-

tis. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2018; 30(1): 1-10. doi: 10.1515/jbcpp-2018-0036

2. Kany S, Vollrath JT, Relja B. Cytokines in inflammatory disease. *Int J Mol Sci*. 2019; 20: 6008. doi: 10.3390/ijms 20236008
3. Hernández-Rocha C, Ibáñez P, Molina ME, Klaassen J, Valenzuela A, Candia R, et al. Management of severe ulcerative colitis: An up-to-date. *Rev Med Chil*. 2017; 145(1): 75-84. doi: 10.4067/S0034-98872017000100013
4. Danese S. New therapies for inflammatory bowel disease: from the bench to the bedside. *Gut*. 2012; 61: 918-932.
5. Kim JW, Hwang SW, Park SH, Song TJ, Kim MH, Lee HS, et al. Clinical course of ulcerative colitis patients who develop acute pancreatitis. *World J Gastroenterol*. 2017; 23(19): 3505-3512. doi: 10.3748/wjg.v23.i19.3505
6. Serebrennikova SN, Seminskiy IZh, Semenov NV, Guzovskaya EV. Interleukin-1, interleukin-10 in the regulation of the inflammatory process. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*. 2012; 115(8): 5-7. (In Russ.).
7. Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott PJ, Hutchinson IV. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet*. 1997; 24: 1-8. doi: 10.1111/j.1365-2370.1997.tb00001
8. Walter MR. The molecular basis of IL-10 function: from receptor structure to the onset of signaling. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2014; 380: 191-212. doi: 10.1007/978-3-662-43492-5
9. Llopiz D, Ruiz M, Silva L, Sarobe P. Enhancement of antitumor vaccination by targeting dendritic cell-related IL-10. *Front Immunol*. 2018; 9: 1923. doi: 10.3389/fimmu.2018.01923
10. Díaz Orea MA, Muñoz Perez V, Gómez Conde E, Castellanos Sánchez VO, Gonzalez Lopez R, Flores Alonso JC, et al. Expression of cytokines interleukin-2, interleukin-4, interleukin-10 and transforming growth factor β in gastric adenocarcinoma biopsies obtained from Mexican patients. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2017; 18(2): 577-582. doi: 10.22034/APJCP.2017.18.2.577
11. Tian S, Yan Y, Qi X, Li X, Li Z. Treatment of type II collagen-induced rat rheumatoid arthritis model by interleukin 10 (IL10)-mesenchymal stem cells (BMSCs). *Med Sci Monit*. 2019; 25: 2923-2934. doi: 10.12659/MSM.911184
12. Georgescu SR, Tampa M, Caruntu C, Sarbu M, Mitran C, Mitran M, et al. Advances in understanding the immunological pathways in psoriasis. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(3): E739. doi: 10.3390/ijms20030739
13. Sharma N, Toor D. Interleukin-10: Role in increasing susceptibility and pathogenesis of rheumatic fever/rheumatic heart disease. *Cytokine*. 2017; 90: 169-176. doi: 10.1016/j.cyt.2016.11.010
14. Dai W, Ye Z, Lu H, Su Q, Li H, Li L. Meta-analysis of the relationship between single nucleotide polymorphism of IL-10-1082G/A and rheumatic heart disease. *Oncotarget*. 2018; 9(15): 12343-12350. doi: 10.18632/oncotarget.23901
15. Mohammadi S, Saghaei Jazi M, Zare Ebrahimabad M, Eghbalpour F, Abdolahi N, Tabarraei A, et al. Interleukin 10 gene promoter polymorphisms (rs1800896, rs1800871 and rs1800872) and haplotypes are associated with the activity of systemic lupus erythematosus and IL10 levels in an Iranian population. *Int J Immunogenet*. 2019; 46(1): 20-30. doi: 10.1111/iji.12407
16. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol*. 2001; 19: 683-676.
17. Geginat J, Larghi P, Paroni M, Nizzoli G, Penatti A, Pagani M, et al. The light and the dark sides of Interleukin-10 in immune-mediated diseases and cancer. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2016; 30: 87-93.
18. Huber S, Gagliani N, Esplugues E, O'Connor W, Huber FJ, Chaudhry A, et al. Th17 cells express interleukin-10 receptor and are controlled by Foxp3- and Foxp3+ regulatory CD4+ T-cells in an interleukin-10-dependent manner. *Immunity*. 2011; 34: 554-565.
19. Bateneva EI, Trofimov DY, Khaitov RM, et al. Using quantitative polymerase chain reaction to assess the human cytokine profile. *Immunology*. 2006; 27(1): 9-13. (In Russ.).

20. Al-Robayan A, Arfin M, Saleh Al-Meghaseeb E, Al-Amro R, Al-Asmari AK. Inflammatory bowel disease: The association of inflammatory cytokine gene polymorphisms. *New Insights into Inflammatory Bowel Disease*. 2016; 21. doi: 10.5772/65380
21. Engelhardt KR, Grimbacher B. IL-10 in humans: Lessons from the gut, IL-10/IL-10 receptor deficiencies, and IL-10 polymorphisms. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2014; 380: 1-18. doi: 10.1007/978-3-662-43492-5
22. Zhu H, Lei X, Liu Q, Wang Y. Interleukin-10-1082A/G polymorphism and inflammatory bowel disease susceptibility: A meta-analysis based on 17,585 subjects. *Cytokine*. 2013; 61(1): 146-153. doi: 10.1016/j.cyt.2012.09.009Get
23. Stashkevich DS, Vasilenko AG, Ivanova EL. Polymorphism of the IL-10 gene in patients with ulcerative colitis and irritable bowel syndrome in the Russian population of the Chelyabinsk region. *Vestnik ChelGU*. 2015; 21(376): 23-27. (In Russ.).
24. Stashkevich DS, Belayeva SV, Filippova YuYu, Burmistrova AL. Intergenic interactions of genes of cytokines IL1, IL1ra, IL6, IL10 and TNFa in patients with irritable bowel syndrome and ulcerative colitis in the Russian population of the Chelyabinsk region. *Meditsinskaya immunologiya*. 2018; 6: 921-926. (In Russ.).
25. Dorogeyev AE, Vdovichenko VI, Nagurna YaV, Haldi Hatem, Dprpfeyeva AA. Comparative prevalence and features of the course of ulcerative colitis in the countries of the same geographic meridian: Ukraine – Tunisia. Testing the North-South Hypothesis. *Gastroenterologia*. 2019; 53(1): 34-38. doi: 10.22141/2308-2097.53.1.2019.163455. (In Russ.).
26. Dorofeyev AE, Kharchenko NV, Rudenko NN, et al. The peculiarities of genetic profile in patients with inflammatory bowel disease in Ukraine and strategy for their management. *Modern Gastroenterology*. 2017; (93): 22-29.
27. Kiryan EA. Features of the influence of genetic factors on the development of intestinal pathology. *Actual Problems of the Modern Medicine: Bulletin of Ukrainian Medical Stomatological Academy*. 2017; 4-2(60): 169-172. (In Russ.).
28. Manish T, Pankaj K, Jitendra C, Arttrika R, Neha G, Vinod D, et al. Assessment of allelic and genotypic distribution of IL-6 and IL-10 cytokine genes in ulcerative colitis. *Inflam Bowel Dis*. 2014;20(suppl 1): S99-S100.
29. Mijac D, Petrovic IV, Djuranovic S, Perovic V, et al. The polymorphism rs3024505 (C/T) downstream of the IL10 gene is associated with Crohn's disease in Serbian patients with inflammatory bowel disease. *Tohoku J Exp Med*. 2016; 240(1): 15-24.
30. Tedde A, Putignano LA, Bagnoli S, Congregati C, Milla M, Sorbi S, et al. Interleukin-10 promoter polymorphisms influence susceptibility to ulcerative colitis in a gender-specific manner. *Scand J Gastroenterol*. 2008; 43(6): 712-718.
31. Girardelli M, Basaldella F, Paolera SD, Vuch J, Tommasini A, Martellosi S, et al. Genetic profile of patients with early onset inflammatory bowel disease. *Gene*. 2018; 645: 18-29.
32. Magyari L, Kovacs E, Sarlos P, Javorhazy A, Sumegi K, Melegh B. Interleukin and interleukin receptor gene polymorphisms in inflammatory bowel diseases susceptibility. *World J Gastroenterol*. 2014; 20(12): 3208-3222. doi: 10.3748/wjg.v20.i12.3208
33. Franke A, Balschun T, Karlsen TH, Sventoraityte J, Nikolaus S, Mayr G, et al. Sequence variants in IL10, ARPC2 and multiple other loci contribute to ulcerative colitis susceptibility. *Nat Genet*. 2008; 40: 1319-1323. doi: 10.1038/ng.221
34. Doecke JD, Simms LA, Zhao ZZ, Huang N, Hanigan K, Krishnaswamy K, et al. Genetic susceptibility in IBD: overlap between ulcerative colitis and Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2013; 19: 240-245. doi: 10.1097/MIB.0b013e3182810041
35. Fernandez L, Martinez A, Mendoza JL, Urcelay E, et al. Interleukin-10 polymorphisms in Spanish patients with IBD. *Inflamm Bowel Dis*. 2005; 11(8): 739-743.
36. Castro-Santos P, Suarez A, López-Rivas L, Mozo L, et al. TNF alpha and IL-10 gene polymorphisms in inflammatory bowel disease. Association of -1082 AA low producer IL-10 genotype with steroid dependency. *Am J Gastroenterol*. 2006; 101(5): 1039-1047.

37. López-Hernández R, Valdés M, Campillo JA, Martínez-García P, et al. Pro- and anti-inflammatory cytokine gene single-nucleotide polymorphisms in inflammatory bowel disease. *Int J Immunogenet.* 2015; 42(1): 38-45.
38. Wu H, Guo JJ, He Y, Yin H, Shu JC. Relationship between IL-10 gene -819C/T polymorphism and the risk of inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Afri Health Sci.* 2016; 16(3): 866-872. doi: 10.4314/ahs.v16i3.30
39. Lv H, Jiang Y, Li J, Zhang M, Shang Z, Zheng J, et al. Association between polymorphisms in the promoter region of interleukin-10 and susceptibility to inflammatory bowel disease. *Mol Biol Rep.* 2014; 41(3): 1299-1310.
40. Kim TH, Kim BG, Shin HD, Kim JW. Tumor necrosis factor- α and interleukin-10 gene polymorphisms in Korean patients with inflammatory bowel disease. *Kor J Gastroenterol.* 2003; 42(5): 377-386.
41. Celik Y, Dagli U, Kiliç MY, Törüner M. Cytokine gene polymorphisms in Turkish patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol.* 2006; 41(5): 559-565.
42. Gök I, Uçar F, Özgür O, Efe H. Analysis Of cytokine gene polymorphism allelic variation in the Turkish population with inflammatory bowel disease. *Biomed Res.* 2014; 25(4): 26-34.
43. Al-Meghaseeb ES, Al-Robayan AA, Al-Otaibi MM, Arfin M, Al-Asmari AK. Association of tumor necrosis factor- α and - β gene polymorphisms in inflammatory bowel disease. *J Inflamm Res.* 2016; 9: 133-140. doi: 10.2147/JIR.S101225
44. Daryani EN, Saghadzadeh A, Moossavi S, Sadr M, Shahkarami S, Soltani S, et al. Interleukin-4 and interleukin-10 gene polymorphisms in patients with inflammatory bowel disease. *Immunol Invest.* 2017; 46(7): 714-729. doi: 10.1080/08820139.2017.1360343

Сведения об авторах

Жилин Иван Валерьевич – врач-колопроктолог, аспирант, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: zhivov1113@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2405-0198>

Чашкова Елена Юрьевна – кандидат медицинских наук, врач-колопроктолог, заведующая лабораторией реконструктивной хирургии научного отдела клинической хирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: iscst@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7953-6523>

Жилина Альбина Александровна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры терапии ФПК и ППС, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, <https://orcid.org/0000-0002-4405-2975>

Марковский Александр Викторович – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики Научно-исследовательского института молекулярной медицины, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России <https://orcid.org/0000-0001-9918-4417>

Ким Андрей Денсунович – врач-хирург, младший научный сотрудник лаборатории реконструктивной хирургии научного отдела клинической хирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: iscst@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1862-421X>

Information about the authors

Ivan V. Zhilin – Coloproctologist, Postgraduate, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: zhivov1113@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2405-0198>

Elene Yu. Chashkova – Cand. Sc. (Med.), Coloproctologist, Head of the Laboratory of Reconstructive Surgery of the Scientific Department of Clinical Surgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: iscst@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7953-6523>

Albina A. Zhilina – Cand. Sc. (Med.), Assistant Professor at the Department of Therapy of the Faculty of Advanced Training and Staff Retraining, Chita State Medical Academy, <https://orcid.org/0000-0002-4405-2975>

Aleksander V. Markovskiy – Junior Research Officer at the Laboratory of Molecular Genetics of Research Institute of Molecular Medicine, Chita State Medical Academy, <https://orcid.org/0000-0001-9918-4417>

Andrey D. Kim – Surgeon, Junior Research Officer at the Laboratory of Reconstructive Surgery of the Scientific Department of Clinical Surgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: iscst@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1862-421X>

Вклад авторов

Жилин И.В. – концепция и дизайн статьи, поиск литературы, обработка исходного материала, написание текста.

Чашкова Е.Ю. – концепция и дизайн статьи, анализ литературы, написание и редактирование текста, финальное утверждение рукописи.

Жилина А.А. – дизайн статьи, редактирование текста.

Марковский А.В. – редактирование текста.

Ким А.Д. – поиск источников литературы, подготовка исходного материала.

Статья получена: 09.11.2020. Статья принята: 19.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 09.11.2020. Accepted: 19.11.2020. Published: 26.12.2020.

ДИСКУССИОННЫЕ СТАТЬИ, ЛЕКЦИИ, НОВЫЕ ТРЕНДЫ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ DISCUSSION PAPERS, LECTURES, NEW TRENDS IN MEDICAL SCIENCE

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.8

Клеточные технологии в травматологии: от клетки до тканевой инженерии

Дремина Н.Н., Трухан И.С., Шурыгина И.А.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Дремина Наталья Николаевна, e-mail: drema76@mail.ru

Резюме

Тяжёлые травмы опорно-двигательного аппарата с повреждением костной и хрящевой тканей сопряжены с необходимостью поиска способов замещения дефектов. Современные способы лечения, в том числе включающие применение аутотрансплантатов, современных синтетических материалов, часто недостаточно эффективны. Статья посвящена перспективам разработки новых направлений в лечении травматологической патологии, основанных на применении клеточных технологий. Подробно обсуждены как медицинские, так и этические аспекты применения клеточных технологий и использования различных источников клеточного материала для трансплантации. Особое место уделено применению мезенхимальных стволовых клеток как наиболее подходящего материала для репарации костной и хрящевой тканей. Данные клетки обладают свойствами мультипотентных стволовых клеток, способных адгезироваться на пластиковые поверхности, дифференцироваться в различные клетки, включая хондробласты, остеобласты, и мигрировать в повреждённый участок. Показано, что количество и биологические характеристики выделяемых клеток зависят от ткани, метода выделения клеток и питательной среды. Во время культивирования мезенхимальных стволовых клеток, истинным маркером которых является Stro-1, необходимо следить за длительностью и количеством пассажей, так как это обратно коррелирует с дифференцирующим потенциалом клеток и может произойти спонтанная трансформация по онкогенному пути.

Таким образом, мезенхимальные стволовые клетки представляют собой современный материал для реконструкции твёрдых тканей. Несмотря на этические и технологические проблемы, клеточные технологии являются перспективным методом регенеративной медицины.

Ключевые слова: клеточные технологии, мезенхимальные стволовые клетки, репарация, травматология, кость, хрящ

Для цитирования: Дремина Н.Н., Трухан И.С., Шурыгина И.А. Клеточные технологии в травматологии: от клетки до тканевой инженерии. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 66-76. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.8

Cellular Technologies in Traumatology: from Cells to Tissue Engineering

Dremina N.N., Trukhan I.S., Shurygina I.A.

Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Natalya N. Dremina, e-mail: drema76@mail.ru

Abstract

Severe injuries of the musculoskeletal system with damage of bone and cartilaginous tissue are associated with the necessity to find ways for replacement of defects. Current methods of treatment including the usage of autografts and modern synthetic materials are often not effective enough. The article deals with the prospects for developing the new areas in the traumatological pathology treatment based on the cell technologies application. Both medical and ethical aspects of the cell technology usage and the utilizing various sources of cell material for transplantation are discussed in detail. Special attention is devoted to application of the mesenchymal stem cells as the most suitable material for bone and cartilage repair. These cells possess the properties of multipotent stem cells that can adhere to plastic surfaces, differentiate into various cells, including chondroblasts, osteoblasts, and migrate to the damaged area. It is shown that the number and biological characteristics of the isolated cells depend on the tissue, the cell isolation method, and the culture medium. During the cultivation of mesenchymal stem cells, the true marker of which is Stro-1, it is necessary to monitor the duration and number of passages, because these values are inversely correlated with the differentiating potential of cells, and spontaneous transformation according to oncogenic pathway may occur.

Thus, mesenchymal stem cells represent a current material for the reconstruction of hard tissues. Despite ethical and technological problems, cell technologies are a promising approach in regenerative medicine.

Key words: cell technologies, mesenchymal stem cells, reparation, traumatology, bone, cartilage

For citation: Dremina N.N., Trukhan I.S., Shurygina I.A. Cellular Technologies in Traumatology: from Cells to Tissue Engineering. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 66-76. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.8

ПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

ИПСК	– индуцированные плюрипотентные стволовые клетки
МСК	– мезенхимальные стволовые клетки
ТСК	– тканеспецифические стволовыми клетками
ЩФ	– щелочная фосфатаза
ЭСК	– эмбриональные стволовые клетки
CD10	– мембранная металлоэндопептидаза, кластер дифференцировки 10
CD11b	– интегрин альфа М, кластер дифференцировки 11b
CD13	– аланинаминопептидаза, миелоидный гликопротеин плазматической мембраны CD13, кластер дифференцировки 13
CD14	– кластер дифференцировки 14
CD19	– В-лимфоцитарный антиген, кластер дифференцировки 19
CD29	– интегрин бета-1, кластер дифференцировки 29
CD31	– молекула адгезии эндотелиальных клеток, кластер дифференцировки 31
CD34	– трансмембранный фосфогликопротеин, кластер дифференцировки 34
CD44	– гликопротеин клеточной поверхности, кластер дифференцировки 44
CD45	– тирозиновая протеинфосфатаза С рецепторного типа, кластер дифференцировки 45
CD73	– экто-5'-нуклеотидаза, кластер дифференцировки 73
CD79a	– кластер дифференцировки 79a
CD90/Thy-1	– кластер дифференцировки 90
CD105	– эндоглин, кластер дифференцировки 105
CD106 (VCAM-1)	– васкулярная молекула клеточной адгезии 1, кластер дифференцировки 106
CD117	– рецептор фактора роста тучных и стволовых клеток, кластер дифференцировки 117
CD271/NGFR	– рецептор фактора роста нервов, кластер дифференцировки 271
CD309	– рецептор фактора роста сосудистого эндотелия, тип 2, кластер дифференцировки 309
DMEM	– модифицированная среда Игла
FBS	– фетальная бычья сыворотка
FGFb	– основной фибробластический фактор роста
PDGF-BB	– тромбоцитарный фактор роста BB
Sca-1	– антиген стволовых клеток 1
Stro-1	– маркер мезенхимальных стволовых клеток
TGF β	– трансформирующий фактор роста β

ВВЕДЕНИЕ

Клеточные технологии – одна из самых динамично развивающихся научных областей XXI века. Практически не осталось ни одной отрасли медицины, где бы сегодня не применялись технологии с использованием клеток, направленные на создание биологической ткани для восстановления, поддержания, улучшения формы и функции ткани или органа [1]. Прежде всего, это имплантация ткани, выращенной *in vitro* для замещения повреждённых участков кожи при ожогах, скальпированных и долго незаживающих ранах [2, 3]. Это онкологические и гематологические [4, 5, 6], сердечно-сосудистые заболевания [7, 8, 9], различные нейродегенеративные расстройства, а также травмы головного и спинного мозга, ранее считавшиеся неизлечимыми [10]. Сюда же входит стоматология [11], офтальмология [12] и эндокринология, где для лечения сахарного диабета используют трансплантаты островковых клеток поджелудочной железы [13]. При различных формах печёночной недостаточности применяют донорские изолированные гепатоциты. Нейротрансплантация также нашла применение при лечении болезней Альцгеймера, Паркинсона, Хантингтона [14].

БИОЭТИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ

ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Благодаря успешному внедрению в медицину клеточных технологий сформировалось понятие биоэтика – наука, решающая правовые и морально-этические проблемы, приоритетом которой считаются интересы пациента и общества, а не интересы науки. До сих пор остаётся открытым вопрос – является ли этическим использование эмбриональных и фетальных стволовых клеток, имеем ли мы на это право? Во многих странах зародыш, даже на ранних стадиях развития, считается потенциальным человеком, а разрушение эмбриона приравнивается к убийству [15, 16, 17]. Такого же мнения придерживается ряд международных документов, к которым относятся «Всеобщая декларация прав человека», «Международный пакт о гражданских и политических правах», а «Европейская конвенция по защите прав и достоинств человека» прямо запрещает создавать эмбрионы в научных целях.

Наряду с этим существуют и другие проблемы, касающиеся малоизвестных клиник, которые гарантируют благоприятный исход лечения практически при любой патологии. Рекламируют стволовые клетки как панацею,

приписывая им несуществующие свойства, умалчивают о побочных эффектах, подвергая пациента опасности. Люди некоторых религиозных конфессий также крайне негативно относятся к терапии с использованием стволовых клеток, порой отказываясь от медицинской помощи вовсе. Не остаётся в стороне и вопрос анонимности доноров и разрешения на использование материала, затраты и другие регуляторные аспекты [18, 19]. Не стоит забывать и о техническом оснащении самой лаборатории по выделению и культивированию клеток, требующем определённого оборудования для получения достойных результатов.

В последнее десятилетие мнение по некоторым этическим вопросам меняется [20]. Так, считается, что терапия, направленная на лечение патологий, имеющая некоторые негативные последствия, является морально приемлемой при соблюдении четырёх условий:

- Главная цель действия и само действие – это благо;
- Вредные последствия происходят не намеренно;
- Вредное воздействие не является целью действия, а хорошее воздействие не является прямым причинно-следственным результатом вредного воздействия;

• Предполагаемый положительный эффект так же велик, как и побочные эффекты, или больше, или пропорционален им.

Несмотря на вышеизложенные проблемы, клеточные технологии признаны перспективным направлением медицины сегодня. И с большой долей вероятности большинство этических проблем будут решены благодаря масштабной помощи с использованием клеточных технологий людям, потерявшим надежду на излечение традиционными методами.

Среди всех сфер медицины одним из ключевых направлений является травматология, так как болезни опорно-двигательного аппарата поражают ~50 % людей старше 18 лет и ~75 % людей в возрасте ≥ 65 лет. В травматологии клеточную инженерию формально можно разделить на инженерию костей, суставов и сухожилий.

КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ИНЖЕНЕРИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

Потребность в инженерии кости чаще всего возникает в случае многооскольчатых переломов костей, замедленной консолидации костных отломков, образования ложных суставов, остеонкологических проблемах и при всех состояниях, когда резерв скелетной ткани не способен обеспечить собственный процесс репарации [1, 21, 22]. Сложнее дело обстоит с восстановлением костей свода черепа из-за биологических особенностей, риска резорбирования регенерата в зоне повреждения ввиду отсутствия постоянной механической нагрузки, а также образования спаек в субдуральном пространстве с вырванной неврологической симптоматикой.

Несмотря на внедрение современных технологий в области травматологии, замедленная консолидация при переломах варьирует от 1 до 18 % [23].

Традиционное, стандартное лечение костных дефектов, основанное на костном аутооттрансплантате или аллотрансплантате, долгое время считалось самой безопасной и эффективной процедурой трансплантации, поскольку аутооттрансплантат содержит собственные костные растущие клетки пациента (для усиления остеогенеза) и белки (для усиления остеоиндукции),

обеспечивая при этом основу для роста новой кости (остеоиндукции). Однако костный аутооттрансплантат ограничен в размере и его забор (чаще из гребня подвздошной кости) представляет собой дополнительное хирургическое вмешательство с последующими болями в зоне забора, снижением остеогенного потенциала донорского участка, отторжением трансплантата или разрастанием фиброзной ткани [24]. Аллотрансплантат, поступающий из тканевых банков, не содержит живых клеток, а некоторые матричные белки разрушаются обработкой при инактивации вирусов, замораживании, поэтому он гарантирует только остеоиндуктивные свойства.

Физиологическое сходство костной ткани между человеком и млекопитающими позволяет рассматривать минеральную ткань млекопитающих в качестве источника костных ксенотрансплантатов для использования человеком. В качестве доноров чаще используют крупный рогатый скот, лошадь, свинью. Считается, что такие трансплантаты обладают остеогенными и остеоиндуктивными свойствами. После забора ксенотрансплантаты стерилизуют и очищают при низкой температуре, сочетая механические и химические процессы удаления клеток, липидов и других источников антигенного материала [25]. После очистки ксенотрансплантаты могут быть использованы как самостоятельно, так и в сочетании с аутооттрансплантатами, чтобы уменьшить объем аутогенной кости и улучшить регенерацию по сравнению с одними ксенотрансплантатами.

Улучшению пролиферации стволовых клеток и повышению остеогенного потенциала способствует покрытие трансплантата поли(L-лактид-со-ε-капролактоном) и полисахаридами [26]. Остеогенной дифференцировке способствует добавление к ксенотрансплантатам фторид-ионов [27]. Для повышения гидрофильности и улучшения механических свойств к биокерамическим ксенотрансплантатам добавляют полимеры и белки, а использование высокомолекулярной гиалуроновой кислоты способствует процессу костной регенерации [28]. Однако в ряде экспериментальных работ отмечалось отторжение, медленная или частичная интеграция.

Учитывая негативные последствия ауто-, алло- и ксенотрансплантатов, учёные продолжают искать различные биосовместимые материалы с использованием клеток вместо пересаженной кости [29].

Наиболее широко используемыми биоматериалами являются кальций-фосфатная керамика, которая обычно объединяет гидроксиапатит и трикальцийфосфат с порами. Эти материалы способствуют адгезии, пролиферации и остеобластической дифференцировке мезенхимальных стволовых клеток – МСК, а также выработке коллагенового матрикса, который впоследствии подвергается минерализации. Широко используются также коллагеновые губки и биоразлагаемые полимеры.

Идеального биоразлагаемого носителя в качестве каркаса на сегодняшний день не существует из-за ряда проблем, включающих недостаточную биологическую активность, иммуногенность и воспалительные реакции, нестабильную скорость деградации и неконтролируемые взаимодействия клетки и биоматериала, а также низкую эффективность прикрепления клеток и гетерогенное клеточное распределение [30].

Перспективным направлением в этой сфере является исследование биокерамики морского происхождения,

которое обеспечивает взаимосвязанную пористость в иерархической структуре, аналогичной трабекулярной кости человека, что делает материал подходящим в качестве костных трансплантатов с остеокондуктивными свойствами [31].

Одним из примеров является экзоскелет некоторых видов кораллов, в основном состоящий из кристаллической керамической структуры арагонита (карбоната кальция). Учитывая доступность больших количеств, чаще используют такие кораллы, как пориты и гониопоры. Однако они не обладают достаточной прочностью при сжатии, а поглощение карбоната кальция происходит слишком быстро, что ограничивает применение этих трансплантатов. Для повышения прочности коралловых скелетов возможно провести химическую трансформацию из нативного состава карбоната кальция в гидроксипатит путём гидротермальной конверсии [32]. Эта процедура увеличивает долговечность трансплантата, поскольку полученный гидроксипатит медленно разлагается, а полная резорбция достигается через год и дольше. При тестировании данного материала выяснилось, что у всех пациентов наблюдалась экструзия, т. е. трансплантат перемещался, а скорость резорбции была слишком медленной.

Помимо кораллов другими традиционно изучаемыми морскими биокерамическими источниками являются морские раковины, скелеты губок, шипы морских ежей, кости рыб и зубы акул [31]. При получении в виде порошков эта керамика демонстрировала частицы стержневой формы и хорошую биосовместимость *in vitro* независимо от источника.

Из всех источников карбоната кальция наиболее изученным в качестве костного трансплантата является перламутр. Он состоит из высококристаллического ацеллюлярного карбоната кальция в виде псевдогексагональных наноэрен арагонита, инкапсулированных во внутрикристаллическую органическую матрицу. Органический материал содержит около 1,7 % или менее и может быть удалён термической обработкой при высокой температуре, при которой арагонит превращается в кальцит. По данным исследований, перламутр имеет остеоиндуктивный потенциал, а также обладает остеокондуктивностью, биосовместимостью и своевременной биодеградируемостью [33]. Стимуляция формирования новой кости наблюдалась при имплантации в верхнечелюстную альвеолярную кость человека, при наполнении несущих участков, дефектов черепа, а также при межпозвоночном сращении. Таким образом, перламутр является перспективным источником с соблюдением необходимых требований к костным наполнителям.

Хотя большинство доступных костных заменителей обладают остеокондуктивными свойствами, ещё ни один из них не сочетает в себе все преимущества собственной кости. Для развития в направлении новых остеоиндуктивных и остеогенных решений, которые смогут безопасно и эффективно конкурировать с существующими стандартами, предложена клеточная терапия. Именно применение стволовых клеток играет одну из основных ролей в восстановлении костной ткани и может служить альтернативой костной пластике [23].

Осознав большую перспективу использования клеточных технологий в травматологии, исследователи старались получить культуры клеток непосредственно из тканей, которые необходимо восстановить.

Для получения первичной культуры остеобластов на начальном этапе использовали периост (надкостницу) или эмбриональные закладки костей, однако полученная популяция дифференцировалась по хондрогенному пути [21]. Культивирование непосредственно костных фрагментов позволило получить небольшое количество остеогенных клеток. И только спустя годы в качестве источника были использованы стромальные клетки костного мозга, преимуществом которых явилась способность адгезироваться к поверхности культуральной посуды. А усовершенствование питательной среды и создание оптимальных условий микроокружения позволило получить достаточный объём дифференцированных клеток из малого количества исходного материала [34].

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КАК ИСТОЧНИК РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТНОЙ И ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ

Для индуцирования репарации костей, хряща и сухожилий наиболее подходящими клетками в настоящее время считаются МСК костного мозга, поскольку они обладают высоким остеогенным, хондрогенным и теногенным потенциалом [35].

По происхождению стволовые клетки можно разделить на три основные группы: эмбриональные стволовые клетки (ЭСК), отличающиеся отсутствием антигенов тканевой совместимости; взрослые стволовые клетки (также называемые тканеспецифическими стволовыми клетками, ТСК) и индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК).

Стромальные клетки костного мозга впервые идентифицированы Александром Яковлевичем Фриденштейном, описавшем адгезивную фибробластоподобную популяцию, способную дифференцироваться в костную ткань, которую он назвал остеогенными клетками-предшественниками [36]. Позднее, благодаря Арнольду Каплану (Arnold Caplan), стромальные стволовые клетки костного мозга стали называть мезенхимальными стволовыми клетками – МСК [37], которые в настоящее время представляют наибольший интерес, так как обладают свойством мультипотентных стволовых клеток, способных дифференцироваться в различные клетки, включая фибробласты, хондробласты, остеобласты, адипоциты, гепатоциты, глиальные клетки и нейроны, а также мигрировать в повреждённый участок [1, 38, 39]. Кроме того, МСК обладают иммуномодулирующим свойством, действуя как иммуносупрессоры, подавляя пролиферацию Т-лимфоцитов и угнетая дифференцировку дендритных клеток, что позволяет достаточно широко использовать их в трансплантологии [40].

В клеточных технологиях существуют определённые этапы, включающие:

- 1) выделение и культивирование первичных культур клеток;
- 2) получение клеточных линий и создание клеточных банков;
- 3) модификацию структуры и функции клеток, цитокиновая и генотерапия;
- 4) практическое применение в медицине, биологии, биоинженерии, био-, нанотехнологии.

Сегодня стволовые клетки получают практически из любой ткани: из кожи, плаценты, периферической и пуповинной крови, жировой и хрящевой ткани, амниотической и синовиальной жидкости, трабекулярной

кости, стенки сосудов, предстательной железы, а также фетальных печени и лёгких [34, 38]. Сама процедура выделения в настоящее время считается рутинной. Однако, несмотря на лёгкость выделения, культивирования и стабильность фенотипа, количество выделяемых клеток и биологические характеристики первичной культуры МСК напрямую зависят от многих параметров, включая источник ткани, метод выделения клеток и питательной среды [41]. Несмотря на то, что источником МСК могут быть различные ткани, чаще всего клетки выделяют из жировой и пуповинной тканей. Именно из этих тканей получают наибольшее количество МСК, а процедура при этом является минимально инвазивной [42].

Начальный этап извлечения МСК из донорской ткани определяет дальнейшую популяцию клеток, которая будет размножаться *in vitro*. Как правило, клетки выделяют с помощью простых процедур, включающих измельчение тканей, ферментирования и рост клеток на пластиковой поверхности [41].

Результат получения МСК зависит от донора материала. Например, клетки, полученные от больных гепатитом В, сначала были похожи на клетки здоровых доноров, но впоследствии наблюдались явные различия в соотношении культур, кривой роста, количестве поколений и изменении внешнего вида после нескольких субкультивирований, свидетельствующее о том, что их труднее культивировать *in vitro*. Растут такие клетки медленно с быстрым процессом старения [43]. В то же время МСК, полученные из костного мозга у женщин с множественной травмой, имели высокую пролиферативную способность, в сравнении с остальными донорами. Это свидетельствует о том, что тяжесть травмы и пол также влияют на резервный и пролиферативный потенциал [44]. А МСК от пожилых доноров демонстрировали снижение максимальной продолжительности жизни клеточной культуры по сравнению с клетками от молодых доноров, о чем свидетельствовало увеличение количества бета-галактозидазных позитивных клеток [45].

Для идентификации МСК используют маркеры клеток, которые подразделяют на негативные и позитивные [41]. Считается, что МСК не экспрессируют гликофорин А (маркер эритроидного происхождения), CD11b (маркер иммунных клеток), CD31 (маркер эндотелиальных и гематопоэтических клеток), CD34 (маркер гемопоэтических стволовых клеток), CD117 (маркер гемопоэтических стволовых/прогениторных клеток) и CD45 (маркер всех гемопоэтических стволовых клеток). CD11b, CD14, CD19, CD31, CD45, CD79a и CD117 определённо являются негативными маркерами как человеческих, так и мышиных МСК, в то время как CD34, являясь негативным маркером для человеческих МСК, всегда экспрессируется на мышиных.

К позитивным маркерам относятся Stro-1 (маркер мезенхимальных стволовых клеток), CD10 (маркер пре-В-лимфоцитов или маркер острого лимфобластного лейкоза), CD13 (панмиелоидный маркер), CD29, CD44 и CD73 (маркеры мезенхимальных стволовых клеток), CD90/Thy-1 (маркер стволовых и опухолевых клеток), CD105 или эндоглин и CD106 (VCAM-1) (маркеры активированного эндотелия), CD271/NGFR (специфический маркер мезенхимальных стволовых клеток костного мозга человека), CD309 (маркер ангиогенеза), Sca-1 (маркер гемопоэтических стволовых клеток). Самым изученным

и распространённым среди данных маркеров считается Stro-1 с молекулярной массой 75 кДа, экспрессию которого можно наблюдать и в эндотелии [1, 46, 47]. Несмотря на то, что в процессе культивирования клеток его экспрессия снижается, Stro-1 является истинным позитивным маркером мезенхимальных стволовых клеток [48].

После получения первичной культуры клетки следует содержать в среде Игла, модифицированной Dulbecco (DMEM). При этом необходимо следить за длительностью культивирования и количеством пассажей, так как это обратно коррелирует с дифференцирующим потенциалом клеток. В условиях длительного культивирования (~10 пассажей) средняя численность популяции удваивается, а средняя длина теломера уменьшается, дифференцировочный потенциал при этом снижается уже после 6-го пассажа, развивается апоптоз, а в некоторых случаях возникает спонтанная трансформация МСК по онкогенному типу [1, 49].

Непосредственное применение МСК имело большой успех при исследовании дегенерации межпозвоночных дисков. Сам процесс дегенерации связан с уменьшением числа клеток и изменением фенотипа клеток диска. По мере прогрессирования дегенерации отмечается изменение объёма и формы диска, а также перегрузка соседних структур [50]. Для восстановления утраченных клеток, внеклеточного матрикса, а также для увеличения содержания протеогликанов МСК вводят непосредственно в диск. Далее МСК реплицируются и дифференцируются в сторону клеток центрального студенистого пульпозного ядра, стимулируют эндогенные клетки к пролиферации, способствуя тем самым восстановлению межпозвоночного диска. Применение МСК демонстрирует более стойкое и последовательное качество регенеративного эффекта.

Для успешной дифференцировки особое значение имеет питательная среда и наличие в ней растворённых веществ. Например, для остеогенной дифференцировки в питательную среду, дополненную 20%-ной фетальной бычьей сывороткой (FBS), необходимо добавить дексаметазон, В-глицерофосфат, фосфат витамина С и культивировать МСК в монослойной среде 2–3 недели. Затем клетки приобретают костную морфологию, повышается активность щелочной фосфатазы (ЩФ) с накоплением кальция во внеклеточном матриксе. При добавлении в питательную среду основного фактора роста фибробластов (fibroblast growth factor basic, FGFb) повышаются остеогенный и адипогенный потенциалы, в то время как способность к нейрогенной трансформации снижается.

ТЕХНИКА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ В КЛЕТОЧНОЙ ИНЖЕНЕРИИ

На клеточный потенциал также влияет техника культивирования. Так, при наиболее распространённом и экономичном однослойном культивировании остеогенный потенциал снижается, о чем свидетельствует понижение как активности ЩФ, так и содержание остеокальцина. В то же время при однослойном культивировании невозможно создать микроокружение для клетки, идентичное условиям *in vivo*. При однослойном культивировании хондроциты быстро становятся фибробластоподобными клетками со сниженной способностью продуцировать протеогликаны, изменяется структура синтезируемого коллагена (вместо коллагена II типа синтезируется

коллаген I типа) [34]. При этом контролировать форму, размер и расположение привитых клеток практически невозможно [51, 52].

Наряду с однослойным существует также культивирование в биореакторах: перфузионных, цилиндрических и ротационных. В биореакторах микроокружение имитирует условия *in vivo*, происходит микрогравитация, периодическое поступление (обновление) питательной среды в клеточной культуре и удаление продуктов метаболизма [53]. В биореакторах клетки способны расти и пролиферировать на микро- и макроносителях, а также в суспензиях.

В тканевой инженерии альтернативным считается метод так называемого «клеточного листа», заключающийся в культивировании клеток до тех пор, пока они не сформируют обширные межклеточные взаимодействия и не выработают собственный внеклеточный матрикс, с помощью которого они приобретут форму клеточного листа. При этом «клеточный лист» с культуральной посуды снимают при пониженной температуре (20 °C) и накладывают один лист на другой для реконструкции гомогенной и гетерогенной 3D-тканей. Однако при этом методе возможно появление некроза внутри листа из-за отсутствия васкуляризации, и этой проблеме в настоящее время уделяется большое внимание.

Несмотря на это, благодаря данному методу проведены успешные работы на миокарде и кровеносных сосудах, сетчатке и роговице глаза, пищеводе, а также костях, сухожилиях и хряще [54, 55, 56]. Методом клеточного листа культивированы кератиноциты, пигментные эпителиальные клетки, уротелиальные клетки, клетки периодонтальной связки, эндотелиальные клетки аорты [57], кардиомиоциты [58] и эпителиальные клетки почек [59].

Проводились исследования по остеогенной дифференцировке МСК с дальнейшей трансплантацией экспериментальным животным. Полученные клеточные листы сворачивали, формируя трубчатую структуру, и помещали подкожно в область бедра. Через 6 недель после трансплантации листа исследователи выявили эктопическую кальцификацию бедренной кости, а дальнейшее гистологическое исследование подтвердило костеобразование [1]. Таким образом, пришли к выводу, что МСК можно культивировать как листовые структуры, и полученные листы представляют собой остеогенные имплантаты, которые могут быть использованы для реконструкции твёрдых тканей.

КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В РЕГЕНЕРАЦИИ ХРЯЩЕВОЙ ТКАНИ

Наряду с инженерией костей активно развивается и инженерия хрящей, дефект которых, как правило, возникает при травме, дегенеративных расстройствах и повреждении субхондральной кости, что в свою очередь приводит к серьёзным осложнениям. Во-первых, развивается остеоартроз, которым страдает до 25 % населения, а лечение терапевтическими и хирургическими способами только облегчает симптомы. А во-вторых, повреждение приводит к кatabолическому разрушению суставного хряща, деструкция которого поражает преимущественно суставную поверхность, в результате чего пациент нуждается в протезировании сустава [60].

Дефект хряща по толщине может быть частичным или полным. Повреждение лишь поверхностного гиалинового хряща, снижающего трение, способно восстановиться из-за синтеза собственных клеток. Проблема частичного повреждения заключается в сложности лечения, так как эта зона плохо васкуляризирована, не проникает в субхондральную кость и не имеет доступа к клеткам-предшественникам [61].

Современные методы лечения направлены на восстановление хрящевых дефектов путём первичной репарации, включающей жёсткую фиксацию, стимуляцию прилегающих тканей и имплантацию трансплантата. Микротрещины и субхондральное сверление нарушают субхондральную кость, позволяя мигрировать стволовым клеткам в место повреждения. При этом дефект заполняется репаративной тканью, а положительный результат может быть получен при соблюдении режима длительной реабилитации [62]. При этом существенным недостатком также является длительная болезненность донорского участка.

Аллогенная трансплантация позволяет восстановить более крупные дефекты, однако считается сложной из-за необходимости подбора размера донора-реципиента, тестирования на инфекционные заболевания и имплантации в короткие сроки для обеспечения жизнеспособности хондроцитов. При этом хорошие клинические результаты обеспечивают свежие аллотрансплантаты, хранящиеся при температуре 4 °C. Использование замороженных аллотрансплантатов резко ухудшает результаты [63].

Существуют различные методы имплантации, эффективно заполняющие дефекты суставов, улучшая их функцию. Однако предлагаемые методы требуют, как минимум, двух инвазивных хирургических вмешательств [64]. Восстановить хрящевые дефекты, избегая многократных инвазивных процедур и повреждения хряща донора, потенциально может клеточная стратегия с использованием стволовых клеток.

Стратегии получения клеток хряща различны, но в целом содержат ряд общих черт. Хрящ отделяют от субхондральной кости, промывают, измельчают и ферментируют в коллагеназе (12–16 часов). Для получения МСК материал необходимо центрифугировать с трансформирующим фактором роста β (transforming growth factor, TGF) [65]. Затем осадок промывают и перемещают в культуральную посуду с плотностью клеток 20 000 клеток/см² (высокая плотность снижает клеточную пролиферацию, сохраняя фенотип в кратковременных культурах). Культивировать полученную массу клеток необходимо в бессывороточной среде с добавлением дексаметазона, фосфата витамина C, TGF- β и пролина [34, 60, 66]. Примерно через 10 дней культивирования клетки формируют монослой, прикрепляясь к культуральному пластику, и активно пролиферируют. Несмотря на положительный результат, через несколько пассажей происходит изменение генотипа и хондрогенного фенотипа, характеризующееся потерей округлой формы, снижением синтеза внеклеточного матрикса, повышением экспрессии фибробластических генов. Данные изменения могут быть обратимыми. Лишь добавление ростовых факторов (PDGF-BB (тромбоцитарного фактора роста BB), TGF β 1, FGF β) увеличивает скорость клеточной пролиферации, восстанавливая фенотип в хондрогенной культуре [67].

Также хондрогенной дифференцировке способствует циклоастрогонол – тритерпеноидное сапониновое соединение и продукт гидролиза основного ингредиента мембранного астрагала. При этом улучшаются конденсация и пролиферация клеток, наблюдается более высокое содержание гликозаминогликанов. Стабильный активный фенотип хондроцитов поддерживался *in vitro* в течение 28 дней [68].

Для стимуляции оптимальной хондрогенной дифференцировки МСК созданы двуслойные клеточные пластинки, состоящие из сферической популяции МСК человека, заключённой в слой ювенильных хондроцитов. В ходе эксперимента выяснилось, что и ювенильные хондроциты продуцируют больше протеогликанов, чем МСК человека, обработанные TGF β , а также демонстрировали более высокую экспрессию хондрогенных генов Sox9, протеогликанового хондроитинсульфата 1 – агрекана и коллагена 2A1, а также более низкую экспрессию гипертрофических генов матриксной металлопротеиназы-13, ключевого транскрипционного фактора, связанного с дифференцировкой остеобластов – Runx2, коллагена 1A1 и коллагена 10A1 [69].

Гистологические анализы показывали, что ювенильные хондробласты способствуют хондрогенной дифференцировке клеток в двуслойные клеточные пластинки без гипертрофии. Кроме того, при культивировании в гипоксических и воспалительных условиях они вырабатывали значительно больше протеогликанов, чем ювенильные хондробласты или МСК.

Однако применение МСК при восстановлении суставного хряща имеет и некоторые недостатки. Так, МСК-производные хондроцитов экспрессируют гены, связанные с гипертрофией, что приводит к гибели клеток или кальцификации с последующей васкуляризацией при имплантации данных клеток подкожно или внутримышечно [61].

Клинические исследования по применению МСК для восстановления хрящевой ткани продолжаются. До сих пор остаётся неизвестным, заполняют ли трансплантированные МСК непосредственно очаг поражения и регенерируют дефектный суставной хрящ или же они косвенно стимулируют секрецию биоактивных факторов, таких как цитокины и факторы роста. Поэтому, хотя во многих исследованиях были получены многообещающие результаты о потенциале МСК в регенерации хрящевых тканей, необходимы дополнительные исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тканевая инженерия по своей сути является уникальной наукой, она объединяет клетки костного мозга или мезенхимальные стволовые клетки, синтетические каркасы и молекулярные сигналы для формирования гибридных конструкций. В классическом подходе тканевая инженерия состоит из сбора ткани у пациента, выделения МСК путём присоединения культуры ткани к пластику культуральной посуды, пролиферации и дифференцировки данных клеток в культуре до достаточного количества, а затем имплантации тому же пациенту [23]. Преимуществом использования МСК является то, что клетки могут быть выделены из большого количества взрослых тканей, они активно пролиферируют без потери их многолинейной дифференцировочной способности, включая остеогенный и хондрогенный дифференцировочный потенциал. Клинические исследования по приме-

нению МСК для регенерации костной и хрящевой тканей проводятся до сих пор. Несмотря на многообещающие результаты многочисленных работ в регенеративной медицине, необходимы дополнительные исследования для установления соответствующих условий и методов применения МСК у человека.

ЛИТЕРАТУРА

1. Yorukoglu AC, Kiter AE, Akkaya S, Satioglu-Tufan NL, Tufan AC. A concise review on the use of mesenchymal stem cells in cell sheet-based tissue engineering with special emphasis on bone tissue regeneration. *Stem Cells Int.* 2017; 2017: 2374161. doi: 10.1155/2017/2374161
2. Bhardwaj N, Chouhan D, Mandal BB. Tissue engineered skin and wound healing: Current strategies and future directions. *Curr Pharm Des.* 2017; 23(24): 3455-3482. doi: 10.2174/1381612823666170526094606
3. Tarassoli SP, Jessop ZM, Al-Sabah A, Gao N, Whitaker S, Doak S, Whitaker IS. Skin tissue engineering using 3D bioprinting: An evolving research field. *Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2018; 71(5): 615-623. doi: 10.1016/j.bjps.2017.12.006
4. Modugno FD, Colosi C, Trono P, Antonacci G, Ruocco G, Nisticò P. 3D models in the new era of immune oncology: focus on T cells, CAF and ECM. *J Exp Clin Cancer Res.* 2019; 38(1): 117. doi: 10.1186/s13046-019-1086-2
5. Schmidt SK, Schmid R, Arkudas A, Kengelbach-Weigand A, Bosserhoff AK. Tumor cells develop defined cellular phenotypes after 3D-bioprinting in different bioinks. *Cells.* 2019; 8(10): 1295. doi: 10.3390/cells8101295
6. Sun Q, Barz M, De Geest BG, Diken M, Hennink WE, Kiessling F, Lammers T, Shi Y. Nanomedicine and macroscale materials in immuno-oncology. *Chem Soc Rev.* 2019; 48(1): 351-381. doi: 10.1039/c8cs00473k
7. Shevchenko IL. Cellular technologies in cardiology. *Vestn Ross Akad Med Nauk.* 2003; 11: 6-10.
8. Duran AG, Reidell O, Stachelscheid H, Klose K, Gossen M, Falk V, Röhl W, Stamm C. Regenerative medicine/cardiac cell therapy: Pluripotent stem cells. *Thorac Cardiovasc Surg.* 2018; 66(1): 53-62. doi: 10.1055/s-0037-1608761
9. Goradel NH, Ghiyami-Hour F, Negahdari B, Malekshahi ZV, Hashemzahi M, Masoudifar A, Mirzaei H. Stem cell therapy: A new therapeutic option for cardiovascular diseases. *J Cell Biochem.* 2018; 119(1): 95-104. doi: 10.1002/jcb.26169
10. Taoufik E, Kouroupi G, Zygiogianni O, Matsas R. Synaptic dysfunction in neurodegenerative and neurodevelopmental diseases: an overview of induced pluripotent stem-cell-based disease models. *Open Biol.* 2018; 8(9): 180138. doi: 10.1098/rsob.180138
11. Nuñez J, Vignoletti F, Caffesse RG, Sanz M. Cellular therapy in periodontal regeneration. *Periodontol 2000.* 2019; 79(1): 107-116. doi: 10.1111/prd.12250
12. Shan LH, An XY, Xu MM, Fan SP, Zhong H, Ni P, Chi H. Analysis on the trend of innovation and development in the field of ophthalmology. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi.* 2018; 54(6): 452-463. doi: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2018.06.012
13. Millman JR, Pagliuca FW. Autologous pluripotent stem cell-derived β -like cells for diabetes cellular therapy. *Diabetes.* 2017; 66(5): 1111-1120. doi: 10.2337/db16-1406
14. Arber C, Lovejoy C, Wray S. Stem cell models of Alzheimer's disease: Progress and challenges. *Alzheimers Res Ther.* 2017; 9(1): 42. doi: 10.1186/s13195-017-0268-4
15. Акопян А.С., Белоусов Д.Ю., Рысулы М.Р., Куликов А.В. Некоторые актуальные проблемы клинических исследований стволовых клеток. *Качественная клиническая практика.* 2010; (1): 22-28.
16. Miguel-Berriain I. The ethics of stem cells revisited. *Adv Drug Deliv Rev.* 2015; 82-83: 176-80. doi: 10.1016/j.addr.2014.11.011
17. Lavazza A, Massimini M. Cerebral organoids: ethical issues and consciousness assessment. *J Med Ethics.* 2018; 44(9): 606-610. doi: 10.1136/medethics-2017-104555

18. Petrini C. Bioethics of clinical applications of stem cells. *Int J Mol Sci*. 2017; 18(4): 814. doi: 10.3390/ijms18040814
19. Zheng YL. Some ethical concerns about human induced pluripotent stem cells. *Sci Eng Ethics*. 2016; 22(5): 1277-1284. doi: 10.1007/s11948-015-9693-6
20. Aulisio MP. Double effect, principle or doctrine of. In: Jennings B. (editor) *Bioethics*. Gale: Farmington Hills, MI, USA. 2014; 2: 889-894.
21. Деев Р.В., Исаев А.А., Кочиш А.Ю., Тихилов Р.М. Клеточные технологии в травматологии и ортопедии: пути развития. *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. 2007; 2(4): 18-30.
22. Mills LA, Aitken SA, Simpson RWAH. The risk of non-union per fracture: Current myths and revised figures from a population of over 4 million adults. *Acta Orthop*. 2017; 88(4): 434-439. doi: 10.1080/17453674.2017.1321351
23. Gómez-Barrena E, Rosset P, Lozano D, Stanovici J, Er-mthaller C, Gerbhard F. Bone fracture healing: Cell therapy in delayed unions and nonunions. *Bone*. 2015; 70: 93-101. doi: 10.1016/j.bone.2014.07.033
24. Fernández-Hernández O. Terapias para el hueso: Sustitutos óseos. *Mon Act Soc Esp Med Cir Pie Tobillo*. 2017; 9: 45-53.
25. Kemper N, Davison N, Fitzpatrick D, Marshall R, Lin A, Mundy K, Cobb RR. Characterization of the mechanical properties of bovine cortical bone treated with a novel tissue sterilization process. *Cell Tissue Bank*. 2011; 12(4): 273-279. doi: 10.1007/s10561-010-9191-7
26. Mayer Y, Ginesin O, Khutaba A, Machtei EE, Giladi HZ. Biocompatibility and osteoconductivity of PLCL coated and non-coated xenografts: An in vitro and preclinical trial. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2018; 20(3): 294-299. doi: 10.1111/cid.12596
27. Qiao W, Liu R, Li Z, Luo X, Huang B, Liu Q, Chen Z, Tsoi JKH, Su Y-X, Cheung KMC, Matinlinna JP, Yeung KWK, Chen Z. Contribution of the in situ release of endogenous cations from xenograft bone driven by fluoride incorporation toward enhanced bone regeneration. *Biomater Sci*. 2018; 6(11): 2951-2964. doi: 10.1039/c8bm00910d
28. Arpağ OF, Damlar I, Altan A, Tatli U, Günay A. To what extent does hyaluronic acid affect healing of xenografts? A histomorphometric study in a rabbit model. *J Appl Oral Sci*. 2018; 26: 20170004. doi: 10.1590/1678-7757-2017-0004
29. Laurencin C, Khan Y, El-Amin SF. Bone graft substitutes (Review). *Expert Review of Medical Devices*. 2006; 3(1): 49-57. doi: 10.1586/17434440.3.1.49.
30. Ma D, Ren L, Liu Y, Chen F, Zhang J, Xue Z, Mao T. Engineering scaffold-free bone tissue using bone marrow stromal cell sheets. *J Orthop Res*. 2010; 28(5): 697-702. doi: 10.1002/jor.21012
31. Diaz-Rodriguez P, López-Álvarez M, Serra J, González P, Landín M. Current stage of marine ceramic grafts for 3D bone tissue regeneration. *Mar Drugs*. 2019; 17(8): 471. doi: 10.3390/md17080471
32. Fu K, Xu Q, Czernuszka J, Triffitt JT, Xia Z. Characterization of a biodegradable coralline hydroxyapatite/calcium carbonate composite and its clinical implementation. *Biomater Mater*. 2013; 8(6): 065007. doi: 10.1088/1748-6041/8/6/065007
33. Zhang G, Brion A, Willemin A-S, Piet M-H, Moby V, Bianchi A, Mainard D, Galois L, Gillet P, Rousseau M. Nacre, a natural, multi-use, and timely biomaterial for bone graft substitution. *J Biomed Mater Res A*. 2017; 105(2): 662-671. doi: 10.1002/jbm.a.35939
34. Шаманская Т.В., Осипова Е.Ю., Румянцев С.А. Технологии культивирования мезенхимальных стволовых клеток ex vivo для клинического использования. *Онкогематология*. 2009; 3: 69-76.
35. Koga H, Engebretsen L, Brinchmann JE, Muneta T, Sekiya I. Mesenchymal stem cell-based therapy for cartilage repair: A review. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2009; 17(11): 1289-1297. doi: 10.1007/s00167-009-0782-4
36. Friedenstein AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp Hematol*. 1976; 4: 267-274.
37. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res*. 1991; 9: 641-650.
38. Лупатов А.Ю., Вдовин А.С., Вахрушев И.В., Полтавцева Р.А., Ярыгин К.Н. Сравнительный анализ экспрессии поверхностных маркеров на фибробластах и фибробластоподобных клетках, выделенных из различных тканей человека. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2014; 4: 221-228.
39. Shurygin MG, Shurygina IA, Dremina NN, Kanya OV. Endogenous progenitors as the source of cell material for ischemic damage repair in experimental myocardial infarction under conditions of changed concentration of vascular endothelial growth factor. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2015; 158(4): 528-531.
40. Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood*. 2007; 110(10): 3499-3506. doi: 10.1182/blood-2007-02-069716
41. Mushahary D, Spittler A, Kasper C, Weber V, Charwat V. Isolation, cultivation, and characterization of human mesenchymal stem cells. *Cytometry A*. 2018; 93(1): 19-31. doi: 10.1002/cyto.a.23242
42. Kolaparthi LK, Sanivarapu S, Moogla S, Kutcham RS. Adipose tissue-adequate, accessible regenerative material. *Int J Stem Cells*. 2015; 8: 121-127.
43. Peng L, Li H, Gu L, Peng X-M, Huang Y-S, Gao Z-L. Comparison of biological characteristics of marrow mesenchymal stem cells in hepatitis B patients and normal adults. *World J Gastroenterol*. 2007; 13(11): 1743-1746. doi: 10.3748/wjg.v13.i11.1743
44. Seebach C, Henrich D, Tewksbury R, Wilhelm K, Marzi I. Number and proliferative capacity of human mesenchymal stem cells are modulated positively in multiple trauma patients and negatively in atrophic nonunions. *Calcif Tissue Int*. 2007; 80(4): 294-300. doi: 10.1007/s00223-007-9020-6
45. Stenderup K, Justesen J, Clausen C, Kassem M. Aging is associated with decreased maximal life span and accelerated senescence of bone marrow stromal cells. *Bone*. 2003; 33(6): 919-926. doi: 10.1016/j.bone.2003.07.005
46. Gronthos S, Zannettino AC, Hay SJ, Shi S, Graves SE, Kortesisid A, Simmons PJ. Molecular and cellular characterisation of highly purified stromal stem cells derived from human bone marrow. *J Cell Sci*. 2003; 116(9): 1827-1835. doi: 10.1242/jcs.00369
47. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, Deans R, Keating A, Prockop D, Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells: the International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006; 8(4): 315-317. doi: 10.1080/14653240600855905
48. Ning H, Lin G, Lue TF, Lin C-S. Mesenchymal stem cell marker Stro-1 is a 75kd endothelial antigen. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011; 413(2): 353-357. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.08.104
49. Nakamura A, Akahane M, Shigematsu H, Tadokoro M, Morita Y, Ohgushi H, Dohi Y, Imamura T. Cell sheet transplantation of cultured mesenchymal stem cells enhances bone formation in a rat nonunion model. *Bone*. 2010; 46(2): 418-424. doi: 10.1016/j.bone.2009.08.048
50. Yim RL-H, Lee JT-Y, Bow CH, Meij B, Leung V, Cheung KMC, Vavken P, Samartzis D. A systematic review of the safety and efficacy of mesenchymal stem cells for disc degeneration: Insights and future directions for regenerative therapeutics. *Stem Cells Dev*. 2014; 23(21): 2553-2567. doi: 10.1089/scd.2014.0203
51. Shimizu T, Yamato M, Kikuchi A, Okano T. Cell sheet engineering for myocardial tissue reconstruction. *Biomaterials*. 2003; 24(13): 2309-2316. doi: 10.1016/s0142-9612(03)00110-8
52. Owaki T, Shimizu T, Yamato M, Okano T. Cell sheet engineering for regenerative medicine: Current challenges and strategies. *Biotechnol J*. 2014; 9(7): 904-914. doi: 10.1002/biot.201300432
53. Радеева И.Ф., Думченко Н.Б., Нечаева Е.А. Культивирование клеток на микроносителях в биореакторах. *Вестник ПНИПУ. Химическая технология и биотехнология*. 2019; 2: 22-32. doi: 10-15593/2224-9400/2019.2.02
54. Kwon OH, Kikuchi A, Yamato M, Sakurai Y, Okano T. Rapid cell sheet detachment from poly(N-isopropylacrylamide)-

grafted porous cell culture membranes. *J Biomed Mater Res*. 2000; 50(1): 82-89. doi: 10.1002/(sici)1097-4636(200004)50:1<82::aid-jbm12>3.0.co;2-7

55. Calve S, Dennis RG, Kosnik PE, Baar K, Grosh K, Arruda EM. Engineering of functional tendon. *Tissue Eng*. 2004; 10(5-6): 755-761. doi: 10.1089/1076327041348464

56. Murdoch AD, Grady LM, Ablett MP, Katopodi T, Meadows RS, Hardingham TE. Chondrogenic differentiation of human bone marrow stem cells in transwell cultures: generation of scaffold-free cartilage. *Stem Cells*. 2007; 25(11): 2786-2796. doi: 10.1634/stemcells.2007-0374

57. Sakaguchi K, Shimizu T, Okano T. Construction of three-dimensional vascularized cardiac tissue with cell sheet engineering. *J Control Release*. 2015; 205: 83-88. doi: 10.1016/j.jconrel.2014.12.016

58. L'Heureux N, McAllister TN, de la Fuente LM. Tissue-engineered blood vessel for adult arterial revascularization. *N Engl J Med*. 2007; 357(14): 1451-1453. doi: 10.1056/NEJMc071536

59. Masuda S, Shimizu T, Yamato M, Okano T. Cell sheet engineering for heart tissue repair. *Adv Drug Deliv Rev*. 2008; 60(2): 277-285. doi: 10.1016/j.addr.2007.08.031

60. Bornes TD, Adesida AB, Jomha NM. Mesenchymal stem cells in the treatment of traumatic articular cartilage defects: a comprehensive review. *Arthritis Res Ther*. 2014; 16(5): 432. doi: 10.1186/s13075-014-0432-1

61. Lubis AMT, Lubis VK. Adult bone marrow stem cells in cartilage therapy. *Acta Medica Indonesiana*. 2012; 44(1): 62-68.

62. Gudas R, Gudaite A, Pocius A, Gudienė A, Cekanauskas E, Monastyreckienė E, Basevicius A. Ten-year follow-up of a prospective, randomized clinical study of mosaic osteochondral autologous transplantation versus microfracture for the treatment of osteochondral defects in the knee joint of athletes. *Am J Sports Med*. 2012; 40(11): 2499-508. doi: 10.1177/0363546512458763

63. Levy YD, Görtz S, Pulido PA, McCauley JC, Bugbee WD. Do fresh osteochondral allografts successfully treat femoral condyle lesions? *Clin Orthop Relat Res*. 2013; 471(1): 231-237. doi: 10.1007/s11999-012-2556-4

64. Kon E, Filardo G, Berruto M, Benazzo F, Zanoni G, Villa SD, Marcacci M. Articular cartilage treatment in high-level male soccer players: A prospective comparative study of arthroscopic second-generation autologous chondrocyte implantation versus microfracture. *Am J Sports Med*. 2011; 39(12): 2549-2557. doi: 10.1177/0363546511420688

65. Chavez RD, Serra R. Scaffoldless tissue-engineered cartilage for studying transforming growth factor beta-mediated cartilage formation. *Biotechnol Prog*. 2020; 36(1): 2897. doi: 10.1002/btpr.2897

66. Johnstone B, Hering TM, Caplan AL, Goldberg VM, Yoo JU. In vitro chondrogenesis of bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells. *Exp Cell Res*. 1998; 238: 265-272. doi: 10.1006/excr.1997.3858

67. Tew SR, Murdoch AD, Rauchenberg RP, Hardingham TE. Cellular methods in cartilage research: Primary human chondrocytes in culture and chondrogenesis in human bone marrow stem cells. *Methods*. 2008; 45(1): 2-9. doi: 10.1016/j.jmeth.2008.01.006

68. Szychlinska MA, Calabrese G, Ravalli S, Parrinello NL, Forte S, Castrogiovanni P, Pricoco E, Imbesi R, Castorina S, Leonardi R, Rosa MD, Musumeci G. Cycloastragenol as an exogenous enhancer of chondrogenic differentiation of human adipose-derived mesenchymal stem cells. A morphological study. *Cells*. 2020; 9(2): 347. doi: 10.3390/cells9020347

69. Cooke ME, Allon AA, Cheng T, Kuo AC, Kim HT, Vail TP, Marcucio RS, Schneider RA, Lotz JC, Alliston T. Structured three-dimensional co-culture of mesenchymal stem cells with chondrocytes promotes chondrogenic differentiation without hypertrophy. *Osteoarthritis Cartilage*. 2011; 19(10): 1210-1218. doi: 10.1016/j.joca.2011.07.005

REFERENCES

1. Yorukoglu AC, Kiter AE, Akkaya S, Satioglu-Tufan NL, Tufan AC. A concise review on the use of mesenchymal stem cells

in cell sheet-based tissue engineering with special emphasis on bone tissue regeneration. *Stem Cells Int*. 2017; 2017: 2374161. doi: 10.1155/2017/2374161

2. Bhardwaj N, Chouhan D, Mandal BB. Tissue engineered skin and wound healing: Current strategies and future directions. *Curr Pharm Des*. 2017; 23(24): 3455-3482. doi: 10.2174/1381612823666170526094606

3. Tarassoli SP, Jessop ZM, Al-Sabah A, Gao N, Whitaker S, Doak S, Whitaker IS. Skin tissue engineering using 3D bioprinting: An evolving research field. *Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2018; 71(5): 615-623. doi: 10.1016/j.bjps.2017.12.006

4. Modugno FD, Colosi C, Trono P, Antonacci G, Ruocco G, Nisticò P. 3D models in the new era of immune oncology: focus on T cells, CAF and ECM. *J Exp Clin Cancer Res*. 2019; 38(1): 117. doi: 10.1186/s13046-019-1086-2

5. Schmidt SK, Schmid R, Arkudas A, Kengelbach-Weigand A, Bosserhoff AK. Tumor cells develop defined cellular phenotypes after 3D-bioprinting in different bioinks. *Cells*. 2019; 8(10): 1295. doi: 10.3390/cells8101295

6. Sun Q, Barz M, De Geest BG, Diken M, Hennink WE, Kiessling F, Lammers T, Shi Y. Nanomedicine and macroscale materials in immuno-oncology. *Chem Soc Rev*. 2019; 48(1): 351-381. doi: 10.1039/c8cs00473k

7. Shevchenko IL. Cellular technologies in cardiology. *Vestn Ross Akad Med Nauk*. 2003; 11: 6-10.

8. Duran AG, Reidell O, Stachelscheid H, Klose K, Gossen M, Falk V, Röhl W, Stamm C. Regenerative medicine/cardiac cell therapy: Pluripotent stem cells. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2018; 66(1): 53-62. doi: 10.1055/s-0037-1608761

9. Goradel NH, Ghiyami-Hour F, Negahdari B, Malekshahi ZV, Hashemzahi M, Masoudifar A, Mirzaei H. Stem cell therapy: A new therapeutic option for cardiovascular diseases. *J Cell Biochem*. 2018; 119(1): 95-104. doi: 10.1002/jcb.26169

10. Taoufik E, Kouroupi G, Zygogianni O, Matsas R. Synaptic dysfunction in neurodegenerative and neurodevelopmental diseases: an overview of induced pluripotent stem-cell-based disease models. *Open Biol*. 2018; 8(9): 180138. doi: 10.1098/rsob.180138

11. Nuñez J, Vignoletti F, Caffesse RG, Sanz M. Cellular therapy in periodontal regeneration. *Periodontol 2000*. 2019; 79(1): 107-116. doi: 10.1111/prd.12250

12. Shan LH, An XY, Xu MM, Fan SP, Zhong H, Ni P, Chi H. Analysis on the trend of innovation and development in the field of ophthalmology. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi*. 2018; 54(6): 452-463. doi: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2018.06.012

13. Millman JR, Pagliuca FW. Autologous pluripotent stem cell-derived β -like cells for diabetes cellular therapy. *Diabetes*. 2017; 66(5): 1111-1120. doi: 10.2337/db16-1406

14. Arber C, Lovejoy C, Wray S. Stem cell models of Alzheimer's disease: Progress and challenges. *Alzheimers Res Ther*. 2017; 9(1): 42. doi: 10.1186/s13195-017-0268-4

15. Akopyan AS, Belousov DY, Rysuly MR, Kulikov AV. Some current problems of stem cell clinical research. *Kachestvennaya klinicheskaya praktika*. 2010; (1): 22-28. (In Russ.)

16. Miguel-Berain I. The ethics of stem cells revisited. *Adv Drug Deliv Rev*. 2015; 82-83: 176-80. doi: 10.1016/j.addr.2014.11.011

17. Lavazza A, Massimini M. Cerebral organoids: ethical issues and consciousness assessment. *J Med Ethics*. 2018; 44(9): 606-610. doi: 10.1136/medethics-2017-104555

18. Petrini C. Bioethics of clinical applications of stem cells. *Int J Mol Sci*. 2017; 18(4): 814. doi: 10.3390/ijms18040814

19. Zheng YL. Some ethical concerns about human induced pluripotent stem cells. *Sci Eng Ethics*. 2016; 22(5): 1277-1284. doi: 10.1007/s11948-015-9693-6

20. Aulisio MP. Double effect, principle or doctrine of. In: Jennings B. (editor) Bioethics. Gale: Farmington Hills, MI, USA. 2014; 2: 889-894.

21. Deev RV, Isaev AA, Kochish AY, Tikhilov RM. Cellular technologies in traumatology and orthopedics: ways of development. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya*. 2007; 2(4): 18-30. (In Russ.)

22. Mills LA, Aitken SA, Simpson RWAH. The risk of non-union per fracture: Current myths and revised figures from a population of over 4 million adults. *Acta Orthop*. 2017; 88(4): 434-439. doi: 10.1080/17453674.2017.1321351
23. Gómez-Barrena E, Rosset P, Lozano D, Stanovici J, Er-mthaller C, Gerbhard F. Bone fracture healing: Cell therapy in delayed unions and nonunions. *Bone*. 2015; 70: 93-101. doi: 10.1016/j.bone.2014.07.033
24. Fernández-Hernández O. Terapias para el hueso: Sustitutos óseos. *Mon Act Soc Esp Med Cir Pie Tobillo*. 2017; 9: 45-53.
25. Kemper N, Davison N, Fitzpatrick D, Marshall R, Lin A, Mundy K, Cobb RR. Characterization of the mechanical properties of bovine cortical bone treated with a novel tissue sterilization process. *Cell Tissue Bank*. 2011; 12(4): 273-279. doi: 10.1007/s10561-010-9191-7
26. Mayer Y, Ginesin O, Khutaba A, Machtei EE, Giladi HZ. Biocompatibility and osteoconductivity of PLCL coated and non-coated xenografts: An in vitro and preclinical trial. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2018; 20(3): 294-299. doi: 10.1111/cid.12596
27. Qiao W, Liu R, Li Z, Luo X, Huang B, Liu Q, Chen Z, Tsoi JKH, Su Y-X, Cheung KMC, Matinlinna JP, Yeung KWK, Chen Z. Contribution of the in situ release of endogenous cations from xenograft bone driven by fluoride incorporation toward enhanced bone regeneration. *Biomater Sci*. 2018; 6(11): 2951-2964. doi: 10.1039/c8bm00910d
28. Arpağ OF, Damlar I, Altan A, Tatli U, Günay A. To what extent does hyaluronic acid affect healing of xenografts? A histomorphometric study in a rabbit model. *J Appl Oral Sci*. 2018; 26: 20170004. doi: 10.1590/1678-7757-2017-0004
29. Laurencin C, Khan Y, El-Amin SF. Bone graft substitutes (Review). *Expert Review of Medical Devices*. 2006; 3(1): 49-57. doi: 10.1586/17434440.3.1.49.
30. Ma D, Ren L, Liu Y, Chen F, Zhang J, Xue Z, Mao T. Engineering scaffold-free bone tissue using bone marrow stromal cell sheets. *J Orthop Res*. 2010; 28(5): 697-702. doi: 10.1002/jor.21012
31. Diaz-Rodriguez P, López-Álvarez M, Serra J, González P, Landín M. Current stage of marine ceramic grafts for 3D bone tissue regeneration. *Mar Drugs*. 2019; 17(8): 471. doi: 10.3390/md17080471
32. Fu K, Xu Q, Czernuszka J, Triffitt JT, Xia Z. Characterization of a biodegradable coralline hydroxyapatite/calcium carbonate composite and its clinical implementation. *Biomed Mater*. 2013; 8(6): 065007. doi: 10.1088/1748-6041/8/6/065007
33. Zhang G, Brion A, Willemin A-S, Piet M-H, Moby V, Bianchi A, Mainard D, Galois L, Gillet P, Rousseau M. Nacre, a natural, multi-use, and timely biomaterial for bone graft substitution. *J Biomed Mater Res A*. 2017; 105(2): 662-671. doi: 10.1002/jbm.a.35939
34. Shamanskaya TV, Osipova EYu, Rummyantsev SA. Ex vivo mesenchymal stem cell culture technologies for clinical use. *Onkogematologiya*. 2009; 3: 69-76. (In Russ.)
35. Koga H, Engebretsen L, Brinckmann JE, Muneta T, Sekiya I. Mesenchymal stem cell-based therapy for cartilage repair: A review. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2009; 17(11): 1289-1297. doi: 10.1007/s00167-009-0782-4
36. Friedenstien AJ, Gorskaja JF, Kulagina NN. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp Hematol*. 1976; 4: 267-274.
37. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res*. 1991; 9: 641-650.
38. Lupatov AYU, Vdovin AS, Vakhrushev IV, Poltavtseva RA, Yarygin KN. Comparative analysis of the expression of surface markers on fibroblasts and fibroblast-like cells isolated from various human tissues. *Klitochnye tekhnologii v biologii i meditsine*. 2014; 4: 221-228. (In Russ.)
39. Shurygin MG, Shurygina IA, Dremina NN, Kanya OV. Endogenous progenitors as the source of cell material for ischemic damage repair in experimental myocardial infarction under conditions of changed concentration of vascular endothelial growth factor. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2015; 158(4): 528-531.
40. Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood*. 2007; 110(10): 3499-3506. doi: 10.1182/blood-2007-02-069716
41. Mushahary D, Spittler A, Kasper C, Weber V, Charwat V. Isolation, cultivation, and characterization of human mesenchymal stem cells. *Cytometry A*. 2018; 93(1): 19-31. doi: 10.1002/cyto.a.23242
42. Kolaparthi LK, Sanivarapu S, Moogla S, Kutcham RS. Adipose tissue-adequate, accessible regenerative material. *Int J Stem Cells*. 2015; 8: 121-127.
43. Peng L, Li H, Gu L, Peng X-M, Huang Y-S, Gao Z-L. Comparison of biological characteristics of marrow mesenchymal stem cells in hepatitis B patients and normal adults. *World J Gastroenterol*. 2007; 13(11): 1743-1746. doi: 10.3748/wjg.v13.i11.1743
44. Seebach C, Henrich D, Tewksbury R, Wilhelm K, Marzi I. Number and proliferative capacity of human mesenchymal stem cells are modulated positively in multiple trauma patients and negatively in atrophic nonunions. *Calcif Tissue Int*. 2007; 80(4): 294-300. doi: 10.1007/s00223-007-9020-6
45. Stenderup K, Justesen J, Clausen C, Kassem M. Aging is associated with decreased maximal life span and accelerated senescence of bone marrow stromal cells. *Bone*. 2003; 33(6): 919-926. doi: 10.1016/j.bone.2003.07.005
46. Gronthos S, Zannettino AC, Hay SJ, Shi S, Graves SE, Kortessidis A, Simmons PJ. Molecular and cellular characterisation of highly purified stromal stem cells derived from human bone marrow. *J Cell Sci*. 2003; 116(9): 1827-1835. doi: 10.1242/jcs.00369
47. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, Deans R, Keating A, Prockop D, Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells: the International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006; 8(4): 315-317. doi: 10.1080/14653240600855905
48. Ning H, Lin G, Lue TF, Lin C-S. Mesenchymal stem cell marker Stro-1 is a 75kd endothelial antigen. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011; 413(2): 353-357. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.08.104
49. Nakamura A, Akahane M, Shigematsu H, Tadokoro M, Morita Y, Ohgushi H, Dohi Y, Imamura T. Cell sheet transplantation of cultured mesenchymal stem cells enhances bone formation in a rat nonunion model. *Bone*. 2010; 46(2): 418-424. doi: 10.1016/j.bone.2009.08.048
50. Yim RL-H, Lee JT-Y, Bow CH, Meij B, Leung V, Cheung KMC, Vavken P, Samartzis D. A systematic review of the safety and efficacy of mesenchymal stem cells for disc degeneration: Insights and future directions for regenerative therapeutics. *Stem Cells Dev*. 2014; 23(21): 2553-2567. doi: 10.1089/scd.2014.0203
51. Shimizu T, Yamato M, Kikuchi A, Okano T. Cell sheet engineering for myocardial tissue reconstruction. *Biomaterials*. 2003; 24(13): 2309-2316. doi: 10.1016/s0142-9612(03)00110-8
52. Owaki T, Shimizu T, Yamato M, Okano T. Cell sheet engineering for regenerative medicine: Current challenges and strategies. *Biotechnol J*. 2014; 9(7): 904-914. doi: 10.1002/biot.201300432
53. Radeeva IF, Dumchenko NB, Nechaeva EA. Cell culture on microcarriers in bioreactors. *Vestnik PNPU. Khimicheskaya tekhnologiya i biotekhnologiya*. 2019; 2: 22-32. doi: 10-15593/2224-9400/2019.2.02
54. Kwon OH, Kikuchi A, Yamato M, Sakurai Y, Okano T. Rapid cell sheet detachment from poly(N-isopropylacrylamide)-grafted porous cell culture membranes. *J Biomed Mater Res*. 2000; 50(1): 82-89. doi: 10.1002/(sici)1097-4636(200004)50:1<82::aid-jbm12>3.0.co;2-7
55. Calve S, Dennis RG, Kosnik PE, Baar K, Grosh K, Arruda EM. Engineering of functional tendon. *Tissue Eng*. 2004; 10(5-6): 755-761. doi: 10.1089/1076327041348464
56. Murdoch AD, Grady LM, Ablett MP, Katopodi T, Meadows RS, Hardingham TE. Chondrogenic differentiation of human bone marrow stem cells in transwell cultures: generation of scaffold-free cartilage. *Stem Cells*. 2007; 25(11): 2786-2796. doi: 10.1634/stemcells.2007-0374
57. Sakaguchi K, Shimizu T, Okano T. Construction of three-dimensional vascularized cardiac tissue with cell sheet engineering. *J Control Release*. 2015; 205: 83-88. doi: 10.1016/j.jconrel.2014.12.016

58. L'Heureux N, McAllister TN, de la Fuente LM. Tissue-engineered blood vessel for adult arterial revascularization. *N Engl J Med*. 2007; 357(14): 1451-1453. doi: 10.1056/NEJMc071536
59. Masuda S, Shimizu T, Yamato M, Okano T. Cell sheet engineering for heart tissue repair. *Adv Drug Deliv Rev*. 2008; 60(2): 277-285. doi: 10.1016/j.addr.2007.08.031
60. Bornes TD, Adesida AB, Jomha NM. Mesenchymal stem cells in the treatment of traumatic articular cartilage defects: a comprehensive review. *Arthritis Res Ther*. 2014; 16(5): 432. doi: 10.1186/s13075-014-0432-1
61. Lubis AMT, Lubis VK. Adult bone marrow stem cells in cartilage therapy. *Acta Medica Indonesiana*. 2012; 44(1): 62-68.
62. Gudas R, Gudaite A, Pocius A, Gudienė A, Cekanauskas E, Monastyreckienė E, Basevicius A. Ten-year follow-up of a prospective, randomized clinical study of mosaic osteochondral autologous transplantation versus microfracture for the treatment of osteochondral defects in the knee joint of athletes. *Am J Sports Med*. 2012; 40(11): 2499-508. doi: 10.1177/0363546512458763
63. Levy YD, Görtz S, Pulido PA, McCauley JC, Bugbee WD. Do fresh osteochondral allografts successfully treat femoral condyle lesions? *Clin Orthop Relat Res*. 2013; 471(1): 231-237. doi: 10.1007/s11999-012-2556-4
64. Kon E, Filardo G, Berruto M, Benazzo F, Zanon G, Villa SD, Marcacci M. Articular cartilage treatment in high-level male soccer players: A prospective comparative study of arthroscopic second-generation autologous chondrocyte implantation versus microfracture. *Am J Sports Med*. 2011; 39(12): 2549-2557. doi: 10.1177/0363546511420688
65. Chavez RD, Serra R. Scaffoldless tissue-engineered cartilage for studying transforming growth factor beta-mediated cartilage formation. *Biotechnol Prog*. 2020; 36(1): 2897. doi: 10.1002/btpr.2897
66. Johnstone B, Hering TM, Caplan AI, Goldberg VM, Yoo JU. In vitro chondrogenesis of bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells. *Exp Cell Res*. 1998; 238: 265-272. doi: 10.1006/excr.1997.3858
67. Tew SR, Murdoch AD, Rauchenberg RP, Hardingham TE. Cellular methods in cartilage research: Primary human chondrocytes in culture and chondrogenesis in human bone marrow stem cells. *Methods*. 2008; 45(1): 2-9. doi: 10.1016/j.ymeth.2008.01.006
68. Szychlinska MA, Calabrese G, Ravalli S, Parrinello NL, Forte S, Castrogiovanni P, Pricoco E, Imbesi R, Castorina S, Leonardi R, Rosa MD, Musumeci G. Cycloastragenol as an exogenous enhancer of chondrogenic differentiation of human adipose-derived mesenchymal stem cells. A morphological study. *Cells*. 2020; 9(2): 347. doi: 10.3390/cells9020347
69. Cooke ME, Allon AA, Cheng T, Kuo AC, Kim HT, Vail TP, Marcucio RS, Schneider RA, Lotz JC, Alliston T. Structured three-dimensional co-culture of mesenchymal stem cells with chondrocytes promotes chondrogenic differentiation without hypertrophy. *Osteoarthritis Cartilage*. 2011; 19(10): 1210-1218. doi: 10.1016/j.joca.2011.07.005

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: drema76@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2540-4525>

Трухан Ирина Сергеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий и регенеративной медицины, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: prede14@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0270-404X>

Шурыгина Ирина Александровна – доктор медицинских наук, профессор РАН, заместитель директора по научной работе, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: irinashurygina@gmail.com, <https://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: drema76@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2540-4525>

Irina S. Trukhan – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cell Technologies and Regenerative Medicine, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: prede14@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0270-404X>

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

Статья получена: 05.11.2020. Статья принята: 11.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 05.11.2020. Accepted: 11.11.2020. Published: 26.12.2020.

ЛЕКЦИИ LECTURES

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.9

Роль лизосом в онкогенезе: акцент на деградацию внеклеточного матрикса

Трухан И.С., Дремина Н.Н., Шурыгина И.А.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Трухан Ирина Сергеевна, e-mail: PREDEL4@yandex.ru

Резюме

Лизосомы – многофункциональные клеточные органеллы, которые не только обеспечивают деградацию макромолекул люменальными кислыми гидролазами, но также участвуют в регуляции клеточного метаболизма, поддержании ионного гомеостаза и индукции программируемой клеточной гибели. Особый интерес вызывает изучение этого компартмента при различных патологических состояниях, в том числе при развитии онкологических заболеваний различного генеза. Метаболические и морфологические изменения клеток в процессе онкогенеза приводят к pH-зависимому перераспределению лизосом в пределах клетки, сопровождающемуся секрецией лизосомальных протеаз катепсинов во внеклеточное пространство. Цистеиновые, сериновые и аргининовые катепсины, выделяемые как опухолевыми клетками, так и клетками, ассоциированными с опухолью, катализируют расщепление различных компонентов внеклеточного матрикса и базальной мембраны или протеолитически активируют другие ферменты, также участвующие в этом процессе. При этом лизосомальные протеазы непосредственно влияют на способность клеток к инвазии и метастатический потенциал опухолевого образования. Кроме того, было продемонстрировано прогностическое значение некоторых катепсинов (особенно катепсинов B, K и D), количество и активность которых в опухолевой ткани и в её микроокружении сопряжены со злокачественностью образования, а также с плохим прогнозом по выживаемости пациентов и возможностью возникновения рецидивов.

Ключевые слова: лизосомы, инвадиподии, внеклеточный матрикс, катепсины, метастазирование

Для цитирования: Трухан И.С., Дремина Н.Н., Шурыгина И.А. Роль лизосом в онкогенезе: акцент на деградацию внеклеточного матрикса. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 77-87. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.9.

The Role of Lysosomes in the Cancer Progression: Focus on the Extracellular Matrix Degradation

Trukhan I.S., Dremina N.N., Shurygina I.A.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Irina S. Trukhan, e-mail: PREDEL4@yandex.ru

Abstract

Lysosomes are multifunctional cell organelles that not only provide degradation of macromolecules by luminal acid hydrolases, but also contribute in the regulation of cell metabolism, ion homeostasis maintenance, and programmed cell death induction. The study of this compartment in various pathological conditions, including the oncological diseases by different origins is of particular interest. This article discusses the lysosome involvement in the process of malignant cell transformation, as well as the role of these organelles in the tumor cell metastasis mediated by proteolytic cleavage of the extracellular matrix components. Metabolic and morphological changes of cells during oncogenesis lead to pH-dependent redistribution of lysosomes within the cell, accompanied by the secretion of lysosomal proteases cathepsins into the extracellular space. Cysteine, serine, and arginine cathepsins released by both tumor cells and tumor-associated cells catalyze the cleavage of various components of the extracellular matrix and basement membrane, or proteolytically activate other enzymes also involved in this process. In this instance, lysosomal proteases directly affect the ability of cells to invade and the metastatic potential of tumor formation. In addition, it was demonstrated the prognostic importance of some cathepsins (especially cathepsins B, K, and D) the number and activity of which in the tumor tissue and its microenvironment are associated with malignancy of the formation, as well as with a poor prognosis for patient survival and with the possibility of recurrences.

Key words: lysosomes, invadopodia, extracellular matrix, cathepsins, metastasis

For citation: Trukhan I.S., Dremina N.N., Shurygina I.A. The Role of Lysosomes in the Cancer Progression: Focus on the Extracellular Matrix Degradation. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 77-87. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.9.

ПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

LAMP	– ассоциированные с лизосомальной мембраной белки (англ. lysosome-associated membrane protein)
LAV	– крупные кислые везикулы (англ. large acidic vesicles)
M6PR	– рецептор маннозо-6-фосфата (англ. mannose-6-phosphate receptor)
MMP	– матриксные металлопротеиназы (англ. matrix metalloproteinase)
NHE	– натрий-протонный антипортер (англ. Na ⁺ /H ⁺ exchanger)
TGF-β	– трансформирующий фактор роста бета (англ. transforming growth factor beta)
TIMP	– тканевые ингибиторы металлопротеиназ (англ. tissue inhibitor of metalloproteinases)
uPA	– активатор плазминогена урокиназного типа (англ. urokinase-type plasminogen activator)

ВВЕДЕНИЕ

Лизосомы – округлые органеллы с кислым содержанием, считавшиеся со времени открытия в 1955 г. статичными компартментами, отвечающими за деградацию макромолекул с образованием низкомолекулярных метаболитов [1]. Однако проведенные за последние десятилетия исследования показали, что роль лизосом в клетке не ограничивается гидролитической функцией, эти органеллы участвуют в сигнальной трансдукции и регуляции метаболизма клеток, поддержании ионного гомеостаза, а также в индукции программируемой клеточной гибели [1, 2]. Кроме того, лизосомы начали активно изучать в связи с их ролью в развитии онкологических, нейродегенеративных, сердечно-сосудистых, костно-мышечных заболеваний [2]. Целью данной статьи является обзор изменений, происходящих с лизосомами в процессе злокачественной трансформации клеток, а также обсуждение роли данного компартмента в таком ключевом этапе онкогенеза как метастазирование, опосредованное деградацией внеклеточного матрикса.

ЛИЗОСОМЫ В МОРФОЛОГИИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

D. Hanahan и R.A. Weinberg (2011) описали общие признаки, лежащие в основе онкогенеза, такие как приобретение клетками способности к активной неограниченной пролиферации и выживанию в отсутствие факторов роста, нечувствительности к ингибиторам роста и апоптотическим сигналам, возникновение миграционного потенциала [3]. Также авторы предложили рассматривать опухолевые ткани как гетерогенные образования, в состав которых помимо клеток, подвергшихся раковой трансформации, входят незлокачественные клетки, рекрутированные в микроокружение опухоли и коэволюционировавшие с опухолевыми клетками. Так, строме опухоли могут составлять эндотелиальные клетки, перicytes, иммунные и воспалительные клетки (макрофаги, нейтрофилы и T- и B-лимфоциты), ассоциированные с опухолью фибробласты. При этом известно, что клетки стромы наряду с опухолевыми клетками секретируют компоненты внеклеточного матрикса (фибронектин, коллагены, протеоглики, гликопротеины), избыточные количества факторов роста, гормонов, хемокинов и цитокинов, протеолитических ферментов и других молекул, составляющих секретом опухоли [4]. В настоящее время опухоли признаны сложными многокомпонентными системами, в состав которых помимо раковых и нормальных клеток, рекрутированных в микроокружение, входят неклеточные компоненты, а именно внеклеточный матрикс и межклеточный секрет, включающий сигнальные молекулы и везикулы [5]. И, хотя вклад каждого из компонентов в развитие опухо-

левого образования до конца не определен, общепризнанным считается утверждение о том, что опухолевые клетки взаимодействуют со своим микроокружением посредством паракринной сигнализации и секреции протеаз, что приводит к двусторонним изменениям в метаболизме клеток, увеличению секреторной активности и подвижности, а также модулирует ангиогенез и метастазирование [4, 5].

Основным постулируемым признаком ракового перерождения клеток с 1920-х гг. считается перепрограммирование энергетического метаболизма клеток, в результате которого раковые клетки демонстрируют высокую скорость ферментативного гликолиза даже в присутствии достаточного количества кислорода (эффект Варбурга), что приводит к повышенному продуцированию лактата и генерации избыточного количества протонов в цитозоле [6]. Однако, так как понижение pH ведет к ингибированию ферментов, участвующих в гликолизе, что потенциально может снижать метаболическую активность клеток и ограничивать их пролиферацию, в опухолевых клетках происходят изменения адаптивного характера, направленные на регуляцию внутриклеточного pH посредством активного транспорта лактата и протонов во внеклеточное пространство [7, 8, 9]. Из транспортеров плазматической мембраны наибольшее значение для поддержания цитозольного pH гомеостаза имеют монокарбоксилатные транспортеры (MCT1 и MCT4), обеспечивающие транспорт лактата, Na⁺/H⁺ антипортер, натрий-зависимый и независимый HCO₃⁻/Cl⁻ антипортеры, H⁺/лактат котранспортер и V-АТФаза (или вакуолярная АТФаза). При этом было показано, что в злокачественных клетках уровень экспрессии и/или активности этих транспортеров часто бывает повышен [8, 9]. Кроме того, в регуляцию внутриклеточного pH вносят вклад лизосомальные V-АТФазы, NHE и Cl⁻/H⁺ антипортер, активность которых также направлена на подщелачивание цитозоля [10]. В результате в опухолевых структурах возникает градиент pH, характерный для развития данной патологии и отличающий активно пролиферирующие опухолевые клетки от незлокачественных тканей. Так, в норме внутриклеточный pH поддерживается в диапазоне от 6,9 до 7,2, а внеклеточный – от 7,2 до 7,4, тогда как в клетках опухоли наблюдается подщелачивание цитозоля (pH от 7,2 до 7,7) с одновременным подкислением внеклеточного пространства (pH от 6,2 до 7,1) [4, 11]. В совокупности данные изменения влияют на скорость размножения клеток, их способность к выживанию (позволяя избегать индукцию апоптоза и ингибировать противоопухолевые иммунные эффекторы), а также опосредуют возможность их метастатического распространения [8, 10, 11]. Кроме того, закисление внеклеточного пространства является одним из механизмов, при помощи которых раковые

клетки влияют на состав и функцию ассоциированной с опухолью стромы [8].

Ранее было продемонстрировано, что инкубация макрофагов и фибробластов при слабокислом pH (~6,5) приводит к перераспределению лизосом из центра организации микротрубочек к периферии клетки [12]. Подобное перемещение лизосом, сопровождающееся секрецией лизосомальных протеаз катепсинов, наблюдается в норме у клеток, участвующих в инвазивных процессах, например, у остеокластов при резорбции костей, у тучных клеток и эозинофилов при защите от паразитов, у сперматозоидов во время оплодотворения, а также у меланоцитов в процессе пигментации [13]. Однако было доказано, что подобные процессы происходят также в опухолевых клетках различного происхождения, а именно в клетках молочной железы, лёгких, толстого кишечника, предстательной железы [14–17], что определяет их способность к деградации матрикса, составляющего каркас микроокружения, и, соответственно, к направленной инвазии, сопряжённой со злокачественным прогрессированием [17, 18].

Изучение перераспределения LAMP1 и LAMP2, высокогликозилированных трансмембранных лизосомальных белков, в плазматическую мембрану позволило утверждать, что выход катепсинов во внеклеточное пространство сопровождается слиянием мембран и, соответственно, происходит путём лизосом-опосредованного экзоцитоза [19]. Кроме того, так как высокое содержание LAMP2 в мембранах этих органелл связано, предположительно, с адаптацией к низкому pH и защитой мембраны от деградации, транслокация этого белка в плазмалемму также может предотвращать повреждение мембранных компонентов [19].

Однако перемещение лизосом к периферической области клетки не приводит к высвобождению во внеклеточное пространство всего разнообразия лизосомальных ферментов, что может объясняться гетерогенностью популяции этих органелл и различиями в составе протеаз [4]. Отчасти присутствие в клетках двух и более популяций лизосом подтверждается особенностями процесса репарации плазматической мембраны, при котором транспорт лизосом к периферии сопровождается секрецией сначала цистеиновых катепсинов В и L, непосредственно вовлечённых в восстановление мембраны, а затем катепсина D, аспарагиновой протеазы, подавляющей этот процесс [20]. Подобная гетерогенность была также продемонстрирована на клетках рака молочной железы человека, когда закисление среды приводило к миграции в направлении плазматической мембраны трёх популяций лизосом, различающихся по составу протеаз. Экспериментально были идентифицированы органеллы, содержащих только катепсин В или только катепсин D, а также лизосомы, в просвете которых иммуноцитохимически подтверждалось наличие обоих этих катепсинов [21].

Кроме того, в исследованиях была продемонстрирована роль факторов роста в создании градиента pH и связанными с ним метаболическими изменениями опухолевых клеток. Так, воздействие эпидермальным и гепатоцитарным факторами роста приводило к NHE-зависимому закислению внеклеточного пространства и перемещению лизосом по направлению к клеточной мембране, опосредованному активацией MAPK сигналь-

ного пути или сигналинга, зависящего от активности фосфоинозитид-3-киназы (phosphoinositide-3-kinase, PI3K) и RhoA ГТФазы [16, 17].

Ещё одним следствием закисления внеклеточного пространства является появление у опухолевых клеток инвадоподий, высокодинамичных богатых актином и лизосомальными структурами мембранных выростов, обладающих перичеллюлярной протеолитической активностью и имеющих особое значение для процесса метастазирования [22]. Известно, что данные структуры, характерные для высокоинвазивных раковых клеток, аналогичны подосомам незлокачественных клеток, которые в норме играют ключевую роль в таких процессах, как резорбция костного матрикса остеокластами, деградация внеклеточного матрикса и перемещение по направлению к кровотоку кровеносных клеток, миграция стволовых клеток во время эмбриогенеза и постнатального развития, ангиогенез и ремоделирование сосудистой системы, развитие нейронов, вращение аксонов моторных нейронов в периферическую ткань миотома и созревание постсинаптической мембраны [22, 23]. В то же время исследования, проведённые на трансформированных фибробластах [24], а также на клетках рака молочной железы, предстательной железы, на клетках аденокарциномы толстой и прямой кишки [4, 17, 18, 25], позволили продемонстрировать, что высокая протеолитическая активность инвадоподий также опосредуется pH-зависимым внутриклеточным транспортом лизосом, ассоциированным с секрецией катепсинов. При этом основную роль в изменении pH микроокружения играет функционирование NHE-1 [17], локализованного преимущественно в области формирования инвадоподий и обеспечивающего транспорт протонов из цитозоля во внеклеточное пространство. Высокий уровень активности и сверхэкспрессия этого антипортера были продемонстрированы на раковых клетках шейки матки и молочной железы, на клетках гепатоцеллюлярной карциномы и глиомы [22, 23].

Изучение процесса формирования инвадоподий у культивируемых адгезивных клеток показало, что при выращивании 2D-культуры эти структуры локализуются, как правило, на вентральной стороне, тогда как при культивировании на 3D-матрицах они наблюдаются по всей поверхности клетки. Количество и частота образования как инвадоподий, так и подосом, как было показано, зависят от свойств внеклеточного матрикса, его состава и ригидности [23]. Несмотря на сходство в строении и функционировании были описаны отличия в морфологии данных структур у опухолевых и нормальных клеток. В частности, инвадоподии по сравнению с подосомами являются более крупными образованиями, глубоко погруженными во внеклеточный матрикс. Ядро инвадоподий, как и ядро подосом, состоит из F-актиновых филаментов, но без опоясывающего кольца интегринов, характерного для последних. Кроме того, инвадоподии являются более стабильными и долгоживущими образованиями, однако их количество на одной клетке значительно уступает количеству подосом (примерно в 100 раз) [26]. Перечисленные различия являются определяющими для функциональных особенностей, то есть протеолитической активности: большое количество более равномерно распределённых короткоживущих подосом обеспечивает неглубокий лизис внеклеточного

матрикса, не имеющий определённого направления, тогда как деградация матрикса инвадоподиями характеризуется строгой направленностью и значительной глубиной воздействия [26].

Известно четыре основных класса протеаз, секретируемых клетками в области формирования инвадоподий или независимо от этих структур [4, 23, 27]. К первому классу относятся цинк-зависимые матриксные металлопротеиназы и ADAM-протеазы. Во второй, более разнородный класс, входят сериновые протеазы, объединяющие внеклеточные растворимые ферменты (uPA), трансмембранные протеазы (TMPRSS11D; hepsin; matriptase-2; corin), а также сериновые протеазы лизосомального происхождения (катепсины А и G). Третий класс составляют лизосомальные цистеиновые катепсины, представленные у человека одиннадцатью различными белками. К четвёртому классу относятся лизосомальные аспарагиновые протеазы, к которым причисляют катепсины D и E [4, 23, 27].

ЛИЗОСОМАЛЬНЫЕ ЦИСТЕИНОВЫЕ КАТЕПСИНЫ

Опухолевые ткани в целом демонстрируют более высокую протеолитическую активность, связанную, вероятно, с нарушением регуляции ферментов как на транскрипционном, так и на посттрансляционном уровнях (ускорение активации зимогенов или пространственное разобщение протеаз с ингибиторами), что было продемонстрировано на резецированных фрагментах саркомы мягких тканей и на клетках рака молочной железы [27]. Однако в большей степени внимание учёных привлекает внеклеточная протеолитическая активность опухолевых клеток, опосредующая их способность к метастазированию. Несмотря на то, что наиболее известными ферментами, влияющими на степень инвазивности клеток, традиционно считаются внеклеточные растворимые матриксные металлопротеиназы MMP2 и MMP9, сериновая протеаза uPA, а также трансмембранная ADAM-протеаза MT1-MMP, в последние десятилетия появляется всё больше доказательств того, что протеазы лизосомального происхождения также играют значимую роль в формировании у клеток злокачественного фенотипа [23, 27]. При этом наиболее изученным классом лизосомальных ферментов, участвующих в деградации компонентов внеклеточного матрикса, являются цистеиновые катепсины [28, 29, 30].

Цистеиновые катепсины относятся к семейству C1A папаиноподобных протеолитических ферментов и представлены преимущественно мономерными белками с молекулярной массой 20–35 кДа и цистеин-гистидиновой парой в активном центре, образованном двумя доменами. Исключением является тетрамерный катепсин С с молекулярной массой 200 кДа [29, 30]. Большинство катепсинов функционируют в качестве эндопептидаз и обладают широкой субстратной специфичностью с предпочтительным расщеплением после основных и гидрофобных остатков. Однако некоторые представители семейства также проявляют экзопептидазную активность, например, катепсины В и Х являются карбоксипептидазами, катепсины С и Н – аминопептидазами. Катепсин В наряду с экзопептидазной активностью может проявлять свойства эндопептидазы при нейтральном pH [27, 31], что определяет универсальность этого фермента. В частности, он может компенсиро-

вывать в клетках полную утрату активности катепсина Z, но не наоборот [29, 31].

Семь представителей этого семейства, а именно катепсины В, С, F, H, L, О и X/Z/P, экспрессируются повсеместно во всех тканях млекопитающих, тогда как экспрессия катепсинов J, K, C, V и W является тканеспецифичной. Так, катепсин К присутствует в остеокластах и синовиальных фибробластах, катепсин S преимущественно обнаружен в антигенпрезентирующих клетках, катепсин V – в тимусе и семенниках, а катепсин W – в CD8⁺ лимфоцитах и NK-клетках [28, 29]. Однако появляется всё больше сообщений о высокой внеклеточной активности некоторых катепсинов, ранее считавшихся тканеспецифичными, в опухолевых тканях различного происхождения [31, 32].

Все катепсины синтезируются в виде проферментов, их активация является pH-зависимой и происходит как правило в кислой среде, впоследствии активность катепсинов регулируется уровнем pH, компартментализацией и присутствием эндогенных белковых ингибиторов [27, 30, 31]. Оптимальная активность цистеиновых протеаз наблюдается в кислых и слабокислых условиях pH, при этом все катепсины, за исключением катепсинов В и S, при нейтральном pH необратимо инактивируются. Несмотря на то, что pH микроокружения опухоли является слабокислым (6,2–7,1), в отличие от сильнокислого лизосомального pH (4–5), он считается достаточным для поддержания целостности и активности лизосомальных ферментов. Кроме того, предполагается, что некоторые компоненты внеклеточного матрикса, такие как гликозаминогликаны (например, хондроитинсульфат), могут стабилизировать активность катепсинов в условиях pH, отличных от оптимальных [30, 31].

Изначально активность катепсинов связывали исключительно с неспецифической, зависимой от кислого pH деградацией белка в лизосомах. Однако впоследствии стало ясно, что функции этих ферментов в клетке не ограничиваются лизосомальным компартментом. Так, катепсины были обнаружены в ядре, где они участвуют в деградации факторов транскрипции, а также в цитозоле, где они способствуют индукции апоптоза [27, 31]. Внеклеточная активность цистеиновых протеаз, приводящая к локальной деструкции внеклеточного матрикса, активно изучается в рамках исследований, посвящённых патогенезу онкологических, сердечно-сосудистых заболеваний, воспалительных и иммунных нарушений, а также заболеваний костей и суставов [28, 30].

Хотя присутствие цистеиновых протеаз во внеклеточном компартменте было описано в физиологических условиях, так как катепсины вовлечены в процессы заживления ран, ремоделирования костной ткани и активации прогормонов, высокий уровень их внеклеточной активности, который является результатом дерегуляции транскрипции, активации и/или локализации протеаз, считается диагностическим маркером, часто коррелирующим с плохим прогнозом для онкологических больных [28, 33]. В целом повышенный уровень экспрессии и/или внеклеточной активности одного или нескольких цистеиновых катепсинов, ассоциированный с прогрессированием опухоли, был продемонстрирован при раке молочной железы, меланоме, раке желудка, раке поджелудочной и предстательной желез [39], гепатоцеллюлярном раке, колоректальном раке и раке яичников [34–41].

Кроме того, было обнаружено, что катепсины высоко экспрессируются и могут секретироваться не только раковыми клетками, но и клетками микроокружения, например, ассоциированными с опухолью макрофагами, миофибробластами, эндотелиальными клетками неоваскуляризации, что также ассоциировано с процессами инвазии, ангиогенеза, некроза или воспаления [15, 33, 34, 42]. В данном случае предполагается, что секреция катепсинов клетками стромы индуцируется аутокринными и паракринными сигналами, в частности интерлейкинами [28].

Высокая экспрессия и/или внеклеточная активность катепсина К, функционирование которого ранее связывали исключительно с ремоделированием костной ткани, была продемонстрирована в клетках миелогенной гигантоклеточной опухоли, хондросаркомы, почечных и внепочечных периваскулярных эпителиоидно-клеточных опухолей, альвеолярной саркомы мягких тканей, а также при раке лёгких, щитовидной, молочной и предстательной желёз, меланоме и немеланомном раке кожи, раке шейки матки, почек, желудка и мультиформной глиобластоме. Более того, было доказано, что катепсин К является одной из пяти наиболее высоко экспрессируемых на уровне мРНК и белка протеаз в клетках глиобластомы [31, 32]. Развитие как сарком, так и карцином, сопровождающееся высокой внеклеточной активностью катепсина К, в большинстве известных случаев было связано с повышенной способностью клеток к инвазии, в том числе в костные ткани, которое может сопровождаться активацией остеокластов или происходить независимо от него (например, при меланоме) [32].

Среди лизосомальных цистеиновых протеаз наиболее распространённой в тканях млекопитающих и наиболее подробно изученной является катепсин В. Повышение уровня внеклеточной активности этой лизосомальной протеазы было зарегистрировано в клетках рака толстой кишки, печени, молочной и предстательной желёз, аденокарциномы пищевода, глиомы, рака лёгких человека [17, 18, 43, 44]. В то же время в нескольких исследованиях была продемонстрирована взаимозависимость между активностью данного катепсина и метастатическим потенциалом клеток. Например, на трёх клеточных линиях (клетках меланомы мыши, опухолевых клетках молочной железы человека и клетках колоректальной карциномы человека) было показано, что зависимость от закисления и транспорта лизосом способность клеток секретировать катепсин В была различной у выбранных линий и зависела от исходной злокачественности культуры [14]. Кроме того, на клетках рака молочной железы было продемонстрировано, что применение специфических ингибиторов катепсины В и S приводит к снижению их способности к инвазивному распространению на 65 % [29, 44].

После секреции катепсины могут либо оставаться связанными с плазматической мембраной, что играет ключевую роль в защите протеаз от инактивации под воздействием неблагоприятных условий среды, либо переходить в растворимую форму и взаимодействовать с молекулами внеклеточного матрикса [29]. При ассоциации с плазматической мембраной катепсины, как правило, ко-локализуются с мембранными интегринными (катепсины S и X) либо с тетрамерами аннексина II и с сайтами расположения caveол на клеточной поверхности

(катепсин В). При этом было показано, что мембраносвязанные формы не только более устойчивы, но их количество может служить прогностическим признаком. Например, наличие таких ассоциированных с плазмолеммой катепсинов при колоректальном раке коррелирует с плохой выживаемостью [30].

Внеклеточные субстраты цистеиновых катепсинов многочисленны, так как они участвуют в ремоделировании матрикса практически во всех тканях, что определяет их роль не только в онкогенезе, но и в патогенезе других заболеваний. Так, почти все цистеиновые катепсины расщепляют коллагены I и II типов, при этом катепсин К способен расщеплять коллагены в области телопептида [30]. Катепсины К, S и V участвуют в деградации эластина, однако наиболее высокая эластолитическая активность продемонстрирована у катепсина V. Ещё одним субстратом катепсинов L и S является коллаген XVIII типа, который может служить источником эндостатина, подавляющего ангиогенез. Также хорошо изучена активность катепсинов в отношении белков базальной мембраны. Например, катепсин S участвует в деградации нидогена-1, а катепсины В, L и S расщепляют фибронектин и ламинин, при этом в результате протеолитической активности катепсина S образуется фрагмент с проангиогенными эффектами [28–31]. Кроме того, было показано, что катепсины играют ключевую роль в ремоделировании матрикса специализированных тканей. Так, одним из идентифицированных субстратов катепсина В является тенасцин-С, гликопротеин внеклеточного матрикса в центральной нервной системе, протеолиз которого приводит к проангиогенному эффекту при глиоме. Катепсины В, L, S и К расщепляют агрекан, протеогликан матрикса хрящевой ткани [28, 29, 30], тогда как основной характеристикой катепсина К является способность деградировать компоненты костного матрикса, периостин и остеонектин, лизис которых опосредует метастазированию в костную ткань, как было показано при раке молочной и предстательной желёз [29, 30, 32].

Помимо непосредственного вклада в деградацию внеклеточного матрикса катепсины участвуют в протеолитической активации других ферментов, также вовлечённых в этот процесс. Например, катепсины В и L катализируют расщепление аспарагинового прокатепсина D с образованием зрелой формы [45]. Катепсин В может участвовать в активации uPA, который в свою очередь активирует прокатепсин В с формированием петли положительной обратной связи [23, 29]. Таким образом, функционирование цистеиновых катепсинов, зависимое от кислого pH микроокружения, инициирует каскадную протеолитическую активность, направленную на деградацию внеклеточного матрикса и обеспечивающую высокий миграционный потенциал опухолевых клеток.

ЛИЗОСОМАЛЬНЫЕ СЕРИНОВЫЕ ПРОТЕАЗЫ

Сериновые протеазы, характеризующиеся наличием консервативного серинового остатка в составе каталитического центра, являются наиболее многочисленной и разнородной группой протеаз, принадлежащих 40 семействам. Известно, что большая часть описанных ферментов данной группы относится к эндопептидазам и участвует в деградации внеклеточного матрикса при физиологических и патологических состояниях [46].

Katепсин А является многофункциональным глико-протеином семейства S10, обладающим карбоксипептидазной активностью в кислых условиях среды и дезамидазной и эстеразной активностями при нейтральном pH. Предпочтительными субстратами для пептидазной активности фермента являются субстраты с гидрофобными аминокислотными остатками на С-конце [47, 48, 49]. Известно, что данный катепсин широко распространён в тканях млекопитающих, демонстрируя более высокую экспрессию в эндотелиоцитах, в клетках дистальных канальцев и собирательных трубочек, эпителиальных клетках лёгких, клетках печени, в крупных нейронах, в антигенпрезентирующих клетках, а также в клетках плаценты. Кроме того, известно, что катепсин А секретируется в плазму крови тромбоцитами и лимфоцитами [47, 48, 50]. Функции данной протеазы связаны преимущественно с внутрилизосомальной активностью, однако есть сведения о её секреции во внеклеточное пространство, хотя данных, подтверждающих её участие в деградации внеклеточного матрикса, нет [48, 49, 50].

Тем не менее сообщалось о высокой активности катепсина А в лизатах первичных и метастатических очагов злокачественной меланомы, при этом однако не было установлено, какие именно клетки были источниками данной активности – меланоциты или ассоциированные с опухолью кератиноциты, фибробласты и/или лейкоциты [47]. Также была продемонстрирована связь между более высоким уровнем экспрессии катепсина А и метастазированием в печень при колоректальном раке [49], тогда как снижение экспрессии данного катепсина приводило к подавлению способности клеток к миграции и инвазии как при колоректальном раке [49], так и при аденокарциноме лёгких [48]. Кроме того, при помощи протеомного анализа было продемонстрировано повышение количества данного катепсина в крови пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой, в связи с чем авторами было предложено считать катепсин А наряду с альдо-кеторедуктазой AKR1B10 потенциальным сывороточным биомаркером для диагностики данного заболевания [51]. Диагностическое и прогностическое значение катепсина А было также подтверждено при исследовании рака молочной железы, при котором высокая экспрессия данной протеазы была связана не только с плохим прогнозом, но и с более коротким безрецидивным потенциалом [50].

Kатепсин G является гликопротеином с протеазной активностью и относится к суперсемейству химотрипсинов. Он обнаружен в эндоцитарных компартментах моноцитов, В-клеток, миелоидных и плазматцитоидных дендритных клеток, кортикальных тимических эпителиальных клеток человека, в микроглии мыши, но не экспрессируется в линиях В-лимфобластоидных клеток, моноцитарных дендритных клеток и в фибробластных клеточных линиях. Однако было показано, что секретированный катепсин G может быть интернализован в эндоцитарные компартменты клеток, неэкспрессирующих его, в том числе в эндосомы опухолевых клеток, что может вызывать изменения в их метаболизме [52, 53]. Данная сериновая протеаза синтезируется в виде неактивного предшественника, которому для преобразования в зрелую форму необходима активность цистеинового катепсина С [53]. Экспериментально было определено, что при нейтральных значениях pH данный катепсин активен в отношении фибриллярных коллагенов I, II и III типов,

коллагена IV типа, эластина, ламинина, фибронектина и агрекана [52, 54].

Связь между высокой активностью катепсина G и развитием опухоли была описана при изучении немелкоклеточного рака лёгких и рака молочной железы [54, 55, 56]. В обоих случаях источником активности сериновой протеазы были нейтрофилы, рекрутированные в опухолевую ткань и активно взаимодействующие со злокачественными клетками. При этом катепсин G обнаруживался в этих клетках в основном в азурофильных гранулах до процесса дегрануляции [46, 53]. Несмотря на то, что рекрутирование в опухолевые очаги нейтрофилов описано во многих исследованиях [4, 8, 57], их роль в развитии злокачественного образования до сих пор считается неоднозначной. С одной стороны, данные клетки могут обладать противоопухолевой активностью, продуцируя цитокины, хемокины и активные формы кислорода, вызывающие элиминацию раковых клеток. Такие нейтрофилы принято относить к клеткам N1-подобного фенотипа. С другой стороны, клетки, предположительно принадлежащие к типу N2-подобных нейтрофилов, напротив, способствуют прогрессированию опухоли, секретируют протеазы, хемокины, обеспечивающие рекрутирование в опухолевую ткань других клеток, а также различные факторы, влияющие на способность клеток к миграции, инвазии и ангиогенезу [57]. В связи с этим присутствие в опухоли инфильтрованных нейтрофилов, ассоциированных с протеолитической активностью, является фактором, предрасполагающим к формированию злокачественного фенотипа.

Исследование активности катепсина G при немелкоклеточном раке лёгких показало, что уровень активности данной протеазы в ткани зависел от вида рака и степени его злокачественности. Так, наиболее высокая активность наблюдалась в клетках аденокарциномы, ниже активность была в клетках плоскоклеточного рака и наиболее низкий уровень активности данного катепсина был обнаружен в клетках при крупноклеточном раке [55]. Кроме того, активность сериновой протеазы напрямую коррелировала с количеством нейтрофилов, ассоциированных с опухолью, и зависела от степени дифференциации опухоли и клинической стадии заболевания [55].

На культуре аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 была продемонстрирована не связанная напрямую с ремоделированием внеклеточного матрикса роль катепсина G в метастазировании опухоли [54, 56]. Было показано, что данная протеаза индуцирует Е-кадгерин-опосредованную агрегацию опухолевых клеток, необходимую для выхода из первичного опухолевого очага и диссеминации в кровеносных сосудах и лимфатических узлах. При этом было выявлено, что агрегация опухолевых клеток, приводящая к формированию сфероидов, опосредуется связыванием катепсина G с клеточной поверхностью и требует его ферментативной активности [54, 56]. Кроме того, было продемонстрировано, что данная протеаза участвует в метастазировании костной ткани при раке молочной железы, протеолитически активируя зимоген MMP9 с образованием активной формы фермента. MMP9 в свою очередь обеспечивает активацию TGF- β , который, являясь митогеном, способствует росту опухоли и хемоаттракции опухолевых клеток, индуцирует активацию остеокластов, а, следовательно, и резорбцию костной ткани [58].

Помимо MMP9 катепсин G может участвовать в протеолитической активации зимогенов MMP2 [59] и uPA [60], а также в инактивации эндогенных ингибиторов протеиназ, например, $\alpha 2$ -антиплазмина, $\alpha 1$ -антихимотрипсина и TIMP [59]. Так, протеолитическая активность катепсина, связанная с активацией ферментов, была описана при изучении патогенеза рака мочевого пузыря. В данной работе повышение количества катепсина G в моче пациентов авторы связывали, с одной стороны, с его каталитической активностью в отношении компонентов внеклеточного матрикса (коллагена, ламининов), а с другой – с активацией uPA и MMP2, содержание которых в моче пациентов также было повышено [61].

Таким образом несмотря на то, что роль катепсина G в деградации матрикса давно известна, подобную активность связывают как правило с развитием таких заболеваний, как ревматоидный артрит, заболевания лёгких и сердечно-сосудистой системы [46, 53], тогда как вклад данной сериновой протеазы в онкогенез заключается в основном в протеолитической активации других молекул, опосредующих метаболические изменения в опухолевых тканях и модулирующих их метастатический потенциал [54, 55, 56].

ЛИЗОСОМАЛЬНЫЕ АСПАРАГИНОВЫЕ ПРОТЕИНАЗЫ

К этому семейству относятся пищеварительные ферменты (пепсин и химозин), ренин, а также лизосомальные катепсины D и E, характеризующиеся наличием двух остатков аспарагиновой кислоты в каталитических центрах. Несмотря на то, что катепсины D и E являются гомологичными, выполняемые ими функции в клетках, по-видимому, значительно различаются как при физиологических, так и при патологических условиях. При этом роль катепсина D в онкогенезе и, в частности, в метастазировании и деградации внеклеточного матрикса активно исследуется [62, 63]. Однако, что касается катепсина E, никаких сведений о секреции этой протеазы, а также о её возможной роли в расщеплении матричных белков не сообщалось [64, 65].

Катепсин D является растворимой аспарагиновой эндопептидазой, функционирование которой в нормальных клетках связано преимущественно с внутрилизосомальной ферментативной активностью [66]. В отличие от других известных лизосомальных катепсинов созревание данной протеиназы является многостадийным процессом, при этом функциональное значение в физиологических и патологических процессах имеет не только конечная активная форма. Известно, что синтез неактивного препрокатепсина D (43 кДа) происходит в гранулярном эндоплазматическом ретикулуме, в котором этот белок расщепляется и гликозилируется с образованием прокатепсина D (52 кДа), содержащего два присоединённых с N-конца олигосахарида, модифицированных остатками маннозо-6-фосфата. Олигосахаридная метка обеспечивает дальнейшее направление неактивного прокатепсина D в кислые компартменты клетки, такие как поздние эндосомы, лизосомы и фагосомы. При низком pH происходит диссоциация данного белка с M6PR и расщепление пропептида с образованием одноцепочечной промежуточной активной формы фермента (48 кДа). Последующее расщепление приводит к формированию зрелой активной лизосомальной протеазы, состоящей

из тяжёлой (34 кДа) и лёгкой (14 кДа) цепей, связанных нековалентными взаимодействиями. Последние два этапа созревания являются зависимыми от значения pH и происходят либо аутокаталитически, либо под действием цистеиновых катепсинов внутри кислых компартментов, а также, предположительно, во внеклеточной среде [63, 66]. Однако при некоторых физиологических и патологических состояниях наблюдается секреция клетками незрелой формы белка, а именно прокатепсина D. Такая форма катепсина была обнаружена в молоке человека, крысы и коровы, в поте и моче здоровых людей, богатых макрофагами областях атеросклеротических поражений, в синовиальной жидкости в норме и при развитии воспалительных заболеваний [66]. Кроме того, при изучении патогенеза различных онкологических заболеваний наиболее часто регистрируемой секретируемой формой протеиназы является именно прокатепсин D, что может быть связано как с нарушением внутривезикулярной сортировки проферментов и насыщением ограниченного числа сайтов связывания M6PR в сочетании со сверхэкспрессией катепсина, так и с изменением pH в клеточных компартментах или регуляцией через различные сигнальные пути [62, 67, 68].

Функции прокатепсина D, выполняемые во внеклеточном пространстве, остаются спорными. Некоторые исследователи предполагают, что неактивная форма фермента может участвовать в паракринном взаимодействии между опухолевыми клетками и клетками стромы, а также стимулировать активную пролиферацию клеток независимо от протеолитической активности, выполняя функцию митогена [69, 70]. В то же время было показано, что прокатепсин D может транспортироваться посредством эндоцитоза как в опухолевые клетки, так и в ассоциированные с опухолью фибробласты с последующим созреванием во внутриклеточных компартментах до активной протеазы [69].

Катепсин D экспрессируется во всех тканях млекопитающих, его активность необходима для нормального внутриутробного развития плода, а её снижение связано с развитием нейродегенеративных нарушений. Хотя оптимальным pH для зрелой формы катепсина D считается кислый (pH 2,8–5,5), есть сведения о протеолитической активности этого фермента при нейтральном pH в цитозоле апоптотических клеток, а также при нейтральном или слабокислом pH внеклеточного пространства [62, 66, 68].

Повышение уровня мРНК, белка и/или секреции как прокатепсина D, так и зрелой формы во внеклеточную среду было продемонстрировано при различных видах онкологических заболеваний: злокачественной глиоме, плоскоклеточном раке, раке щитовидной железы, меланоме, при раке молочной железы, раке яичников, аденокарциноме эндометрия, остеосаркоме, немелкоклеточном раке лёгких, раке желудка, колоректальном раке, раке предстательной железы и других видах рака [62, 68, 71–76]. При этом исследования с применением различных методологических подходов (иммуногистохимия, гибридизация *in situ*, Вестерн блоттинг) показали, что, например, при раке молочной железы экспрессия катепсина D в опухолевых клетках в 2–50 раз выше, чем в нормальных клетках молочной железы или в фибробластах [67].

Как и в случае цистеиновых катепсинов, количество данной протеиназы, в том числе секретируемой

клетками, непосредственно влияет на метастатический и ангиогенный потенциал опухолевых клеток [71]. Кроме того, было доказано, что секреция прокатепсина D не только усиливает пролиферацию опухолевых клеток, но и снижает их чувствительность к химиотерапевтическим агентам [77].

Однако соотношение неактивной и активной форм и их вклад в злокачественность опухоли существенно различаются в зависимости от вида рака и от поражённого органа. Например, на трёх клеточных линиях рака предстательной железы человека (PC-3, DU-145 и LNCaP) было показано, что зрелая форма катепсина D преобладала в всех трёх линиях, тогда как незрелый прокатепсин обнаруживалась в основном в нормальной ткани. Воздействие на опухолевые клетки антибиотика брелфедина A, подавляющего их пролиферацию, авторы также связывали с блокированием созревания или активации зрелой формы катепсина D [62]. В то же время известно, что в некоторых клеточных линиях рака молочной железы уровень секретируемого прокатепсина D может достигать 90 % [67].

Ряд исследований продемонстрировал непосредственное влияние катепсина D, секретируемого стромальными клетками, рекрутированными в опухолевую ткань (фибробластами, макрофагами), на размер опухоли, её инвазивность и агрессивность [62, 75–78]. Активная экспрессия данной протеиназы стромальными клетками является прогностическим признаком в отношении выживаемости пациента и риска возникновения рецидива [76]. Кроме того, с плохим прогнозом для пациентов связано повышение уровня экспрессии и активности данного катепсина в метастатических очагах или в лимфатических узлах [62].

Несмотря на то, что связь между повышением уровня экспрессии и секреции катепсина D и злокачественностью опухоли была прослежена для многих видов онкологических заболеваний, механизм, посредством которого данная протеаза модулирует свойства опухоли, и его связь с протеолитической активностью остаются неясными. И хотя было выявлено, что при кислом pH катепсин D деградирует пептиды, состоящие по меньшей мере из пяти L-аминокислот и содержащие в месте расщепления гидрофобные остатки, при этом расщепление идёт преимущественно по –Phe–Phe–, –Leu–Tyr–, –Tyr–Leu– и –Phe–Tyr– связям [63], физиологические субстраты данной протеазы до сих пор неизвестны. Данное обстоятельство существенно осложняет определение вклада катепсина D в деградацию внеклеточного матрикса. Однако в пользу внеклеточной протеолитической активности данного фермента свидетельствуют результаты исследований, в которых было показано, что при метастазировании аденокарциномы толстого кишечника в печень повышение активности катепсинов B и D наблюдалось на границе инвазии стволовых клеток опухоли [74]. В другом исследовании было продемонстрировано, что уровень экспрессии катепсина D значительно выше в клетках из инвазивной области опухоли и в метастазах в печени, чем клетках из основного тела опухоли [79].

Хотя роль секретируемого катепсина D в ремоделировании внеклеточного матрикса остаётся спорной, была доказана его протеолитическая активность в отношении компонентов матрикса внутри клеток. Исследования культур опухолевых клеток молочной железы

(MDA-MB231) показали присутствие в высокоинвазивных клетках так называемых крупных кислых везикул (large acidic vesicles, LAV), содержащих высокие концентрации активного катепсина D [80]. В отличие от лизосом и поздних эндосом LAV характеризуются более крупными размерами (≥ 5 мкм в диаметре) и гораздо более кислым pH (от 1,0 до 1,5), чем у лизосом (pH ~5). Везикулы с подобными свойствами были обнаружены не только в культивируемых клетках, но и в биоптатах рака молочной железы [78], что подтверждает, что данные структуры возникают *in vivo*, а не являются артефактом, вызванным инкубацией клеток на искусственных матрицах. При этом были получены доказательства того, что присутствие и количество этих структур в опухолевых клетках коррелировало с их способностью к инвазии. Так, исходная клеточная популяция содержала 7 % LAV-позитивных клеток, тогда как после миграции через Матригель процент клеток, содержащих LAV (от 1 до 10), увеличился до 28 % [80]. Авторы предложили считать эти везикулы крупными гетерофагосомами, так как они содержали внеклеточный материал, несмотря на то что образование подобных структур считается исключительным признаком клеток, выполняющих специализированные фагоцитарные функции, таких как макрофаги, моноциты и нейтрофилы. Кроме того, pH описанных везикул был значительно ниже, чем pH фагосом и лизосом фагоцитарных клеток [80]. Ещё одной отмеченной особенностью LAV является их высокий деградирующий потенциал: флуоресцентный декстран накапливался в крупных кислых везикулах в течение 20 минут, тогда как для достижения лизосом классическим эндосомальным путём требовалось от 1 до 24 часов в зависимости от клеточной линии [80]. Авторы предположили, что данные структуры, формирующиеся в клетках в процессе инвазии, могут играть ключевую роль в обеспечении клеток питательными веществами на последних этапах метастазирования, при вторжении опухолевых клеток в ткани, удалённые от первичного очага распространения [80].

Как и в случае других катепсинов, данная протеаза может запускать протеолитический каскад, приводящий к деградации внеклеточного матрикса, посредством активации прокатепсина B и/или обеспечивая расщепление ингибиторов цистеиновых протеаз цистатинов [67].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Множество исследований, посвященных изучению патогенеза онкологических заболеваний, подтвердили, что лизосомы являются динамичными компартментами, изменяющими в зависимости от условий клеточного микроокружения свою локализацию, функциональную направленность и состав. При этом наблюдаемые преобразования сопряжены с метаболическими (переход на гликолитический тип энергетического обмена) и морфологическими (формирование инвадоподий) изменениями, происходящими в клетках в процессе онкогенеза. В то же время лизосомы, являясь источниками цистеиновых, сериновых и аргининовых катепсинов, непосредственно участвующих в деградации белков внеклеточного матрикса или запускающих протеолитические каскады посредством активации других протеаз (MMP, uPA), опосредуют прогрессирование роста и метастазирование раковых клеток. Секретируемые во внеклеточную среду опухолевыми или ассоциированными с опухолью

клетками лизосомальные ферменты, наиболее изученными из которых являются катепсины В, К и D, считаются прогностическими маркерами, количество и активность которых сопряжены со злокачественностью и агрессивностью опухолевого процесса, а также с плохим прогнозом по выживаемости пациентов и возможности возникновения рецидивов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ballabio A, Bonifacino JS. Lysosomes as dynamic regulators of cell and organismal homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020; 21: 101-118. doi: 10.1038/s41580-019-0185-4
2. Lawrence RE, Zoncu R. The lysosome as a cellular centre for signalling, metabolism and quality control. *Nat Cell Biol.* 2019; 21(2): 133-142. doi: 10.1038/s41556-018-0244-7
3. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell.* 2011; 144(5): 646-674. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013
4. Ji K, Mayernik L, Moin K, Sloane BF. Acidosis and proteolysis in the tumor microenvironment. *Cancer Metastasis Rev.* 2019; 38(1-2): 103-112. doi: 10.1007/s10555-019-09796-3
5. Pavlova NN, Thompson CB. The emerging hallmarks of cancer metabolism. *Cell Metab.* 2016; 23(1): 27-47. doi: 10.1016/j.cmet.2015.12.006
6. Warburg O. The metabolism of carcinoma cells. *Cancer Research.* 1925; 9(1): 148-163. doi: 10.1158/jcr.1925.148
7. Pascale RM, Calvisi DF, Simile MM, Feo CF, Feo F. The Warburg effect 97 years after its discovery. *Cancers (Basel).* 2020; 12(10): 2819. doi: 10.3390/cancers12102819
8. Boedtker E, Pedersen SF. The acidic tumor microenvironment as a driver of cancer. *Annu Rev Physiol.* 2020; 82: 103-126. doi: 10.1146/annurev-physiol-021119-034627
9. Parks SK, Mueller-Klieser W, Pouyssegur J. Lactate and acidity in the cancer microenvironment. *Annu Rev Cancer Biol.* 2020; 4: 141-158. doi: 10.1146/annurev-cancerbio-030419-033556
10. Ko M, Quiñones-Hinojosa A, Rao R. Emerging links between endosomal pH and cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2020; 39(2): 519-534. doi: 10.1007/s10555-020-09870-1
11. White KA, Grillo-Hill BK, Barber DL. Cancer cell behaviors mediated by dysregulated pH dynamics at a glance. *J Cell Sci.* 2017; 130(4): 663-669. doi: 10.1242/jcs.195297
12. Heuser J. Changes in lysosome shape and distribution correlated with changes in cytoplasmic pH. *J Cell Biol.* 1989; 108(3): 855-864. doi: 10.1083/jcb.108.3.855
13. Settembre C, Fraldi A, Medina DL, Ballabio A. Signals from the lysosome: a control centre for cellular clearance and energy metabolism. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2013; 14(5): 283-296. doi: 10.1038/nrm3565
14. Rozhin J, Sameni M, Ziegler G, Sloane BF. Pericellular pH affects distribution and secretion of cathepsin B in malignant cells. *Cancer Res.* 1994; 54(24): 6517-6525.
15. Hazen LG, Bleeker FE, Lauritzen B, Bahns S, Song J, Jonker A, et al. Comparative localization of cathepsin B protein and activity in colorectal cancer. *J Histochem Cytochem.* 2000; 48(10): 1421-1430. doi: 10.1177/002215540004801012
16. Dykes SS, Steffan JJ, Cardelli JA. Lysosome trafficking is necessary for EGF-driven invasion and is regulated by p38 MAPK and Na⁺/H⁺ exchangers. *BMC Cancer.* 2017; 17(1): 672. doi: 10.1186/s12885-017-3660-3
17. Steffan JJ, Williams BC, Welbourne T, Cardelli JA. HGF-induced invasion by prostate tumor cells requires anterograde lysosome trafficking and activity of Na⁺-H⁺ exchangers. *J Cell Sci.* 2010; 123(Pt 7): 1151-1159. doi: 10.1242/jcs.063644
18. Glunde K, Guggino SE, Solaiyappan M, Pathak AP, Ichikawa Y, Bhujwalla ZM. Extracellular acidification alters lysosomal trafficking in human breast cancer cells. *Neoplasia.* 2003; 5(6): 533-545. doi: 10.1016/s1476-5586(03)80037-4
19. Damaghi M, Tafreshi NK, Lloyd MC, Sprung R, Estrella V, Wojtkowiak JW, et al. Chronic acidosis in the tumour microenvironment selects for overexpression of LAMP2 in the plasma membrane. *Nat Commun.* 2015; 6: 8752. doi: 10.1038/ncomms9752
20. Castro-Gomes T, Corrotte M, Tam C, Andrews NW. Plasma membrane repair is regulated extracellularly by proteases released from lysosomes. *PLoS One.* 2016; 11(3): e0152583. doi: 10.1371/journal.pone.0152583
21. Sameni M, Elliott E, Ziegler G, Fortgens PH, Dennison C, Sloane BF. Cathepsin B and D are localized at the surface of human breast cancer cells. *Pathol Oncol Res.* 1995; 1(1): 43-53. doi: 10.1007/BF02893583
22. Paterson EK, Courtneidge SA. Invadosomes are coming: new insights into function and disease relevance. *FEBS J.* 2018; 285(1): 8-27. doi: 10.1111/febs.14123
23. Brisson L, Reshkin SJ, Goré J, Roger S. pH regulators in invadosomal functioning: Proton delivery for matrix tasting. *Eur J Cell Biol.* 2012; 91(11-12): 847-860. doi: 10.1016/j.ejcb.2012.04.004
24. Tu C, Ortega-Cava CF, Chen G, Fernandes ND, Cavallo-Medved D, Sloane BF, et al. Lysosomal cathepsin B participates in the podosome-mediated extracellular matrix degradation and invasion via secreted lysosomes in v-Src fibroblasts. *Cancer Res.* 2008; 68(22): 9147-9156. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5127
25. Kryczka J, Papiewska-Pajak I, Kowalska MA, Boncela J. Cathepsin B is upregulated and mediates ECM degradation in colon adenocarcinoma HT29 cells overexpressing snail. *Cells.* 2019; 8(3): 203. doi: 10.3390/cells8030203
26. Linder S, Wiesner C, Himmel M. Degrading devices: Invadosomes in proteolytic cell invasion. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2011; 27: 185-211. doi: 10.1146/annurev-cellbio-092910-154216
27. Vasiljeva O, Hostetter DR, Moore SJ, Winter MB. The multifaceted roles of tumor-associated proteases and harnessing their activity for prodrug activation. *Biol Chem.* 2019; 400(8): 965-977. doi: 10.1515/hsz-2018-0451
28. Kramer L, Turk D, Turk B. The future of cysteine cathepsins in disease management. *Trends Pharmacol Sci.* 2017; 38(10): 873-898. doi: 10.1016/j.tips.2017.06.003
29. Vizovišek M, Fonović M, Turk B. Cysteine cathepsins in extracellular matrix remodeling: Extracellular matrix degradation and beyond. *Matrix Biol.* 2019; 75-76: 141-159. doi: 10.1016/j.matbio.2018.01.024
30. Vidak E, Javoršek U, Vizovišek M, Turk B. Cysteine cathepsins and their extracellular roles: Shaping the microenvironment. *Cells.* 2019; 8(3): 264. doi: 10.3390/cells8030264
31. Yadati T, Houben T, Bitorina A, Shiri-Sverdlov R. The ins and outs of cathepsins: Physiological function and role in disease management. *Cells.* 2020; 9(7): 1679. doi: 10.3390/cells9071679
32. Verbovšek U, Van Noorden CJ, Lah TT. Complexity of cancer protease biology: Cathepsin K expression and function in cancer progression. *Semin Cancer Biol.* 2015; 35: 71-84. doi: 10.1016/j.semcancer.2015.08.010
33. Lah TT, Cercek M, Blejec A, Kos J, Gorodetsky E, Somers R, et al. Cathepsin B, a prognostic indicator in lymph node-negative breast carcinoma patients: comparison with cathepsin D, cathepsin L, and other clinical indicators. *Clin Cancer Res.* 2000; 6(2): 578-584.
34. Gocheva V, Wang HW, Gadea BB, Shree T, Hunter KE, Garfall AL, et al. IL-4 induces cathepsin protease activity in tumor-associated macrophages to promote cancer growth and invasion. *Genes Dev.* 2010; 24(3): 241-255. doi: 10.1101/gad.1874010
35. Tripathi R, Fiore LS, Richards DL, Yang Y, Liu J, Wang C, et al. ABL and Arg mediate cysteine cathepsin secretion to facilitate melanoma invasion and metastasis. *Sci Signal.* 2018; 11(518): eaao0422. doi: 10.1126/scisignal.aao0422
36. Chen S, Dong H, Yang S, Guo H. Cathepsins in digestive cancers. *Oncotarget.* 2017; 8(25): 41690-41700. doi: 10.18632/oncotarget.16677
37. da Costa AC, Santa-Cruz F, Mattos LAR, Rêgo Aquino MA, Martins CR, Bandeira Ferraz AA, et al. Cathepsin S as a target in gastric cancer. *Mol Clin Oncol.* 2020; 12(2): 99-103. doi: 10.3892/mco.2019.1958
38. Singh N, Saraya A. Roles of cathepsins in pancreatic cancer. *Trop Gastroenterol.* 2016; 37(2): 77-85.

39. Fernández PL, Farré X, Nadal A, Fernández E, Peiró N, Sloane BF, et al. Expression of cathepsins B and S in the progression of prostate carcinoma. *Int J Cancer*. 2001; 95(1): 51-55. doi: 10.1002/1097-0215(20010120)95:1<51::aid-ijc1009>3.0.co;2-j
40. Wang J, Chen L, Li Y, Guan XY. Overexpression of cathepsin Z contributes to tumor metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma. *PLoS One*. 2011; 6(9): e24967. doi: 10.1371/journal.pone.0024967
41. Kuester D, Lippert H, Roessner A, Krueger S. The cathepsin family and their role in colorectal cancer. *Pathol Res Pract*. 2008; 204(7): 491-500. doi: 10.1016/j.prp.2008.04.010
42. Hölzen L, Parigiani MA, Reinheckel T. Tumor cell- and microenvironment-specific roles of cysteine cathepsins in mouse models of human cancers. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*. 2020; 1868(7): 140423. doi: 10.1016/j.bbapap.2020.140423
43. Maacha S, Hong J, von Lersner A, Zijlstra A, Belkhir A. AXL mediates esophageal adenocarcinoma cell invasion through regulation of extracellular acidification and lysosome trafficking. *Neoplasia*. 2018; 20(10): 1008-1022. doi: 10.1016/j.neo.2018.08.005
44. Mijanović O, Branković A, Panin AN, Savchuk S, Timashev P, Ulasov I, et al. Cathepsin B: A sellsword of cancer progression. *Cancer Lett*. 2019; 449: 207-214. doi: 10.1016/j.canlet.2019.02.035
45. Liaudet-Coopman E, Beaujoui M, Derocq D, Garcia M, Glondou-Lassis M, Laurent-Matha V, et al. Cathepsin D: Newly discovered functions of a long-standing aspartic protease in cancer and apoptosis. *Cancer Lett*. 2006; 237(2): 167-179. doi: 10.1016/j.canlet.2005.06.007
46. Korkmaz B, Horwitz MS, Jenne DE, Gauthier F. Neutrophil elastase, proteinase 3, and cathepsin G as therapeutic targets in human diseases. *Pharmacol Rev*. 2010; 62(4): 726-759. doi: 10.1124/pr.110.002733
47. Kozłowski L, Wojtkiewicz MZ, Ostrowska H. Cathepsin A activity in primary and metastatic human melanocytic tumors. *Arch Dermatol Res*. 2000; 292(2-3): 68-71. doi: 10.1007/s004030050012
48. Hu B, Zhu X, Lu J. Cathepsin A knockdown decreases the proliferation and invasion of A549 lung adenocarcinoma cells. *Mol Med Rep*. 2020; 21(6): 2553-2559. doi: 10.3892/mmr.2020.11068
49. Ni S, Weng W, Xu M, Wang Q, Tan C, Sun H, et al. miR-106b-5p inhibits the invasion and metastasis of colorectal cancer by targeting CTSA. *Onco Targets Ther*. 2018; 11: 3835-3845. doi: 10.2147/OTT.S122887
50. Toss MS, Miligy IM, Haj-Ahmad R, Gorringer KL, Alkawaz A, Mittal K, et al. The prognostic significance of lysosomal protective protein (cathepsin A) in breast ductal carcinoma in situ. *Histopathology*. 2019; 74(7): 1025-1035. doi: 10.1111/his.13835
51. Du Z, Liu X, Wei X, Luo H, Li P, Shi M, et al. Quantitative proteomics identifies a plasma multi-protein model for detection of hepatocellular carcinoma. *Sci Rep*. 2020; 10(1): 15552. doi: 10.1038/s41598-020-72510-9
52. Burster T, Macmillan H, Hou T, Boehm BO, Mellins ED. Cathepsin G: Roles in antigen presentation and beyond. *Mol Immunol*. 2010; 47(4): 658-665. doi: 10.1016/j.molimm.2009.10.003
53. Gao S, Zuo H, Zuo X, Luo H. Cathepsin G and its role in inflammation and autoimmune diseases. *Arch Rheumatol*. 2018; 33(4): 498-504. doi: 10.5606/ArchRheumatol.2018.6595
54. Yui S, Osawa Y, Ichisugi T, Morimoto-Kamata R. Neutrophil cathepsin G, but not elastase, induces aggregation of MCF-7 mammary carcinoma cells by a protease activity-dependent cell-oriented mechanism. *Mediators Inflamm*. 2014; 2014: 971409. doi: 10.1155/2014/971409
55. Maksimowicz T, Chyczewska E, Chyczewski L, Nikliński J, Ostrowska H, Szyszko J, et al. Activity and tissue localization of cathepsin G in non-small cell lung cancer. *Rocz Akad Med Białymst*. 1997; 42(Suppl 1): 199-216.
56. Morimoto-Kamata R, Mizoguchi S, Ichisugi T, Yui S. Cathepsin G induces cell aggregation of human breast cancer MCF-7 cells via a 2-step mechanism: Catalytic site-independent binding to the cell surface and enzymatic activity-dependent induction of the cell aggregation. *Mediators Inflamm*. 2012; 2012: 456462. doi: 10.1155/2012/456462
57. Kim J, Bae JS. Tumor-associated macrophages and neutrophils in tumor microenvironment. *Mediators Inflamm*. 2016; 2016: 6058147. doi: 10.1155/2016/6058147
58. Wilson TJ, Nannuru KC, Singh RK. Cathepsin G-mediated activation of pro-matrix metalloproteinase 9 at the tumor-bone interface promotes transforming growth factor-beta signaling and bone destruction. *Mol Cancer Res*. 2009; 7(8): 1224-1233. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-09-0028
59. Shamamian P, Schwartz JD, Pocock BJ, Monea S, Whiting D, Marcus SG, et al. Activation of progelatinase A (MMP-2) by neutrophil elastase, cathepsin G, and proteinase-3: A role for inflammatory cells in tumor invasion and angiogenesis. *J Cell Physiol*. 2001; 189(2): 197-206. doi: 10.1002/jcp.10014
60. Drag B, Petersen LC. Activation of pro-urokinase by cathepsin G in the presence of glucosaminoglycans. *Fibrinolysis*. 1994; 8: 192-199.
61. Bastos P, Magalhães S, Santos LL, Ferreira R, Vitorino R. The role of urinary proteases in bladder cancer. In: Chakraborti S, Dhallan N. *Pathophysiological aspects of proteases*. Singapore: Springer; 2017. doi: 10.1007/978-981-10-6141-7_4
62. Leto G, Tumminello FM, Crescimanno M, Flandina C, Gebbia N. Cathepsin D expression levels in nongynecological solid tumors: Clinical and therapeutic implications. *Clin Exp Metastasis*. 2004; 21(2): 91-106. doi: 10.1023/b:clin.0000024740.44602.b7
63. Masson O, Bach AS, Derocq D, Prébois C, Laurent-Matha V, Pattingre S, et al. Pathophysiological functions of cathepsin D: Targeting its catalytic activity versus its protein binding activity? *Biochimie*. 2010; 92(11): 1635-1643. doi: 10.1016/j.biochi.2010.05.009
64. O'Donoghue AJ, Ivry SL, Chaudhury C, Hostetter DR, Hanahan D, Craik CS. Procathepsin E is highly abundant but minimally active in pancreatic ductal adenocarcinoma tumors. *Biol Chem*. 2016; 397(9): 871-881. doi: 10.1515/hsz-2016-0138
65. Pontious C, Kaul S, Hong M, Hart PA, Krishna SG, Lara LF, et al. Cathepsin E expression and activity: Role in the detection and treatment of pancreatic cancer. *Pancreatology*. 2019; 19(7): 951-956. doi: 10.1016/j.pan.2019.09.009
66. Benes P, Vetvicka V, Fusek M. Cathepsin D – many functions of one aspartic protease. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2008; 68(1): 12-28. doi: 10.1016/j.critrevonc.2008.02.008
67. Garcia M, Platet N, Liaudet E, Laurent V, Derocq D, Brouillet JP, et al. Biological and clinical significance of cathepsin D in breast cancer metastasis. *Stem Cells*. 1996; 14(6): 642-650. doi: 10.1002/stem.140642
68. Pranjal ZI, Whatmore JL. Cathepsin D in the tumor microenvironment of breast and ovarian cancers. *Adv Exp Med Biol*. 2020; 1259: 1-16. doi: 10.1007/978-3-030-43093-1_1
69. Laurent-Matha V, Maruani-Herrmann S, Prébois C, Beaujoui M, Glondou M, Noël A, et al. Catalytically inactive human cathepsin D triggers fibroblast invasive growth. *J Cell Biol*. 2005; 168(3): 489-499. doi: 10.1083/jcb.200403078
70. Vetvicka V, Vetvickova J, Fusek M. Role of procathepsin D activation peptide in prostate cancer growth. *Prostate*. 2000; 44(1): 1-7. doi: 10.1002/1097-0045(20000615)44:1<1::aid-pros1>3.0.co;2-4
71. Yang L, Cui M, Zhang L, Song L. FOXM1 facilitates gastric cancer cell migration and invasion by inducing cathepsin D. *Oncotarget*. 2017; 8(40): 68180-68190. doi: 10.18632/oncotarget.19254
72. Kang J, Yu Y, Jeong S, Lee H, Heo HJ, Park JJ, et al. Prognostic role of high cathepsin D expression in breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Ther Adv Med Oncol*. 2020; 12: 1758835920927838. doi: 10.1177/1758835920927838
73. Gemoll T, Epping F, Heinrich L, Fritzsche B, Roblick UJ, Szymczak S, et al. Increased cathepsin D protein expression is a biomarker for osteosarcomas, pulmonary metastases and other bone malignancies. *Oncotarget*. 2015; 6(18): 16517-16526. doi: 10.18632/oncotarget.4140
74. Mehrotra S, Wickremesekera SK, Brasch HD, Van Schaijk B, Marsh RW, Tan ST, et al. Expression and localization of cathepsins B, D and G in cancer stem cells in liver metastasis from

colon adenocarcinoma. *Front Surg.* 2018; 5: 40. doi: 10.3389/fsurg.2018.00040

75. Basu S, Cheriyaundath S, Gavert N, Brabletz T, Haase G, Ben-Ze'ev A. Increased expression of cathepsin D is required for L1-mediated colon cancer progression. *Oncotarget.* 2019; 10(50): 5217-5228. doi: 10.18632/oncotarget.27155

76. Pruitt FL, He Y, Franco OE, Jiang M, Cates JM, Hayward SW. Cathepsin D acts as an essential mediator to promote malignancy of benign prostatic epithelium. *Prostate.* 2013; 73(5): 476-488. doi: 10.1002/pros.22589. Epub 2012 Sep 19

77. Osmak M, Nikšić D, Brozović A, Ristov AA, Vrhovec I, Skrk J. Drug resistant tumor cells have increased levels of tumor markers for invasion and metastasis. *Anticancer Res.* 1999; 19(4B): 3193-3197.

78. Roger P, Montcourrier P, Maudelonde T, Brouillet JP, Pages A, Laffargue F, et al. Cathepsin D immunostaining in paraffin-embedded breast cancer cells and macrophages: Correlation with cytosolic assay. *Hum Pathol.* 1994; 25(9): 863-871. doi: 10.1016/0046-8177(94)90004-3

79. Kirana C, Shi H, Laing E, Hood K, Miller R, Bethwaite P, et al. Cathepsin D expression in colorectal cancer: From proteomic discovery through validation using Western blotting, immunohistochemistry, and tissue microarrays. *Int J Proteomics.* 2012; 2012: 245819. doi: 10.1155/2012/245819

80. Montcourrier P, Mangeat PH, Valembois C, Salazar G, Sahuquet A, Duperray C, et al. Characterization of very acidic phagosomes in breast cancer cells and their association with invasion. *J Cell Sci.* 1994; 107(Pt 9): 2381-2391.

Сведения об авторах

Трухан Ирина Сергеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: predel4@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0270-404X>

Дремина Наталия Николаевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: drema76@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2540-4525>

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

Information about the authors

Irina S. Trukhan – Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Officer, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: PREDEL4@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0270-404X>

Nataliya N. Dremina – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: drema76@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2540-4525>

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

Статья получена: 17.11.2020. Статья принята: 26.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 17.11.2020. Accepted: 26.11.2020. Published: 26.12.2020.

МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ MICROBIOLOGY AND VIROLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.10

Идентификация возбудителей инфекционных заболеваний при совместном использовании бактериологической диагностики и MALDI Biotyper*

Воропаева Н.М., Белькова Н.Л., Немченко У.М., Григорова Е.В., Кунгурцева Е.А.,
Носкова О.А., Чemezova Н.Н., Савилов Е.Д.

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

Автор, ответственный за переписку: Воропаева Наталья Михайловна, e-mail: n.m.shabanova@mail.ru

Резюме

В многопрофильных стационарах имеются условия, способствующие возникновению инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи: высокая концентрация лиц со сниженным иммунитетом на ограниченной территории, наличие значительного числа источников инфекции (больных и носителей), изменение биоценоза слизистых оболочек и кожных покровов у пациентов и медицинского персонала под влиянием широкого применения антибиотиков и цитостатиков.

Цель исследования состояла в сопоставлении стандартизированных бактериологических алгоритмов и системы MALDI Biotyper в микробиологической диагностике возбудителей инфекций на примере заболеваний, связанных с оказанием медицинской помощи.

Материалы и методы. Обследовано 78 пациентов детского многопрофильного стационара регионального уровня (г. Иркутск) в 2018–2019 гг. Возраст больных составил от 1 года до 15 лет. Материалом для исследования служили кровь, мокрота, смывы с трахеобронхиального дерева, зева, носа, раневое отделяемое, жидкость брюшной полости, ликвор и смывы с объектов окружающей среды. Идентификацию выделенных культур (78 штаммов бактерий) осуществляли общепринятыми бактериологическими методами, а также с использованием системы MALDI Biotyper.

Результаты и обсуждения. В структуре инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, лидирующие позиции занимал вид *Pseudomonas aeruginosa*. Стандартизированными бактериологическими методами удалось идентифицировать не все изоляты микроорганизмов. Более надёжной стала идентификация штаммов с характерными проявлениями физиолого-биохимических признаков. Трудности идентификации возникали при наличии атипичных свойств микроорганизмов, когда использование MALDI Biotyper имело решающее значение.

Заключение. Для проведения надёжной диагностики возбудителей инфекций необходимо применять комплексный подход, включающий стандартизированные бактериологические методы и методы идентификации микроорганизмов с помощью масс-спектрометрии на последующих этапах.

Ключевые слова: бактериологическая диагностика, масс-спектрометрия, инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, неферментирующие микроорганизмы, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Klebsiella pneumoniae*

Для цитирования: Воропаева Н.М., Белькова Н.Л., Немченко У.М., Григорова Е.В., Кунгурцева Е.А., Носкова О.А., Чemezova Н.Н., Савилов Е.Д. Идентификация возбудителей инфекционных заболеваний при совместном использовании бактериологической диагностики и MALDI Biotyper. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 88-94. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.10.

Identification of Infectious Diseases Patterns in the Combined Use of Bacteriological Diagnostics and MALDI Biotyper

Voropaeva N.M., Belkova N.L., Nemchenko U.M., Grigorova E.V., Kungurtseva E.A.,
Noskova O.A., Chemezova N.N., Savilov E.D.

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

Corresponding author: Natalya M. Voropaeva, e-mail: n.m.shabanova@mail.ru

Abstract

In multidisciplinary hospitals, there are conditions conducive to the emergence of healthcare-associated infections: high concentration of people with reduced immunity in a limited area, the presence of a significant number of sources of contagion (patients and carriers), a change in the biocenosis of the mucous membranes and skin of patients and medical personnel under the influence of widespread use of antibiotics and cytostatics.

* Статья опубликована по материалам доклада на IV Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 16 октября 2020 года).

The aim of the research was in the intercomparison of the standardized bacteriological algorithms and the MALDI Biotyper system in the microbiological diagnosis of pathogens as illustrated by the healthcare-associated diseases.

Materials and methods. Seventy-eight patients of a multidisciplinary hospital of a regional level (Irkutsk) in 2018–2019 were examined. The age of patients ranged from 1 to 15 years. The material for the study was blood, sputum, swabs from the tracheobronchial tree, throat, nose, wound, abdominal fluid, cerebrospinal fluid, and swabs from environmental objects. Identification of the isolated cultures (78 bacterial strains) was carried out using generally accepted bacteriological methods, as well as using the MALDI Biotyper system.

Results and discussions. In the structure of healthcare-associated infections, *Pseudomonas aeruginosa* occupied a leading position. Not all isolates of microorganisms were identified by standardized bacteriological methods. The identification of strains with characteristic manifestations of physiological and biochemical characteristics was more reliable. Identification difficulties arose in the presence of atypical properties of microorganisms when the use of MALDI Biotyper would be crucial.

Conclusion. It is necessary to apply an integrated approach to conduct reliable diagnostics of pathogens. It includes standardized bacteriological methods and methods for identifying microorganisms using mass spectrometry in the subsequent stages.

Key words: bacteriological diagnostic, mass spectrometry, healthcare-associated infections, non-fermentative microorganisms, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Klebsiella pneumoniae*

For citation: Voropaeva N.M., Belkova N.L., Nemchenko U.M., Grigorova E.V., Kungurtseva E.A., Noskova O.A., Chemezova N.N., Savilov E.D. Identification of Infectious Diseases Patterns in the Combined Use of Bacteriological Diagnostics and MALDI Biotyper. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 88-94. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.10

ВВЕДЕНИЕ

Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), – одна из актуальных проблем здравоохранения, затрагивающая все страны вне зависимости от степени их экономического развития [1]. По результатам зарубежных исследований, ИСМП в среднем поражают от 5 до 15 % госпитализированных пациентов, а в отделениях высокого риска этот показатель достигает 40 % [2]. В Российской Федерации ежегодно регистрируется 24–30 тысяч случаев ИСМП (в среднем 0,8 на 1000 пациентов). Однако по данным выборочных исследований эти инфекции возникают у 6–8 % пациентов, и их истинное число составляет не менее двух миллионов в год, а риск летального исхода возрастает в 5–7 раз [3]. Результаты отечественных исследований показали, что большинство госпитальных штаммов обладает способностью продуцировать биоплёнку. Это может способствовать их повышенной устойчивости и сопровождаться увеличением заболеваемости внутрибольничными инфекциями [4, 5, 6]. Основой эффективных лечебно-профилактических мероприятий является быстрая и качественная идентификация возбудителя.

Стандартизированная диагностика, используемая в клинических лабораториях, включает в себя фенотипические, бактериологические и биохимические методы, в том числе реализованные в виде автоматизированных систем. И хотя некоторые из этих методов успешно применяются для экспресс-диагностики, большинство из них зависит от скорости роста микроорганизмов, в частности, при исследовании их биохимических свойств [7]. Существующие алгоритмы микробиологической диагностики, основанные на культивировании микробов на питательных средах, достаточно информативны, но не всегда отвечают запросам современной клинической медицины и эпидемиологии. Серьёзным недостатком этих методов является длительность выполнения, что может приводить к несвоевременной постановке диагноза и задержке назначения антибактериальной терапии, тем самым увеличивая вероятность негативных исходов заболевания [8]. Возникает необходимость внедрения новых диагностических технологий, которые могли бы обеспечить высокую скорость (не более нескольких часов), большую производительность, достаточную чувствительность и экономическую доступность клиничко-микробиологи-

ческого анализа. Основные технологии идентификации, отвечающие перечисленным требованиям, реализуются на основе нескольких подходов – иммунохимических реакций, гибридизации, секвенирования нового поколения, масс-спектрометрии (МС). Тем не менее, у каждого из перечисленных способов помимо своих преимуществ имеются и недостатки [9].

В современных бактериологических лабораториях для идентификации микроорганизмов используется система MALDI Biotyper. Это быстрый и рентабельный метод, реализованный на базе масс-спектрометра с времяпролетным (TOF) масс-анализатором и источником ионизации MALDI [7, 10]. Основным достижением МС-технологии является быстрота и надёжность идентификации большинства актуальных для медицины видов микроорганизмов, которая проводится не только для чистых культур, но и для мономикробного биологического материала. Перспективы МС связаны с разработкой и внедрением в практику внутривидового определения клинически/эпидемиологически значимых штаммов и оценки их свойств, включая вирулентность и резистентность. Главные проблемы микробиологической МС-технологии связаны с трудностями идентификации микроорганизмов в смешанных культурах (включая биологический материал) и с отсутствием стандартных критериев МС-оценки резистентности микробов [11].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сопоставление стандартизированных бактериологических алгоритмов и системы MALDI Biotyper в микробиологической диагностике возбудителей инфекций на примере заболеваний, связанных с оказанием медицинской помощи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материал и объекты исследования. Использованные в работе штаммы были получены от 78 пациентов с тяжёлыми инфекционными заболеваниями (сепсис, острый гематогенный остеомиелит, перитонит, пневмония), находившихся на лечении в отделении реанимации и интенсивной терапии детского многопрофильного стационара регионального уровня (г. Иркутск) в период с 2018 по 2019 гг. Возраст больных составил от 1 года до 15 лет. Материалом для исследования служили кровь

(7 образцов), мокрота (13) смывы с трахеобронхиального дерева (7), зева (23), носа (6), раневое отделяемое (3), жидкость брюшной полости (2), моча (6), вентрикулярный ликвор (2). Также были взяты смывы с объектов окружающей среды (9 образцов): отделение кардиологии – рабочий стол, кран, полка шкафа; онкологическое отделение – подушка в боксе, обеденный стол в боксе; соматическая палата – аппарат ИВЛ, стена у раковины; послеоперационная палата – край раковины; отделение нефрологии – диализная трубка. На идентификацию были взяты 78 штаммов, которые показали множественную устойчивость к антибактериальным препаратам.

Бактериологическую идентификацию выбранных штаммов осуществляли с использованием стандартизированных бактериологических алгоритмов, с учётом морфологических, культуральных и биохимических свойств. Дополнительно в некоторых случаях использовали автоматический бактериологический анализатор Vitek.

Идентификация культур с помощью масс-спектрометрии. После выделения чистой культуры изоляты выращивали 24 часа при температуре 37 °С. Экстракцию белков исследуемых бактерий проводили по стандартному операционному протоколу, рекомендованному компанией Bruker Daltonics для проведения MALDI-TOF прямого белкового профилирования неспорообразующих микроорганизмов. Масс-спектрометрический анализ проводили на приборе ultrafleXtreme (Bruker Daltonics, Германия), оснащённом

Nd:YAG-лазером (355 нм) в линейном режиме в диапазоне от 2000 до 20 000 Th, детектировали положительно заряженные ионы, при следующих настройках ионного источника: напряжение на IS1 – 25 кВ, IS2 – 21,75 кВ. Сбор спектров осуществляли в ручном или автоматическом режиме. В качестве калибровочного стандарта использовали бактериальный калибровочный стандарт Bruker (BTS), содержащий типичный профиль пептидов и белков штамма *Escherichia coli* DH5α с дополнительными белками (PHКаза A [M+H]⁺13683.2 Da, Myoglobin [M+H]⁺16952.3).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам идентификации стандартизированным бактериологическим методом и с использованием системы MALDI Biotyper 78 изолятов были отнесены к 14 видам. Из всех исследованных образцов наиболее часто выделяли представителей семейства *Enterobacteriaceae* (39 изолятов), 34 изолята были отнесены к грамотрицательным неферментирующим бактериям, в единичных случаях высевали *Staphylococcus aureus* (2 изолята), *Lysinibacillus fusiformis* (1) и *Bacillus cereus* group (1) (табл. 1).

Среди представителей неферментирующих микроорганизмов доминировали *P. aeruginosa* (20 изолятов) с типичным фенотипом, которые были идентифицированы как бактериологическим методом, так и с помощью системы MALDI Biotyper. Идентификация большинства изолятов синегнойной палочки бактериологическими

Идентификация микроорганизмов, выделенных от пациентов с тяжёлыми инфекционными заболеваниями и с поверхностей внутрибольничных объектов бактериологическими методами и MALDI Biotyper

Таблица 1

Identification of microorganisms isolated from patients with severe infectious diseases and the surfaces of nosocomial objects by bacteriological methods and MALDI Biotyper

Table 1

Результаты идентификации		Локус	Количество образцов
MALDI Biotyper	Бактериологические методы		
<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. aeruginosa</i>	слизистая зева, мокрота, раневое отделяемое, ТБД, ликвор, моча, поверхности	20
<i>S. maltophilia</i>	<i>S. maltophilia</i>	слизистая зева, слизистая носа, мокрота, кровь	5
<i>S. maltophilia</i>	ННФ	слизистая зева, слизистая носа, мокрота, ТБД, поверхность	7
<i>A. baumannii</i>	<i>A. baumannii</i>	мокрота	1
Нет идентификации	<i>Acinetobacter</i> spp.	кровь	1
<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>	слизистая зева, мокрота, ТБД, кровь, моча, поверхности	17
<i>K. aerogenes</i>	<i>K. aerogenes</i>	слизистая зева, слизистая носа	2
<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i>	слизистая зева, ТБД, моча, брюшная полость	4
<i>S. marcescens</i>	лактозоотрицательные колонии	брюшная полость, мокрота, слизистая носа, поверхность	4
<i>E. cloacae</i>	лактозоотрицательные колонии	слизистая зева, слизистая носа, поверхность	7
<i>Enterobacter hormaechei</i>	лактозоотрицательные колонии	раневое отдел	1
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella</i> spp.	слизистая зева	2
<i>K. oxytoca</i>	<i>Klebsiella</i> spp.	ТБД	1
<i>C. amalonaticus</i>	лактозоотрицательные колонии	поверхность	1
<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	поверхность, слизистая носа	2
<i>L. fusiformis</i>	грамположительные бактерии	кровь	2
<i>B. cereus</i> group	грамположительные бактерии	кровь	1

Примечание. ННФ – неидентифицируемые неферментирующие микроорганизмы; ТБД – трахеобронхиальное дерево.

методами не составляет трудностей при присутствии таких свойств, как наличие пигмента, положительный тест на оксидазу, характерный земляничный запах, рост при температуре 42 °C и на цетримидном агаре. Трудности определения возникают в случаях выделения *P. aeruginosa* с атипичными свойствами – без запаха и пигмента.

Другой представитель неферментирующих бактерий – *S. maltophilia* – был идентифицирован в пяти случаях двумя методами, а в семи – только с помощью системы MALDI Biotyper. Согласно бактериологической идентификации штаммы были охарактеризованы как неидентифицированные неферментирующие микроорганизмы. Представителей рода *Acinetobacter* выделяли дважды, при этом для *A. baumannii* идентификация совпала обоими методами. В то же время штамм, изолированный из образца крови и охарактеризованный только до рода бактериологическими методами как *Acinetobacter* spp., определить с помощью системы MALDI Biotyper не удалось. Можно полагать, что данный вид не являлся клинически значимым и его белковый профиль отсутствует в базе данных MALDI Biotyper, либо в исследовании была получена смесь близких видов *Acinetobacter* spp., идентифицировать которую также затруднительно.

К представителям семейства *Enterobacteriaceae* отнесены 39 изолятов. Идентификация *K. pneumoniae* (17 изолятов), *K. aerogenes* (2) и *E. coli* (4) совпала двумя методами (16 изолятов), в то время как с определением таксономического положения 13 изолятов возникли трудности. Эти культуры были охарактеризованы только на уровне семейства *Enterobacteriaceae* как грамотрицательные лактозоотрицательные бактерии. После идентификации данных изолятов с использованием системы MALDI Biotyper они были определены как *S. marcescens* (4 изолята), *E. cloacae* (7), *E. hormaechei* (1), *C. amalonaticus* (1). Ещё три

изолята были охарактеризованы только определением родовой принадлежности и отнесены к *Klebsiella* spp. С использованием системы MALDI Biotyper данные изоляты были идентифицированы как *K. pneumoniae* (2 изолята) и *K. oxytoca* (1 изолят).

Структура грамположительных бактерий представлена пятью изолятами, два из которых были идентифицированы как *S. aureus*. Идентификация данного вида не составила труда, как при применении бактериологических методов, так и при использовании MALDI Biotyper. Штаммы *Lysinibacillus fusiformis* (2 изолята) и *Bacillus cereus* group (1 изолят) высевали из крови. Идентифицировать данные виды удалось только при помощи системы MALDI Biotyper.

Таким образом, в структуре внутрибольничных инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи в детском многопрофильном стационаре регионального уровня, лидирующие позиции занимает *P. aeruginosa* (табл. 2). Идентификация данного вида не составляла трудностей ни в случае применения стандартизированных бактериологических методов, ни при использовании системы MALDI Biotyper.

P. aeruginosa – один из наиболее значимых возбудителей нозокомиальных инфекций [12]. Возможности терапии заболеваний, вызываемых этим патогеном, существенно ограничены из-за широкого спектра его природной резистентности, а также способности к формированию приобретённой устойчивости к антимикробным препаратам. Кроме того, их природную активность ограничивает наличие у *P. aeruginosa* механизма активного выведения липофильных антибиотиков из цитоплазмы – выброса (efflux pump). Инфекции, вызванные синегнойной палочкой, представляют серьёзную проблему для стационара любого профиля [13].

Другой представитель неферментирующих грамотрицательных бактерий, выделенный в качестве возбу-

Сравнение методов идентификации возбудителей инфекций

Таблица 2

Table 2

Comparison of methods for pathogen identification

Микроорганизм	Методы идентификации		Общее количество образцов
	Бактериологические	MALDI Biotyper	
<i>P. aeruginosa</i>	20 (100 %)	20 (100 %)	20
<i>S. maltophilia</i>	5 (41,7 %)	12 (100 %)	12
<i>A. baumannii</i>	1 (100 %)	1 (100 %)	1
<i>K. pneumoniae</i>	16 (88,9 %)	18 (100 %)	18
<i>K. oxytoca</i>	0	1 (100 %)	1
<i>K. aerogenes</i>	2 (100 %)	2 (100 %)	2
<i>E. coli</i>	4 (100 %)	4 (100 %)	4
<i>S. marcescens</i>	1 (25 %)	4 (100 %)	4
<i>E. cloacae</i>	0	7 (100 %)	7
<i>E. hormaechei</i>	0	1 (100 %)	1
<i>C. amalonaticus</i>	0	1 (100 %)	1
<i>S. aureus</i>	2 (100 %)	2 (100 %)	2
<i>L. fusiformis</i>	0	1 (100 %)	1
<i>L. sphaericus</i>	0	1 (100 %)	1
<i>B. cereus</i> group	0	1 (100 %)	1

дителя ИСМП, был *S. maltophilia*. Идентифицировать этот микроорганизм классическими бактериологическими методами удалось менее чем у 50 % изолятов. Данный вид патогена в 2017 г. был выделен в качестве этиологического агента наравне с другими классическими возбудителями, тогда как ранее он упоминался только как оппортунистический вид. *S. maltophilia* достаточно широко распространён в окружающей среде и у здоровых людей в составе микробиоты верхних дыхательных путей [7]. По-видимому, активное применение цефалоспоринов последних поколений и стало причиной появления множественной лекарственной устойчивости у этого вида, что способствовало его проявлению в качестве возбудителя ИСМП [14].

Бактерии семейства *Enterobacteriaceae* также часто регистрируются в качестве возбудителей внутрибольничных инфекций [15]. Второе место после *P. aeruginosa* занимает *K. pneumoniae*. Идентифицировать данный вид классическими бактериологическими методами удалось в 88,9 % случаев. В последние десятилетия отмечается значительный рост заболеваний, вызываемых условно-патогенными микроорганизмами, в т. ч. *K. pneumoniae*. Этот вид входит в группу наиболее распространённых патогенов с высоким уровнем устойчивости, которую IDSA (Infectious Diseases Society of America) обозначило как «ESKAPE-патогены» (*Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp.). Возбудители ESKAPE являются наиболее важными причинами кризиса антибиотикорезистентности. Именно поэтому *K. pneumoniae* отнесены ВОЗ к группе возбудителей с «критически высоким уровнем приоритетности» [16, 17]. Реальной проблемой в течение последних нескольких лет являются штаммы *K. pneumoniae*, вырабатывающие металло-бета-лактамазы (карбапенемазы) [18]. Карбапенемаза-продуцирующие штаммы *K. pneumoniae* устойчивы почти ко всем известным антибактериальным препаратам и в 40–61 % случаев приводят к летальному исходу [19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, стандартизированными бактериологическими методами удаётся надёжно идентифицировать изоляты с характерным проявлением физиолого-биохимических признаков. Трудности идентификации микроорганизмов возникают при наличии фенотипически атипичных свойств, и в этом случае использование MALDI Biotyper будет иметь решающее значение. Для проведения более точной диагностики возбудителей инфекций необходимо применять комплексный подход, включающий как классические бактериологические методы, так и методы идентификации микроорганизмов с помощью масс-спектрометрии на последующих этапах.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов

ЛИТЕРАТУРА

1. Всемирная организация здравоохранения, Департамент оповещения об эпидемиях и пандемиях и ответных мер, Неформальная сеть по профилактике инфекций и инфекционному контролю в здравоохранении. Основные компоненты для программ профилактики инфекций и инфекционного контроля: второе совещание Неформальной сети по профилак-

тике инфекций и инфекционному контролю в здравоохранении (26–27 июня 2008 г., Женева, Швейцария). Женева: Всемирная организация здравоохранения; 2010. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/69982>.

2. Masud F, Vykoukal D. Preventing healthcare-associated infections in cardiac surgical patients as a hallmark of excellence. *Methodist Debakey Cardiovasc J.* 2011; 7(2): 48-50. doi: 10.14797/mdcj-7-2-48

3. Носкова О.А., Поталицина Н.Е., Савилов Е.Д. Анализ многолетней динамики заболеваемости инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи в Иркутской области. *Acta biomedica scientifica.* 2019; 4(3): 122-126. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.16

4. Савилов Е.Д., Маркова Ю.А., Немченко У.М., Носкова О.А., Чemezova Н.Н., Кунгурцева Е.А. и др. Способность к биоплёнкообразованию у возбудителей инфекций, выделенных от пациентов крупного многопрофильного детского стационара. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2020; 1: 32-35. doi: 10.34215/1609-1175-2020-1-32-35

5. O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Ann Rev Microbiol.* 2000; 54: 49-79. doi: 10.1146/annurev.micro.54.1.49

6. 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.* 2017; 62(1): e01603-17. doi: 10.1128/AAC.01603-17

7. Чернуха М.Ю., Шагинян И.А., Жуховицкий В.Г., Аветисян Л.Р., Кулястова Д.Г., Сиянова Е.А., и др. Применение системы MALDI Biotyper и алгоритма микробиологической диагностики для идентификации неферментирующих микроорганизмов, выделенных из дыхательных путей у больных муковисцидозом. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2017; 19(4): 327-334.

8. Hou TY, Chiang-Ni C, Teng SH. Current status of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical microbiology. *J Food Drug Anal.* 2019; 27(2): 404-414. doi: 10.1016/j.jfda.2019.01.001

9. Баранов А.А., Маянский А.Н., Чеботарь И.В., Маянский Н.А. Новая эпоха в медицинской микробиологии. *Вестник РАН.* 2015; 85(11): 1011-1018. doi: 10.7868/S086958731511002X

10. Hernández ÁP, Ballester-Téllez M, Galán-Sánchez F, Iglesias MR. Application of mass spectrometry to bacterial identification. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2016; 34 (Suppl 2): 8-18. doi: 10.1016/S0213-005X(16) 30185-9

11. Бочарова Ю.А., Чеботарь И.В., Маянский Н.А. Возможности, проблемы и перспективы масс-спектрометрических технологий в медицинской микробиологии (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика.* 2016; 61(4): 249-256. doi: 10.18821/0869-2084-2016-61-4-249-256

12. Эйдельштейн М.В., Сухорукова М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Микотина А.В., Шек Е.А., и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013–2014. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2017; 19(1): 37-41.

13. Лазарева А.В., Чеботарь И.В., Крыжановская О.А., Чеботарь В.И., Маянский Н.А. *Pseudomonas aeruginosa*: патогенность, патогенез и патология. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2015; 17(3): 170-186.

14. Останкова Ю.В., Семенов А.В., Зуева Е.В., Вашукова М.А., Тоголя А.А. Идентификация *Stenotrophomonas maltophilia* с использованием методов прямого секвенирования 16S PPHK и MALDI-TOF масс-спектрометрии. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2017; 62(3): 165-170. doi: 10.18821/0869-2084-2017-62-3-165-170

15. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Микотина А.В., Дехнич А.В., и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacteriaceae* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013–2014. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2017; 19(1): 49-56.

16. Pendleton JN, Gorman SP, Gilmore BF. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2013; 11(3): 297-308. doi: 10.1586/eri.13.12

17. Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *Int J Antimicrob Agents.* 2013; 41(1): 11-19. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.09.008

18. Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace. *J Antimicrob Chemother.* 2012; 67(7): 1597-1606. doi: 10.1093/jac/dks121

19. Morrill HJ, Pogue JM, Kaye KS, LaPlante KL. Treatment options for carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections. *Open Forum Infect Dis.* 2015; 2(2): ofv050. doi: 10.1093/ofid/ofv050

REFERENCES

1. Informal Network on Infection Prevention and Control in Health Care, World Health Organization. *Core components for infection prevention and control programmes: Report of the second meeting, Informal Network on Infection Prevention and Control in Health Care (Geneva, Switzerland, 26-27 June 2008).* Geneva: World Health Organization; 2009. URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/69982>.

2. Masud F, Vykoukal D. Preventing healthcare-associated infections in cardiac surgical patients as a hallmark of excellence. *Methodist DeBakey Cardiovasc J.* 2011; 7(2): 48-50. doi: 10.14797/mdcj-7-2-48

3. Noskova OA, Potalicina NE, Savilov ED. Analysis of long-term dynamics of incidence of healthcare-associated infections in the Irkutsk region. *Acta biomedica scientifica.* 2019; 4(3): 122-126. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.16. (In Russ.)

4. Savilov ED, Markova YA, Nemchenko UM, Noskova OA, Chemezova NN, Kungurtseva EA, et al. Ability to biofilm formation in infectious agents isolated from patients of a large general children's hospital. *Pacific Medical Journal.* 2020; (1): 32-35. doi: 10.34215/1609-1175-2020-1-32-35. (In Russ.)

5. O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Ann Rev Microbiol.* 2000; 54: 49-79. doi: 10.1146/annurev.micro.54.1.49

6. 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.* 2017; 62(1): e01603-17. doi: 10.1128/AAC.01603-17

7. Chernukha MYu, Shaginyan IA, Zhukhovitskiy VG, Avestyan LR, Kulyastova DG, Siyanova EA, et al. Use of the MALDI Biotyper system and the microbiological diagnosis algorithm for identification of non-fermenting bacteria isolated from respiratory tract in cystic fibrosis patients. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya.* 2017; 19 (4): 327-334. (In Russ.)

8. Hou TY, Chiang-Ni C, Teng SH. Current status of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical microbiology. *J Food Drug Anal.* 2019; 27(2): 404-414. doi: 10.1016/j.jfda.2019.01.001

9. Baranov AA, Mayanskii AN, Tchibotar IV, Mayanskii NA. A new epoch in medical microbiology. *Herald of the Russian Academy of Sciences.* 2015; 85(6): 515-522. doi: 10.1134/S1019331615060015

10. Hernández ÁP, Ballester-Téllez M, Galán-Sánchez F, Iglesias MR. Application of mass spectrometry to bacterial identification. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2016; 34 (Suppl 2): 8-18. doi: 10.1016/S0213-005X(16) 30185-9

11. Bocharova YuA, Tchibotar IV, Mayanskii NA. The possibilities, problems and perspectives of mass-spectrometry in medical microbiology: publications review. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics).* 2016; 61(4): 249-256. doi: 10.18821/0869-2084-2016-61-4-249-256. (In Russ.)

12. Edelstein MV, Sukhorukova MV, Skleenova EYu, Ivanchik NV, Mikotina AV, Shek EA, et al. Antimicrobial resistance of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Russia: Results of multicenter epidemiological study 'MARATHON' 2013-2014. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya.* 2017; 19(1): 37-41. (In Russ.)

13. Lazareva AV, Tchibotar IV, Kryzhanovskaya OA, Tchibotar VI, Mayanskii NA. *Pseudomonas aeruginosa*: Pathogenicity, pathogenesis and diseases. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya.* 2015; 17(3): 170-186. (In Russ.)

14. Ostankova YuV, Semenov AV, Zueva EV, Vashukova MA, Totolian AA. The identification of *Stenotrophomonas maltophilia* using the techniques of direct sequencing 16S rRNA and MALDI-TOF mass-spectrometry. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics).* 2017; 62(3): 165-170. doi: 10.34215/1609-1175-2020-1-32-35. (In Russ.)

15. Sukhorukova MV, Edelstein MV, Skleenova EYu, Ivanchik NV, Mikotina AV, Dekhnich AV, et al. Antimicrobial resistance of nosocomial *Enterobacteriaceae* isolates in Russia: Results of multicenter epidemiological study 'MARATHON' 2013-2014. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya.* 2017; 19(1): 49-56. (In Russ.)

16. Pendleton JN, Gorman SP, Gilmore BF. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2013; 11(3): 297-308. doi: 10.1586/eri.13.12

17. Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *Int J Antimicrob Agents.* 2013; 41(1): 11-19. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.09.008

18. Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: The phantom menace. *J Antimicrob Chemother.* 2012; 67(7): 1597-1606. doi: 10.1093/jac/dks121

19. Morrill HJ, Pogue JM, Kaye KS, LaPlante KL. Treatment options for carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections. *Open Forum Infect Dis.* 2015; 2(2): ofv050. doi: 10.1093/ofid/ofv050

Сведения об авторах

Воропаева Наталья Михайловна – младший научный сотрудник лаборатории микробиома и микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: n.m.shabanova@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7026-2522X>

Белькова Наталья Леонидовна – кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией микробиома и микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nbelkova@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Немченко Ульяна Михайловна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микробиома и микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: umnemch@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7656-342X>

Григорова Екатерина Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микробиома и микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: buxarova.ekaterina@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6588-2591>

Кунгурцева Екатерина Александровна – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории микробиома и микрoэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: ekaterina_kozlova_84@bk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4535-9397>

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, <http://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Чемезова Наталья Николаевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», <http://orcid.org/0000-0001-5375-7785>

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>

Information about the authors

Natalia M. Voropaeva – Junior Research Officer at the Laboratory of Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: n.m.shabanova@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7026-2522X>

Natalia L. Belkova – Cand. Sc. (Biol.), Associate Professor, Leading Research Officer at the Laboratory of Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nlbelkova@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Uliana M. Nemchenko – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: umnemch@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7656-342X>

Ekaterina V. Grigorova – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6588-2591>

Ekaterina A. Kungurtseva – Cand. Sc. (Biol.), Junior Research Officer at the Laboratory of Microbiome and Microecology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: ekaterina_kozlova_84@bk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4535-9397>

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, <http://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Natalia N. Chemezova – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Important Infections, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, <http://orcid.org/0000-0001-5375-7785>

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, <http://orcid.org/0000-0002-9217-6876>

Вклад авторов

Воропаева Н.М. – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста статьи, редактирование

Белькова Н.Л. – концепция и дизайн исследования, редактирование

Немченко У.М. – сбор и обработка материала, редактирование

Григорова Е.В. – сбор и обработка материала, редактирование

Кунгурцева Е.А. – сбор материала

Носкова О.А. – сбор и обработка материала, редактирование

Савилов Е.Д. – концепция и дизайн исследования, редактирование

Статья получена: 10.06.2020. Статья принята: 28.08.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 10.06.2020. Accepted: 28.08.2020. Published: 26.12.2020.

Карбапенемазы как фактор устойчивости к антибактериальным препаратам

Невежина А.В.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

Автор, ответственный за корреспонденцию: Невежина Анна Владимировна, e-mail hannanevezhina@gmail.com

Резюме

Антибиотические препараты используются для лечения и профилактики бактериальных инфекций во всём мире. Появление и распространение бактериальной устойчивости к карбапенемам является в настоящее время реальной угрозой, определяющей необходимость её своевременного обнаружения и подавления. В глобальном списке приоритетных патогенов ВОЗ 2017 года к категории наивысшего приоритета отнесены устойчивые к карбапенемам *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*. Количество известных карбапенемаз постоянно увеличивается, но наиболее распространены IMP-тип, VIM-тип, NDM-тип, KPC-тип и OXA-тип. Карбапенемазы принадлежат к молекулярному классу В (металло-β-лактамазы) или молекулярным классам А и D (сериновые карбапенемазы). Гены, кодирующие карбапенемазы, входят в состав мобильных генетических элементов, что способствует их быстрому внутри- и межвидовому переносу. В связи с этим целью данного обзора является ознакомление с актуальной информацией о классификации и характеристике карбапенемаз, способах преодоления распространения резистентности к карбапенемам. При этом в статье уделено внимание не только возбудителям инфекций, но и тем переносчикам карбапенемаз, которые не были замечены в качестве инфекционных агентов, поскольку они так же могут влиять на эволюцию генов резистентности.

Ключевые слова: антибиотики, резистентность, карбапенемы, карбапенемазы

Для цитирования: Невежина А.В. Карбапенемазы как фактор устойчивости к антибактериальным препаратам. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 95-105. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.11.

Carbapenemases as Factors of Resistance to Antibacterial Drugs

Nevezhina A.V.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Anna V. Nevezhina, e-mail hannanevezhina@gmail.com

Abstract

Antibiotic drugs are used to treat and prevent bacterial infections around the world. The emergence and spread of bacterial resistance to carbapenems is currently a real threat that determines the need for its timely detection and suppression. Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* are ranked as the highest priority in the 2017 WHO Global Priority Pathogens List. The number of known carbapenemases is constantly increasing, but the most common are IMP-type, VIM-type, NDM-type, KPC-type, and OXA-type. Carbapenemases belong to molecular class B (metallo-β-lactamases) or molecular classes A and D (serine carbapenemases). The genes encoding carbapenemases are part of the mobile genetic elements, which contributes to their rapid intra- and interspecific transfer. In this regard, the purpose of this review is to get acquainted with the current information on the classification and characteristics of carbapenemases, ways to overcome the spread of resistance to carbapenems. At the same time, the article pays attention not only to infectious agents, but also to those carriers of carbapenemases that have not been seen as infectious agents, since they can also influence the evolution of resistance genes.

Key words: carbapenemase, beta-lactamase, antibiotic

For citation: Nevezhina A.V. Carbapenemases as Factors of Resistance to Antibacterial Drugs. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 95-105. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.11

ВВЕДЕНИЕ

Карбапенемы – класс β-лактамов антибиотиков широкого спектра действия, используемых при лечении внутри- и внегоспитальных инфекций. Все β-лактамы антибиотиков имеют общее β-лактамовое кольцо и действуют одинаково, связываясь с пенициллин-связывающими белками (PBP), которые ответственны за формирование клеточной стенки бактерий, и инактивируют их [1]. Основным ферментативным мишенью карбапенемов является транспептидаза (фермент, активным центром которого является серин), которая катализирует процесс синтеза пептидогликана. Карбапенемы ингибируют фермент транспептидазу, связываясь с активным центром фермента, что приводит к образованию стабильного про-

межуточного ацильного фермента. В результате этого процесса фермент не может катализировать сшивание гликановых цепей, нарушается синтез клеточной стенки, гликановый каркас нарушается из-за аутолитических процессов, и в итоге бактериальная клетка разрушается под действием осмотического давления [2].

Карбапенемы обладают выраженной устойчивостью к действию большинства β-лактамаз, поэтому обычно используются при лечении инфекций, вызванных бактериями, продуцирующими β-лактамазы расширенного спектра (ESBL) и цефалоспорины AmpC. К карбапенемам чувствительно большинство грамположительных, грамотрицательных и анаэробных бактерий. Эти препараты относят к так называемой «группе резерва», их при-

меняют, когда к антибиотикам основного ряда развивается резистентность. Поэтому рост устойчивости к карбапенемам вызывает обеспокоенность ввиду сужения спектра применения эффективных антибиотиков. По данным ВОЗ на 2019 г., не менее 700 000 человек ежегодно умирают из-за лекарственно-устойчивых заболеваний. Устойчивость к антибиотикам ставит под угрозу способность иммунной системы человека бороться с инфекционными заболеваниями, а также способствует возникновению различных осложнений у уязвимой группы пациентов, проходящих химиотерапию, диализ, оперативное лечение, у людей с хроническими заболеваниями, такими как диабет, астма и ревматоидный артрит [3].

В настоящее время карбапенемы представлены такими препаратами, как имипенем, меропенем, дорипенем, эртапенем, биापенем и др. Имипенем представляет собой производное тиенамицина, который является естественным продуктом почвенного организма *S. cattleya*. Доказано, что карбапенемазы присутствовали в бактериях задолго до клинического использования имипенема [2]. По-видимому, наличие ферментов, гидролизующих карбапенем, полезно для почвенных бактерий. В результате этого естественного селективного отбора организмы могли первоначально развить ферменты с карбапенемазной активностью [4]. Но основным движущим фактором появления карбапенемаз было широкое использование карбапенемов для лечения инфекций, вызванных патогенами, продуцирующими β-лактамазы расширенного спектра [5]. Помимо этого, чрезмерное использование антибиотиков в сельском хозяйстве, аквакультуре и медицине может быть причиной распространения патогенов, которые приобрели механизмы устойчивости к антибиотикам из естественной экологической среды [6]. Продукты питания, употребляющиеся в сыром виде, являются потенциальными источниками устойчивых к противомикробным препаратам бактерий, включая микроорганизмы, продуцирующие карбапенемазу [7]. К примеру, исследование местного рынка в Янголе (Мьянма) выявило широкое разнообразие карбапенемаза-продуцирующих энтеробактерий в пищевых продуктах, некоторые из которых обладают фенотипами с высокой лекарственной устойчивостью [8].

Хотя устойчивость к карбапенемам опосредована различными факторами, такими как потеря поринов внешней мембраны, синтез карбапенемаз и активным выведением антибактериального препарата из бактериальной клетки (эффлюкс), самым распространённым является выработка карбапенемаз [9].

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И КЛАССИФИКАЦИЯ КАРБАПЕНЕМАЗ

Карбапенемазы – это ферменты группы β-лактамаз, способные гидролизовать карбапенемы, расщепляя β-лактамное кольцо. В зависимости от молекулярного строения активного центра β-лактамазы делят на сериновые β-лактамазы (SBL), использующие каталитически активный сериновый остаток для инактивации β-лактамных препаратов, и цинк-зависимые металло-β-лактамазы (MBL), содержащие цинк в качестве кофактора. Согласно классификации Амблера, к сериновым относятся классы А, С и D, к цинк-зависимым – класс В. Наиболее распространены представители класса В – IMP-тип, VIM-тип и NDM-тип; класса А – KPC-тип и класса D – OXA-тип [10].

Ферменты класса С не считаются карбапенемазами. Хотя описано несколько карбапенемаз класса С, эти ферменты обычно демонстрируют пониженную чувствительность к карбапенемам из-за низкой каталитической эффективности. Было сообщено всего о пяти карбапенемазах класса С (а именно ACT-1, DHA-1, CMY-2, CMY-10 и ADC-68), которые проявляют каталитическую активность в отношении имипенема [11]. Ферменты класса С могут способствовать устойчивости к карбапенему в сочетании со сниженной проницаемостью внешней мембраны или эффлюксом [1].

Общий уровень аминокислотной идентичности между классом D и классом А или классом С β-лактамаз составляет всего около 16 % [12]. Гены, кодирующие карбапенемазы, распространяются в основном через плазмиды, интегроны (как форма генных каскадов) и транспозоны, что способствует их быстрому внутри- и межвидовому переносу. Мобильные элементы, такие как инсерционные последовательности и транспозоны, представляют собой участки ДНК, расположенные в плазмидах или хромосомах, которые могут перемещаться (благодаря транспозазам) в новые места генома [13]. Эти мобильные генетические элементы являются наиболее важными факторами, участвующими в распространении генов карбапенемаз среди различных видов бактерий.

Другие элементы, такие как интегроны, используют сайт-специфическую рекомбинацию для перемещения генов устойчивости между определёнными сайтами. Межклеточные механизмы генетического обмена включают конъюгацию/мобилизацию (опосредованную плазмидами и интегративными конъюгативными элементами), трансдукцию (опосредованную бактериофагами) и трансформацию (поглощение внеклеточной ДНК) [14]. О типах ферментов, кодируемых хромосомами, сообщают реже. Напротив, гены, переносимые плазмидами, широко распространены и чаще обнаруживаются [15]. Бактерии, несущие несколько мобильных генетических элементов, кодирующих различные карбапенемазы, могут иметь высокую вирулентность, что подчёркивает необходимость различных стратегий борьбы с устойчивостью к противомикробным препаратам.

КАРБАПЕНЕМАЗЫ КЛАССА А

К карбапенемазам класса А относятся ферменты GES, SME, SHV, KPC, IMI / NMC-A, SFC и др. За исключением GES-1, большинство карбапенемаз класса А демонстрируют более высокую карбапенемазную активность различной степени по сравнению с β-лактамазами расширенного спектра [16]. Ферменты IMI / NMC-A, SME, KPC и SFC-1 имеют общее происхождение, которое существенно отличается от предков ферментов GES и SHV-38 [2].

GES-1 (Guiana extended-spectrum-1) – это β-лактамаза расширенного спектра действия, первоначально описанная в 2000 г. в изоляте *K. pneumoniae*. К настоящему времени идентифицировано более 30 вариантов, в том числе гидролизующие карбапенемы (GES-2, -4, -5, -6, -14, -15, -16-18, -20 и -24) [17]. Ферменты семейства GES отличаются друг от друга одной-тремя аминокислотными заменами [18]. Гены, кодирующие семейство GES β-лактамаз, расположены как на интегронах, встроенных в плазмиды, с возможностью конъюгированного переноса, так и встроенных в хромосому. В отличие от KPC, ферменты GES нечасто связаны с внутриболь-

ничными вспышками. Карбапенемазы GES-типа были идентифицированы у *P. aeruginosa*, а также у *A. baumannii* и *Enterobacteriaceae* (в основном изолятов *K. pneumoniae*, *S. marcescens* и *Enterobacter* spp.) [19]. Изоляты, продуцирующие ферменты GES с карбапенемазной активностью, собирались преимущественно в Европе, Южной Африке и на Дальнем Востоке [2].

Ферменты SME представляют собой карбапенемазы класса A, обнаруженные на хромосоме *S. marcescens*. Впервые идентифицированы в Великобритании в 1982 г. [20]. Ферменты SME были обнаружены исключительно в *S. marcescens* (*Serratia marcescens* enzyme). Существуют всего пять вариантов SME, которые различаются одной-двумя аминокислотными заменами. Гены *bla_{SME}*, по-видимому, не являются повсеместными у *S. marcescens*, но, скорее всего, они присутствуют только в субпопуляции этого вида. Гены SME находятся в хромосомах, но устойчивость к карбапенему у *S. marcescens* может объясняться и наличием плазмид KPC, OXA-48, IMP, NDM и VIM [21]. Инфекции, вызываемые SME-положительными *S. marcescens*, обычно носят спорадический характер и вызывают небольшие вспышки [22].

SHV – β-лактамазы расширенного спектра. Первый ген *bla_{SHV-1}* (sulfhydryl reagent variable) был идентифицирован в 1970-х гг. у *E. coli*, с тех пор был описан (по данным 2016 г.) 1891 аллельный вариант SHV [23]. Карбапенемаза этого семейства SHV-38 отличается одной аминокислотной заменой от β-лактамазы широкого спектра действия, SHV-1. SHV-38 был выделен из изолята *K. pneumoniae*, демонстрирующего пониженную чувствительность к имипенему. Ген этого фермента кодируется хромосомой [24].

KPC впервые была выявлена в 2001 г. в США. Штамм *K. pneumoniae* нес плазмидно-опосредованный ген карбапенемазы, кодирующий белок, позже обозначенный как карбапенемаза *K. pneumoniae* (KPC). Хотя *K. pneumoniae* остаётся наиболее распространённым видом бактерий, несущим KPC, этот фермент был идентифицирован у других грамотрицательных бактерий [25]. На сегодняшний день, хотя описано более 40 различных вариантов KPC, KPC-2 и KPC-3 остаются наиболее распространёнными и хорошо изученными типами [26]. Анализ последовательности *bla_{KPC-1}* показал, что KPC-1 и KPC-2 являются идентичными ферментами. KPC-3 отличается от KPC-2 (бывший KPC-1) заменой одной аминокислоты (H272Y). В-лактамазы KPC слабо ингибируются клавулановой кислотой и тазобактамом и часто объединяются с карбапенемазами B и D классов, что придаёт дополнительную устойчивость к антибиотикотерапии [27]. Все гены, кодирующие карбапенемазы KPC, по-видимому, передаются плазмидами, за исключением *bla_{KPC-2}* у *P. aeruginosa* [18]. Основным переносчиком KPC является эпидемический клон *K. pneumoniae* ST258, который за последние несколько десятилетий распространился по всему миру [28]. Сегодня ферменты KPC широко распространены не только в *K. pneumoniae*, но и во всё большем числе *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii*. Было показано, что всемирное распространение генов KPC у *Enterobacteriaceae* связано с генетическим мобильным элементом (транспозоном Tn4401), который способен к высокой частоте транспозиции и, вероятно, способен к переносу между видами бактерий [15]. Подавляющее большинство продуцентов KPC было выявлено в северо-восточных частях США [2]. В Европе самый высокий

уровень заболеваемости, вызванный устойчивыми к карбапенемам штаммами *Enterobacteriaceae*, зарегистрирован в странах Средиземноморья, особенно в Италии и Греции. Сообщалось о распространении KPC на Ближнем Востоке, в Азии, Южной Америке. Об эпидемиологии KPC в Африке имеется мало данных [29].

Группа ферментов IMI / NMC-A (имипенемаза / неметаллокарбапенемаза-A) образуют две подгруппы – IMI и NMC-A соответственно. NMC-A представляет собой серинкарбапенемазу, первоначально обнаруженную в устойчивом к карбапенемам штамме *Enterobacter* (NOR-1, первоначально идентифицированном как *E. cloacae*, а затем повторно идентифицированном как *E. asburiae*), изолированном при инфекции мягких тканей во Франции в 1990 г. Фермент способен гидролизовать широкий спектр β-лактамных субстратов, предпочитительно пенициллины, цефалоспорины узкого спектра и карбапенемы [30]. Фермент NMC-A отклоняется на восемь аминокислотных замен от двух вариантов IMI, которые отличаются друг от друга двумя заменами. Сообщается, что NMC-A кодируется хромосомами, тогда как IMI – и хромосомами, и плазмидами [12]. Группа NMC-A / IMI содержит небольшое количество вариантов, которые обычно различаются от одной до нескольких аминокислот [31]. Ген *bla_{IMI-1}* был впервые идентифицирован на хромосоме двух изолятов *E. cloacae* из США в 1984 г., впоследствии небольшое количество IMI-положительных изолятов было идентифицировано в Китае, Финляндии, Франции, Ирландии, Норвегии, Сингапуре, Таити и США [32]. Хотя изоляты, продуцирующие IMI, не часто обнаруживаются, они имеют широкое географическое распространение, обнаружены в изолятах из Азии, Европы, Северной и Южной Америки [33]. Идентифицировано 17 вариантов ферментов IMI. Изоляты, которые продуцируют IMI, могут быть редко обнаружены из-за их необычного профиля устойчивости к препаратам, они обычно устойчивы к имипенему, но демонстрируют промежуточную устойчивость к эртапенему и чувствительность к цефалоспорином расширенного спектра [9].

SFC (*Serratia fonticola* carbapenemase) – менее часто описываемый фермент. SFC-1 был описан в изоляте *S. fonticola*, выделенной из окружающей среды в Португалии. SFC-1 гидролизует пенициллины, цефалоспорины, азтреонам и карбапенемы и ингибируется клавулановой кислотой, сульбактамом и тазобактамом [34]. Ген *bla_{SFC-1}* содержится в хромосоме штамма *S. fonticola* UTAD54 и отсутствует у других штаммов *S. fonticola* [35].

В 1988 г. была описана β-лактамаза комплекса *Burkholderia cepacia* (Bcc), которая обнаружилась у штамма *P. cepacia* 249 (реклассифицированного как *B. multivorans* ATCC 17616), названная PenA (penicillinase from *P. cepacia*). Виды комплекса *B. cepacia*, куда относится *B. multivorans*, вызывают инфекции, трудно поддающиеся лечению у лиц с ослабленным иммунитетом, особенно муковисцидозом [36]. Фермент кодируется хромосомой и гидролизует пенициллины, цефалоспорины, азтреонам и даже имипенем на низких уровнях, но достаточно высоких, чтобы его можно было рассматривать как карбапенемазу [37]. PenA устойчив к действию ингибиторов β-лактамаз сульбактама, тазобактама и клавулановой кислоты. Однако было показано, что PenA ингибировалась авибактамом, образуя стабильный комплекс в течение 24 часов, и затем авибактам рециклировался из PenA, повторно образуя активное соединение [38].

Помимо вышеперечисленных, постоянно выявляются новые представители класса A. Например, в 2015 г. сообщалось о ВКС-1 (Brazilian *Klebsiella* Carbapenemase-1). Ген *bla*_{ВКС-1} переносится плазмидой группы IncQ, характеризующейся способностью реплицироваться и мобилизоваться в очень широком диапазоне хозяев. Исследования гидролиза показали, что ВКС-1 гидролизует в большей степени пенициллины, цефалоспорины и монобактамы, чем карбапенемы [39]. Примерно в это же время была идентифицирована новая карбапенемаза класса A, FRI-1, кодируемая плазмидой. Носителем являлась бактерия *E. cloacae*, выявленная у пациента, госпитализированного во Франции. В-лактамаза FRI-1 показала наивысшую аминокислотную идентичность с NMC-A и IMI-1 [40]. Недавно было подтверждено наличие новой карбапенемазы класса A в штамме *P. aeruginosa*. Новый ген был назван *bla*_{GPC-1} (German *Pseudomonas* carbapenemase) и обнаруживал 77%-ную аминокислотную идентичность с ВКС-1. Ген *bla*_{GPC-1} был расположен на хромосоме, окружённой инсерционными последовательностями. При исследовании высоких концентраций очищенного GPC-1 был обнаружен небольшой гидролиз эртапенема и меропенема [41]. Несколько лет назад была описана новая карбапенемаза класса A из бактерии *E. cloacae*, выделенной из морепродуктов. Новое семейство получило название FLC-1. Переносчиком является плазида р3442-FLC-1. Наиболее родственным семейством белков считается семейство французской имипенемазы (FRI), с 82% идентичностью с FRI-1 и 87%-ной – с FRI-5 [16].

Резистентные микроорганизмы широко распространены в окружающей среде в их естественных природных местообитаниях. В настоящее время привлекают внимание не только инфекционные носители карбапенемаз, но и обнаруживаемые в природных микробиомах, так как они могут быть потенциальными переносчиками новых генов устойчивости и влиять на эволюцию карбапенемаз. Примером может служить сериновая карбапенемаза PAD-1, идентифицированная в штамме почвенной бактерии *P. desertii* в 2017 г. Аминокислотная последовательность PAD-1 аналогична последовательности клинически идентифицированных ферментов, таких как ВКС-1 (66 %) и KPC-2 (47 %) [42]. В 2016 г. была идентифицирована новая карбапенемаза класса A, VCC-1, в нетоксигенном штамме холерного вибриона, который был выделен из креветок, импортированных в Канаду в качестве продуктов питания. Вскоре после этого на побережье Германии были обнаружены ещё семь изолятов *V. cholerae*, продуцирующих VCC-1, что позволяет предположить, что *bla*_{VCC-1} является мобильным и широко распространённым. Клавуланат и тазобактам оказались неэффективными ингибиторами VCC-1, в отличие от авибактама [6].

КАРБАПЕНЕМАЗЫ КЛАССА В

Карбапенемазы класса В представляют собой самый молекулярно разнообразный класс карбапенемаз и могут инактивировать большинство β-лактамов, за исключением монобактамов [9]. Металло-β-лактамазы класса В включают ферменты IMP, VIM, GIM, SIM и NDM, гены которых в основном обнаруживаются у *Enterobacteriaceae*, но также обнаруживаются у *P. aeruginosa* и *A. baumannii* [15]. Гены MBL могут находиться на интегоне, транспозоне, в плазмиде, хромосоме или различных других

генетических молекулах [12]. Эти ферменты чувствительны к ингибированию хелатирующими агентами, связывающими цинк, такими как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА), дипиколиновая кислота (DPA) и другими двухвалентными катионами [43]. Механизм гидролиза зависит от взаимодействия β-лактамных препаратов с ионами цинка в активном центре фермента [2]. MBL делят на три подкласса (B1, B2, B3) на основе архитектуры их активного центра. Подкласс B1 наиболее клинически значим и включает IMP, VIM, NDM, в составе которых два иона цинка. Подкласс B3 характеризуется наличием двух ионов цинка в ферментативном центре, что обеспечивает более широкий спектр деградируемых субстратов, тогда как подкласс B2 имеет один ион цинка в активном центре и обладает более узким спектром субстратов. Подкласс B2 имеет наименьшее количество членов и включает в том числе ферменты, продуцируемые различными видами *Aeromonas*, такими как *A. hydrophila* CphA (β-лактамаза, гидролизующая карбапенем *Aeromonas*), *A. veronii* ImiS (имипенем-гидролизующая металло-β-лактамаза из *A. veronii* bv. *Sobria*) [44]. Этот класс ферментов эффективно гидролизует только карбапенемы, тогда как все остальные β-лактамы являются плохими субстратами [45]. Карбапенем-устойчивые представители подкласса B3 включают SMB-1, AIM-1, GOB-1, CPS-1 и др. В целом, этот подкласс характеризуется высокой ферментативной активностью и широким спектром субстратов, включая пенициллины, цефалоспорины и карбапенемы [45].

IMP или имипенемазы – активные в отношении имипенема металло-β-лактамазы класса В, которые широко распространены во всём мире. Ферменты типа IMP, впервые изолированные в 1991 г. в клиническом изоляте *S. marcescens* в Японии, встречаются в *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii* [15]. Это разнообразная группа, включающая более 80 различных вариантов. Сообщается, что эти изоляты обладают уникальными профилями чувствительности, в частности, они чувствительны к цефтазидиму и пиперациллин-тазобактаму [46]. Гены *bla*_{IMP} расположены в интегонах класса 1, переносимых плазмидами, и могут распространяться горизонтально среди разных видов [47].

VIM-тип, веронская интегрон-кодируемая металло-β-лактамаза. Существуют более 60 вариантов VIM [12]. Впервые о VIM-1 было сообщено в 1997 г. в Италии, а вскоре после этого вариант VIM-2 был идентифицирован во Франции и Италии. VIM-4, отличающийся от VIM-1 одним остатком (Ser228Arg), позже был обнаружен в изолятах *P. aeruginosa* в Греции. Впоследствии VIM-5 был идентифицирован в Турции в изолятах *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*, а затем был идентифицирован в изолятах *E. cloacae* [48]. В 2011 г. первые бактерии *S. infantis* и *E. coli*, продуцирующие VIM-1, были выделены на немецких свиных и куриных фермах [7]. Гены VIM редко встречаются у *Enterobacteriaceae*, но чаще встречаются у *P. aeruginosa* и *P. putida*. Семейства VIM и IMP имеют некоторое сходство с точки зрения того, какие плазмиды являются переносчиками и что они интегрон-ассоциированы. Подобно *bla*_{IMP} гены *bla*_{VIM} находятся в интегонах класса 1 и интегрированы либо в хромосомы, либо в плазмиды, и обладая широким диапазоном хозяев, они могут легко передаваться между бактериями и вносить вклад в межвидовое распределение генов, продуцирующих VIM

[47]. Оба семейства гидролизуют все β -лактамы, кроме монобактамов, и чувствительны ко всем ингибиторам β -лактама [2]. Ферменты VIM широко распространены на всех континентах, и в настоящее время это наиболее распространённый тип MBL, обнаруженный во всём мире.

NDM-тип (металло- β -лактамаза Нью-Дели) был впервые описан в литературе в 2009 г. в изоляте *K. pneumoniae* и получил название NDM-1. Этот изолят был обнаружен в посевах мочи пациента мужского пола из Швеции, который путешествовал и был госпитализирован в Индии. Ген *bla*_{NDM} обычно обнаруживается в плазмиде или другом мобильном элементе и часто ассоциирован с интегроном класса 1 ISCR1, одним из наиболее часто используемых механизмов распространения устойчивости к антибиотикам между видами [44]. Дальнейшее исследование *bla*_{NDM-1} обнаруженного в этом изоляте, показало, что NDM-1 связывает и гидролизует все β -лактамы, за исключением азтреонама. В настоящее время описано более 20 вариантов NDM у различных видов из разных географических регионов. Варианты возникают в результате сайт-мутаций в гене, кодирующем β -лактамазу. Расположение мутации в гене, по-видимому, обуславливает скорость гидролиза. Многие из вариантов, такие как NDM-2 и NDM-3, обладают сходной гидролитической активностью с NDM-1, поскольку мутации не расположены в активном центре фермента [49]. В то время как другие клинически важные MBL представляют собой растворимые периплазматические ферменты, NDM представляет собой липопротеины, закреплённые на внешней мембране грамотрицательных бактерий [50]. Клональное распространение NDM-1-позитивных видов было описано в различных частях мира, в основном вызванное *K. pneumoniae* и *E. cloacae* [51]. Инфекции, вызываемые устойчивыми к карбапенемам изолятами *A. baumannii*, связаны с уровнем смертности до 60 % [52].

GIM-1 (German imipenemase), относящийся к подклассу B1, была впервые идентифицирована в пяти клонально родственными клиническими изолятами *P. aeruginosa*, обнаруженных в Северном Рейне-Вестфалии (Германия) в 2004 г. Фермент редко описывался и только в пределах Германии в *Pseudomonas* spp., *A. pittii* и ряде *Enterobacteriaceae*. В 2014 г. был идентифицирован ещё один вариант, GIM-2, выделенный из *E. cloacae* [53]. Перенос генов осуществляется плазмидами. GIM имеет два иона цинка в активном центре, но, по-видимому, является слабо гидролизующим карбапенему ферментом [5].

SIM – редкий представитель металло- β -лактамаз, принадлежащий к подклассу B1. Белок SIM-1 на 64–69 % идентичен IMP-типу ферментов, которые являются его ближайшими родственниками. Первыми бактериями, несущими *bla*_{SIM-1}, были бактерии *A. baumannii*, выделенные в Корее в 2005 г. Перенос гена осуществляется плазмидами. Выделенный штамм был устойчив к ампициллину, цефалоспорины и карбапенему, но чувствителен к ципрофлоксацину, левофлоксацину и колистину [54]. Перенос гена осуществляется плазмидами. На данный момент выявлено всего два варианта этого типа.

Хотя металло- β -лактамазы относительно недавно получили известность, со временем появляется всё больше информации о появлении новых карбапенемаз этого класса. Недавно была идентифицирована новая карбапенемаза подкласса B1, названная *Vibrio* металло- β -лактамазой 1 (VMB-1), которая кодируется геном

(*bla*_{VMB-1}), расположенным в несущей интегрон высоко-трансмиссивной плазмиде типа IncC. Она была выявлена из штамма *V. alginolyticus*, найденного в пищевых продуктах, который проявляет устойчивость ко всем известным β -лактамам антибиотикам. Сообщается, что VMB-1 демонстрирует 94 % гомологию последовательностей с несколькими недавно зарегистрированными, но плохо охарактеризованными металло- β -лактамазами, продуцируемыми морскими организмами *Alteromonadaceae*, *Glaciecola* и *T. actiniarum* [55]. Совсем недавно в Швейцарии изолят *P. synxantha*, выделенный из куриного мяса, демонстрировавший резистентность к карбапенемам, продуцировал новую карбапенемазу PFM-1. Металло- β -лактамаза подкласса B2 имела 71 % аминокислотную идентичность с β -лактамазой Sfh-1 из *S. fonticola*. Ген *bla*_{PFM-1} был расположен в хромосоме. Варианты PFM-1 с общей аминокислотной идентичностью от 90 до 92 % были идентифицированы у видов *P. libanensis* (PFM-2) и *P. fluorescens* (PFM-3) [56]. В 2002 г. был описан новый фермент MBL из изолята *P. aeruginosa* в Сан-Паулу (Бразилия). Фермент получил название SPM-1 (Sao Paulo MBL-1). Этот фермент проявляет самую высокую идентичность (35,5 %) с IMP-1 и интересен тем, что представляет собой «гибрид» подклассов B1 и B2 [57]. Ген *bla*_{SPM} может кодироваться либо хромосомой, либо плазмидой и ассоциирован с инсерционной последовательностью ISCR4 [5]. SPM-1 уникален, поскольку он представлен аллелем, специфичным только для одного хозяина – *P. aeruginosa* [58]. Множество других металло- β -лактамаз были идентифицированы в определённых географических точках, среди которых KHM-1 (Kyorin University Hospital MBL-1) из *C. freundii* в Японии, AIM-1 (Adelaide Imipenemase-1) в Австралии из *P. aeruginosa*, DIM-1 (Dutch imipenemase-1) из *P. stutzeri* в Голландии, FIM-1 (Florence imipenemase-1) из *P. aeruginosa* в Италии [59].

КАРБАПЕНЕМАЗЫ КЛАССА D

Класс D карбапенем-гидролизующих карбапенемаз (CHDL) состоит из β -лактамаз OXA-типа, наиболее часто обнаруживаемых у *A. baumannii*. Ферменты оксациллины (OXA) обладают способностью эффективно гидролизовать оксациллин, в честь чего они были названы. Существуют многочисленные варианты этого типа (около 800 вариантов). Классифицировано по крайней мере 16 подсемейств гидролизующих карбапенем β -лактамаз класса D, составляющих 60 % всех известных ферментов OXA. Более того, недавний анализ показал, что некоторые из более ранних β -лактамаз OXA (включая OXA-2 и OXA-10), которые первоначально были охарактеризованы как ферменты узкого и расширенного спектра, обладают способностью в значительной степени гидролизовать карбапенемы [60]. Фермент OXA-163, вариант OXA-48, наоборот, потерял свою карбапенемазную активность, расширив спектр своего гидролиза до цефтазидима. Таким образом, OXA-163 рассматривается и как ESBL, и как карбапенемаза. Вариант OXA-427 так же проявляет активность как ESBL, так и карбапенемазы [61]. Ферменты OXA не ингибируются или слабо ингибируются клавулановой кислотой сульбактамом, тазобактамом, клоксациллином или хелаторами металлов, такими как ЭДТА [2, 5].

Экспрессия генов карбапенемаз типа OXA является наиболее частым механизмом устойчивости к карбапенемам у *Acinetobacter*. Наиболее распространённой карба-

пенемазой *A. baumannii* является OXA-23, карбапенемазы OXA-40, OXA-58 также распространены во всём мире, хотя и с меньшей частотой, чем OXA-23 [62] и OXA-51, причём OXA-51, присущие *A. baumannii*, видоспецифичны [63]. OXA-48 же в основном продуцируется в *Enterobacteriaceae*. Гены ферментов OXA с карбапенем-гидролизующей активностью были обнаружены в основном на хромосомах штаммов *A. baumannii*, но также и в плазидах, выделенных из кишечных бактерий (OXA-23 и OXA-48) [12]. OXA-48-подобные карбапенемазы по отдельности вызывают относительно слабый гидролиз пенициллинов и карбапенемов. В сочетании с другими β -лактамазами, такими как ESBL, или с изменениями порина, ведущими к дефектам проницаемости, эти ферменты имеют высокий уровень резистентности к карбапенему [29]. Ген *bla*_{OXA-23} был впервые обнаружен в 1985 г. в Шотландии и первоначально назван ARI-1 (*Acinetobacter* resistant to imipenem), а в 2004 г. OXA-48, гидролизовавшая имипенем, была выделена в Турции из *K. pneumoniae* [5]. В 2010 г. во Франции была зарегистрирована вспышка, вызванная изолятами *K. pneumoniae*, продуцирующими OXA-48. О вспышках болезни сообщалось в Бельгии, Нидерландах, России, о спорадических случаях изолятов, продуцирующих OXA-48, сообщалось и в странах Африки [9].

СОВРЕМЕННЫЕ СПОСОБЫ ПРЕОДОЛЕНИЯ РАСПРОСТРАНЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К КАРБАПЕНЕМАМ

Появление и распространение бактериальной устойчивости к карбапенемам является в настоящее время реальной угрозой, определяющей необходимость проведения регулярного мониторинга чувствительности возбудителей инфекций. Своевременное появление новой информации помогает оптимизировать лечение и контроль за инфекциями, а реконструкция цепей передачи имеет важное значение для анализа многовидовых вспышек. В мире существуют такие системы мониторинга антибиотикорезистентности, как EARS-Net, CDDEP ResistanceMap, SGSS, NNIS system, ATLAS, SMART, AMRmap, в которых заложена возможность интерактивного анализа и представления данных [64].

Необходимость поиска эффективных методов обнаружения антибиотикорезистентности усиливается тем, что штаммы, экспрессирующие слабую карбапенемазу, могут остаться нераспознанными рутинной диагностикой из-за низких значений минимальной подавляющей концентрации для бактериальных штаммов, продуцирующих такие ферменты [41]. Обнаружение устойчивости к карбапенемам подразделяют на фенотипические и генетические. Фенотипические анализы, используемые в настоящее время в клинической практике для обнаружения карбапенемаз, состоят из следующих: анализы, основанные на росте, которые измеряют устойчивость к карбапенемам на основе роста организма в присутствии карбапенемного антибиотика (модифицированный метод инактивации карбапенема, Carbapenem Inactivation Method, CIM/eCIM); методы гидролиза, которые обнаруживают продукты распада карбапенема (например, тест Carba NP и масс-спектрометрия с лазерной десорбцией и ионизацией с помощью матрицы), и иммуноанализы, которые обнаруживают ферменты карбапенемазы с использованием специфических антител [43]. Для контроля распространения генов устойчивости к антибиотикам

требуется идентификация потенциальных источников этих генов. ПЦР является эталонным генетическим методом для обнаружения карбапенемаз, но она требует дополнительного оборудования, квалифицированного персонала и недоступна во многих лабораториях [65]. В эпоху международных путешествий и медицинского туризма связь между конкретными механизмами резистентности и данным регионом станет менее важной, что сделает обязательным как рутинное наблюдение, так и дальнейшую оценку устойчивых к карбапенемам клинических изолятов [43].

Поиск методов преодоления устойчивости бактерий к пенициллиновым антибиотикам привёл к открытию ряда ингибиторов ферментов β -лактамаз [66]. В 1981 г. была запущена первая комбинация, амоксициллин-клавуланат, после открытия природного продукта клавулановой кислоты, ингибитора серин- β -лактамаз. Однако продолжают появляться новые β -лактамазы, которые нечувствительны к ингибированию клавулановой кислотой и другими имеющимися на рынке ингибиторами. Эффективность ингибиторов карбапенемаз может сильно варьироваться в зависимости от конкретного фермента-мишени. Ингибиторы β -лактамаз, такие как клавулановая кислота, сульбактам, ваборбактам, тазобактам, могут ингибировать SBL. С другой стороны, такие ингибиторы не влияют на MBL, которые ингибируются хелаторами ионов металлов, такими как дипиколиновая кислота, EDTA или о-фенантролин, но все они не одобрены для клинического использования [9]. Хелатирующие агенты, удаляющие цинк, могут приводить к сильному ингибированию, но их существенным недостатком является то, что их сродство и селективность могут быть получены только в результате взаимодействия с ионом цинка, а не с белком и, таким образом, этот тип ингибиторов с большой вероятностью будет ингибировать другие металлопротеины [44]. Открытие ряда новых ингибиторов даёт возможность разработать новые методы комбинированной терапии для лечения инфекций, вызванных бактериями, устойчивыми к карбапенемам. Недавно полученный из эртапенема лактон подавлял как SBL, так и MBL при тестировании в высоких концентрациях, причём β -лактамазы класса D ингибировались особенно сильно [67]. Наблюдаемое ингибирование некоторых MBL представляет интерес, учитывая отсутствие клинически используемых ингибиторов этих ферментов.

Чрезмерное применение антибиотиков сопряжено с побочными эффектами, ограничением применения у ряда лиц и развитием приобретённой резистентности патогенов, поэтому актуальными исследованиями в настоящее время являются поиски клинически эффективных и безопасных системных и местных антимикробных препаратов для профилактики и лечения. Появляется больше информации о новых антимикробных [68] и антисептических средствах [69], бактериофагов, ведётся поиск молекулярных структур, нацеленных на новые бактериальные мишени [70].

ПРОБЛЕМА РАСПРОСТРАНЕНИЯ КАРБАПЕНЕМАЗ В РОССИИ

Наблюдения в течение нескольких лет говорят о факте широкого распространения NDM, KPC, OXA-48 и VIM-типов карбапенемаз в стационарах крупных городов России [71]. Основным продуцентом карбапенемаз среди

энтеробактерий в России на 2016 г., как и в других регионах мира, оказалась *K. pneumoniae*. Также к актуальным проблемам в России относится распространение карбапенем-устойчивых *Acinetobacter* spp., способных образовывать биоплёнки [72]. Доля изолятов *Acinetobacter* spp. среди всех бактериальных возбудителей нозокомиальных инфекций в 2015–2016 гг. составила 17,4 % [71]. Гены MBL, такие как NDM и IMP-1, были описаны у *Acinetobacter*, что демонстрирует способность этих генов устойчивости распространяться среди различных видов *Acinetobacter* [73]. Одним из ведущих возбудителей нозокомиальных инфекций в России является *P. aeruginosa*, уступая по частоте только *K. pneumoniae*. По данным «МАРАФОН», в 2015–2016 гг. отмечается увеличение частоты продукции карбапенемаз *P. aeruginosa*, главным образом MBL группы VIM и сериновых карбапенемаз группы GES-5. [74]. Отмечено, что *P. aeruginosa*, продуцирующие VIM, чаще всего встречаются в России [75]. В России доля изолятов этого микроорганизма среди всех бактериальных возбудителей нозокомиальных инфекций в 2015–2016 гг. составляла 17,4 %, а доля изолятов *Enterobacterales* достигла 48,2 % [71].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Широкое использование антимикробных препаратов в медицине, сельском хозяйстве, аквакультуре приводит к селекции и распространению резистентных к карбапенемам штаммов. Существует несколько механизмов развития устойчивости к данным препаратам, но наиболее распространённым является выработка карбапенемаз. Своевременное информирование о распространении резистентности, оперативное оповещение о вспышках госпитальных инфекций, повышение качества микробиологической диагностики и разработка новых антимикробных препаратов являются актуальными мероприятиями по предотвращению антибиотикорезистентности.

ЛИТЕРАТУРА

- Meletis G. Carbapenem resistance: Overview of the problem and future perspectives. *Ther Adv Infect Dis*. 2016; 3(1): 15–21. doi: 10.1177/2049936115621709
- Codjoe FS, Donkor ES. Carbapenem resistance: A review. *Med Sci (Basel)*. 2017; 6(1): 1. doi: 10.3390/medsci6010001
- Dadgostar P. Antimicrobial resistance: Implications and costs. *Infect Drug Resist*. 2019; 12: 3903–3910. doi: 10.2147/IDR.S234610
- Walther-Rasmussen J, Hoiby N. OXA-type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother*. 2006; 57(3): 373–383. doi: 10.1093/jac/dki482
- Hammoudi HD, Ayoub MC. The current burden of carbapenemases: Review of significant properties and dissemination among gram-negative bacteria. *Antibiotics (Basel)*. 2020; 9(4): 186. doi: 10.3390/antibiotics9040186
- Mangat CS, Vadlamani G, Holicek V, et al. Molecular basis for the potent inhibition of the emerging carbapenemase VCC-1 by avibactam. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019; 63(4). doi: 10.1128/aac.02112-18
- Roschanski N, Guenther S, Vu TTT, et al. VIM-1 carbapenemase-producing *Escherichia coli* isolated from retail seafood, Germany 2016 [published correction appears in *Euro Surveill*. 2017 Nov;22(45):]. *Euro Surveill*. 2017; 22(43): 17–00032. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2017.22.43.17-00032
- Sugawara Y, Hagiya H, Akeda Y, et al. Dissemination of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* harbouring *bla_{NDM}* or *bla_{IMI}* in local market foods of Yangon, Myanmar. *Sci Rep*. 2019; 9: 14455. doi: 10.1038/s41598-019-51002-5
- Elshamy AA, Aboshanab KM. A review on bacterial resistance to carbapenems: Epidemiology, detection and treatment options. *Future Sci OA*. 2020; 6: 3. doi: 10.2144/foa-2019-0098
- Полищук А.Г., Якубович Е.И., Полухина О.В., Осовских В.В., Евтушенко В.И. Карбапенемаза-продуцирующие грамотрицательные бактерии в специализированном стационаре Санкт-Петербурга. *Инфекция и иммунитет*. 2017; 7(2): 181–192. doi: 10.15789/2220-7619-2017-2-181-192.
- Jeon JH, Lee JH, Lee JJ, et al. Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance. *Int J Mol Sci*. 2015; 16(5): 9654–9692. doi: 10.3390/ijms16059654
- Sawa T, Kooguchi K, Moriyama K. Molecular diversity of extended-spectrum β -lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance. *J intensive care*. 2020; 8(13). doi: 10.1186/s40560-020-0429-6
- Reyes JA, Melano R, Cardenas PA, Trueba G. Mobile genetic elements associated with carbapenemase genes in South American *Enterobacterales*. *Braz J Infect Dis*. 2020; 24(3): 231–238. doi: 10.1016/j.bjid.2020.03.002
- Partridge SR, Kwong SM, Firth N, Jensen SO. Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. *Clin Microbiol Rev*. 2018; 31(4): e00088–17. doi: 10.1128/CMR.00088-17
- Diene SM, Rolain J-M. Carbapenemase genes and genetic platforms in Gram-negative bacilli: *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clin Microbiol Infect*. 2014; 20(9): 831–838. doi: 10.1111/1469-0691.12655
- Brouwer MSM, Tehrani KHME, Rapallini M, et al. Novel carbapenemases FLC-1 and IMI-2 encoded by an *Enterobacter cloacae* complex isolated from food products. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019; 63(6): e02338–18. doi: 10.1128/AAC.02338-18
- Aires-de-Sousa M, Ortiz de la Rosa J, Gonçalves M, Pereira A, Nordmann P, Poirel L. Epidemiology of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a hospital, Portugal. *Emerg Infect Dis*. 2019; 25(9): 1632–1638. doi: 10.3201/eid2509.190656
- Piccirilli A, Mercuri PS, Galleni M, et al. P174E substitution in GES-1 and GES-5 β -lactamases improves catalytic efficiency toward carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018; 62(5): e01851–17. doi: 10.1128/AAC.01851-17
- Chihi H, Bonnin RA, Bourouis A, Mahrouki S, Besbes S, Moussa MB, et al. GES-11-producing *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Tunisian hospitals: Long-term dissemination of GES-type carbapenemases in North Africa. *J Glob Antimicrob Resist*. 2016; 5: 47–50. doi: 10.1016/j.jgar.2016.03.005
- Hopkins KL, Findlay J, Meunier D, Cummins M, Curtis S, Kustos I, et al. *Serratia marcescens* producing SME carbapenemases: An emerging resistance problem in the UK? *J Antimicrob Chemother*. 2017; 72(5): 1535–1537. doi: 10.1093/jac/dkw567
- Iovene MR, Pota V, Galdiero M, et al. First Italian outbreak of VIM-producing *Serratia marcescens* in an adult polyvalent intensive care unit, August–October 2018: A case report and literature review. *World J Clin Cases*. 2019; 7(21): 3535–3548. doi: 10.12998/wjcc.v7.i21.3535
- Sahuquillo-Arce JM, Hernandez-Cabezas A, Yarad-Aud F, Ibanez-Martinez E, Falomir-Salcedo P, Ruiz-Gaitán A. Carbapenemases: A worldwide threat to antimicrobial therapy. *World J Pharmacol*. 2015; 4(1): 75–95. doi: 10.5497/wjpv.v4.i1.75
- Liakopoulos A, Mevius D, Ceccarelli D. A review of SHV extended-spectrum β -lactamases: Neglected yet ubiquitous. *Front Microbiol*. 2016; 7: 1374. doi: 10.3389/fmicb.2016.01374
- Naas T, Dortet L, Iorga BI. Structural and functional aspects of class A carbapenemases. *Current Drug Targets*. 2016; 17(9): 1006–1028. doi: 10.2174/1389450117666160310144501
- Cui X, Zhang H, Du H. Carbapenemases in *Enterobacteriaceae*: Detection and antimicrobial therapy. *Front Microbiol*. 2019; 10: 1823. doi: 10.3389/fmicb.2019.01823
- Niu S, Chavda KD, Wei J, et al. A ceftazidime-avibactam-resistant and carbapenem-susceptible *Klebsiella pneumoniae* strain

harboring *bla*_{KPC-14} isolated in New York City. *mSphere*. 2020; 5(4): e00775-20. doi: 10.1128/mSphere.00775-20

27. Bonnin RA, Jousset AB, Urvoy N, Gauthier L, Tlili L, Creton E, et al. Detection of GES-5 carbapenemase in *Klebsiella pneumoniae*, a newcomer in France. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017; 61(3): e02263-16. doi: 10.1128/AAC.02263-16

28. Marsh JW, Mustapha MM, Griffith MP, Evans DR, Ezeonwuka C, Pasculle AW, et al. Evolution of outbreak-causing carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST258 at a tertiary care hospital over 8 years. *MBio*. 2019; 10(5): e01945-19. doi: 10.1128/mBio.01945-19

29. Duin D van, Doi Y. The global epidemiology of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Virulence*. 2017; 8(4): 460-469. doi: 10.1080/21505594.2016.1222343

30. Antonelli A, D'Andrea MM, Di Pilato V, et al. Characterization of a novel putative Xer-dependent integrative mobile element carrying the bla(NMC-A) carbapenemase gene, inserted into the chromosome of members of the *Enterobacter cloacae* complex. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015; 59(10): 6620-6624. doi: 10.1128/aac.01452-15

31. Boyd DA, Mataseje LF, Davidson R, Delport JA, Fuller J, Hoang L, et al. *Enterobacter cloacae* complex isolates harboring *bla*_{NMC-A} or *bla*_{IMI}-type class A carbapenemase genes on novel chromosomal integrative elements and plasmids. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017; 61(5): e02578-16. doi: 10.1128/AAC.02578-16

32. Hopkins KL, Findlay J, Doumith M, Mather B, Meunier D, D'Arcy S, et al. IMI-2 carbapenemase in a clinical *Klebsiella variicola* isolated in the UK. *J Antimicrob Chemother*. 2017; 72(7): 2129-2131. doi: 10.1093/jac/dkx103

33. Huang L, Wang X, Feng Y, Xie Y, Xie L, Zong Z. First identification of an IMI-1 carbapenemase-producing colistin-resistant *Enterobacter cloacae* in China. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2015; 14: 51. doi: 10.1186/s12941-015-0112-2

34. Fonseca F, Sarmiento AC, Henriques I, Samyn B, Beuemen J van, Domingues P, et al. Biochemical characterization of SFC-1, a class A carbapenem-hydrolyzing β -lactamase. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007; 51(12): 4512-4514. doi: 10.1128/AAC.00491-07

35. Henriques I, Moura A, Alves A, Saavedra MJ, Correia A. Molecular characterization of a carbapenem-hydrolyzing class A β -lactamase, SFC-1, from *Serratia fonticola* UTAD54. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004; 48(6): 2321-2324. doi: 10.1128/AAC.48.6.2321-2324.2004

36. Becka SA, Zeiser ET, Marshall SH, et al. Sequence heterogeneity of the PenA carbapenemase in clinical isolates of *Burkholderia multivorans*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2018; 92(3): 253-258. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2018.06.005

37. Juan C, Torrens G, Gonzalez-Nicolau M, Oliver A. Diversity and regulation of intrinsic β -lactamases from non-fermenting and other Gram-negative opportunistic pathogens. *FEMS Microbiol Rev*. 2017; 41(6): 781-815. doi: 10.1093/femsre/fux043

38. Papp-Wallace KM, Scott AB, Zeiser ET, et al. Overcoming an extremely drug resistant (XDR) pathogen: Avibactam restores susceptibility to ceftazidime for *Burkholderia cepacia* complex isolates from cystic fibrosis patients. *ACS Infect Dis*. 2017; 3(7): 502-511. doi: 10.1021/acsinfectdis.7b00020

39. Nicoletti AG, Marcondes MFM, Martins WMBS, Almeida LGP, Nicolás MF, Vasconcelos ATR, et al. Characterization of BKC-1 class A carbapenemase from *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015; 59(9): 5159-5164. doi: 10.1128/AAC.00158-15

40. Dortet L, Poirel L, Abbas S, Oueslati S, Nordmann P. Genetic and biochemical characterization of FRI-1, a carbapenem-hydrolyzing class A β -lactamase from *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015; 59(12): 7420-7425. doi: 10.1128/AAC.01636-15

41. Schauer J, Gatermann SG, Hoffmann D, Hupfeld L, Pfennigwerth N. GPC-1, a novel class A carbapenemase detected in a clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolate. *J Antimicrob Chemother*. 2020; 75(4): 911-916. doi: 10.1093/jac/dkz536

42. Lv R, Guo J, Yan Y, et al. Characterization of a novel class A carbapenemase PAD-1 from *Paramesorhizobium desertii* A-3-E^T, a strain highly resistant to β -lactam antibiotics. *Sci Rep*. 2017; 7: 8370. doi: 10.1038/s41598-017-07841-1

43. Tamma PD, Simner PJ. Phenotypic detection of carbapenemase-producing organisms from clinical isolates. *J Clin Microbiol*. 2018; 56(11): e01140-18. doi: 10.1128/JCM.01140-18

44. Mojica MF, Bonomo RA, Fast W. B1-metallo- β -lactamases: Where do we stand? *Curr Drug Targets*. 2016; 17(9): 1029-1050. doi: 10.2174/1389450116666151001105622

45. Mercuri PS, Bouillenne F, Boschi L, et al. Biochemical characterization of the FEZ-1 metallo-beta-lactamase of *Legionella gormanii* ATCC 33297T produced in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001; 45(4): 1254-1262. doi: 10.1128/AAC.45.4.1254-1262.2001

46. Lowe CF, Matic N, Champagne S, Romney MG, Leung V, Ritchie G. The brief case: IMP, the uncommonly common carbapenemase. *J Clin Microbiol*. 2020; 58(4): e01094-19. doi: 10.1128/JCM.01094-19

47. Bonardi S, Pitino R. Carbapenemase-producing bacteria in food-producing animals, wildlife and environment: A challenge for human health. *Ital J Food Saf*. 2019; 8(2): 7956. doi: 10.4081/ijfs.2019.7956

48. Makena A, Duzgun AO, Brem J, McDonough MA, Rydzik AM, Abboud MI, et al. Comparison of Verona integron-Borne metallo- β -lactamase (VIM) variants reveals differences in stability and inhibition profiles. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016; 60(3): 1377-1384. doi: 10.1128/AAC.01768-15

49. Zmarlicka M, Nailor M, Nicolau D. Impact of the New Delhi metallo-beta-lactamase on beta-lactam antibiotics. *Infect Drug Resist*. 2015; 8: 297-309. doi: 10.2147/IDR.S39186

50. Bahr G, Vitor-Horen L, Bethel ChR, Bonomo RA, Gonzalez LJ, Vila AJ. Clinical evolution of New Delhi metallo- β -lactamase (NDM) optimizes resistance under Zn(II) deprivation. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017; 62(1): e01849-17. doi: 10.1128/AAC.01849-17

51. Weber RE, Pietsch M, Frühauf A, Pfeifer Y, Martin M, Luft D, et al. IS26-mediated transfer of blaNDM-1 as the main route of resistance transmission during a polyclonal, multispecies outbreak in a German hospital. *Front Microbiol*. 2019; 10: 2817. doi: 10.3389/fmicb.2019.02817

52. Adams MD, Pasteran F, Traglia GM, Martinez J, Huang F, Liu C, et al. Distinct mechanisms of dissemination of NDM-1 metallo- β -lactamase in *Acinetobacter* species in Argentina. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020; 64(5): e00324-20. doi: 10.1128/AAC.00324-20

53. Wendel AF, MacKenzie CR. Characterization of a novel metallo- β -lactamase variant, GIM-2, from a clinical isolate of *Enterobacter cloacae* in Germany. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015; 59(3): 1824-1825. doi: 10.1128/AAC.05062-14

54. Lu Y, Zhao S, Liang H, Zhang W, Liu J, Hu H. The first report of a novel IncHI1B blaSIM-1-carrying megaplasmid pSIM-1-BJ01 from a clinical *Klebsiella pneumoniae* isolate. *Infect Drug Resist*. 2019; 12: 2103-2112. doi: 10.2147/IDR.S212333

55. Zheng Z, Cheng Q, Chan EW-C, Chen S. Genetic and biochemical characterization of VMB-1, a novel metallo- β -lactamase encoded by a conjugative, broad-host range IncC plasmid from *Vibrio* spp. *Adv Biosys*. 2020; 4: 1900221. doi: 10.1002/adbi.201900221

56. Poirel L, Palmieri M, Brilhante M, Masseron A, Perreten V, Nordmann P. PFM-like enzymes are a novel family of subclass B2 metallo- β -lactamases from *Pseudomonas synxantha* belonging to the *Pseudomonas fluorescens* complex Nordmann. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020; 64(2): e01700-19. doi: 10.1128/AAC.01700-19

57. Brem J, Struwe WB, Rydzik AM, et al. Studying the active-site loop movement of the São Paulo metallo- β -lactamase-1. *Chem Sci*. 2015; 6(2): 956-963. doi: 10.1039/c4sc01752h

58. Lopez C, Ayala JA, Bonomo RA, et al. Protein determinants of dissemination and host specificity of metallo- β -lactamases. *Nat Commun*. 2019; 10: 3617. doi: 10.1038/s41467-019-11615-w

59. Jabalameli F, Taki E, Emaneini M, Beigverdi R. Prevalence of metallo- β -lactamase-encoding genes among carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients in Iran. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2018; 51(3): 270-276. doi: 10.1590/0037-8682-0044-2018
60. Smith CA, Stewart NK, Toth M, Vakulenko SB. Structural insights into the mechanism of carbapenemase activity of the OXA-48 β -lactamase. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019; 63(10): e01202-19. doi: 10.1128/AAC.01202-19
61. Pasteran F, Denorme L, Ote I, et al. Rapid identification of OXA-48 and OXA-163 subfamilies in carbapenem-resistant gram-negative *Bacilli* with a novel immunochromatographic lateral flow assay. *J Clin Microbiol*. 2016; 54(11): 2832-2836. doi: 10.1128/JCM.01175-16
62. Doi Y. Treatment options for carbapenem-resistant gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis*. 2019; 69(7): S565-S575. doi: 10.1093/cid/ciz830
63. Joshi PR, Acharya M, Kakshapati T, et al. Co-existence of *bla*_{OXA-23} and *bla*_{NDM-1} genes of *Acinetobacter baumannii* isolated from Nepal: Antimicrobial resistance and clinical significance. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2017; 6(21). doi: 10.1186/s13756-017-0180-5
64. Кузьменков А.Ю., Трушин И.В., Авраменко А.А., Эйдельштейн М.В., Дехнич А.В., Козлов Р.С. Амгмар: интернет-платформа мониторинга антибиотикорезистентности. *KMAX*. 2017. 19(2): 84-90.
65. Baeza LL, Pfennigwerth N, Greissl C, Gottig S, Saleh A, Stelzer Y, et al. Comparison of five methods for detection of carbapenemases in *Enterobacteriales* with proposal of a new algorithm. *Clin Microbiol Infect*. 2019; 25(10): 1286.e9-1286.e15. doi: 10.1016/j.cmi.2019.03.003
66. Zhivich A. Fighting bacterial resistance: Approaches, challenges, and opportunities in the search for new antibiotics. Part 1. Antibiotics used in clinical practice: mechanisms of action and the development of bacterial resistance. *The Microbiology Independent Research (MIR) journal*. 2017; 4(1): 31-51. doi: 10.18527/2500-2236-2017-4-1-31-51
67. Lohans CT, Groesen E van, Kumar K, Tooke CL, Spencer J, Paton RS, et al. A new mechanism for β -lactamases: Class D enzymes degrade 1 β -methyl carbapenems through lactone formation. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2018; 57: 1282. doi: 10.1002/anie.201711308
68. Shurygina IA, Prozorova GF, Trukhan IS, Korzhova SA, Fadeeva TV, Pozdnyakov AS, et al. NonToxic Silver/Poly-1-Vinyl-1,2,4-Triazole. *Nanomaterials*. 2020; 10(8): 1477. doi: 10.3390/nano10081477
69. Williamson DA, Carter GP, Howden BP. Current and emerging topical antibacterials and antiseptics: Agents, action, and resistance patterns. *Clin Microbiol Rev*. 2017; 30(3): 827-860. doi: 10.1128/CMR.00112-16
70. Belete TM. Novel targets to develop new antibacterial agents and novel alternatives to antibacterial agents. *Hum Microb J*. 2019; 11: 100052. doi: 10.1016/j.humic.2019.01.001
71. Белобородов В.Б., Гусаров В.Г., Дехнич А.В., Замятин М.Н., Зубарева Н.А., Зырянов С.К. и др. Диагностика и антимикробная терапия инфекций, вызванных полирезистентными микроорганизмами: методические рекомендации Российской некоммерческой общественной организации «Ассоциация анестезиологов-реаниматологов», Межрегиональной общественной организации «Альянс клинических химиотерапевтов и микробиологов», Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАК-МАХ), Общественной организации «Российский Сепсис Форум». *Вестник анестезиологии и реаниматологии*. 2020; 17(1): 52-83.
72. Лазарева И.В., Агеев В.А., Ершова Т.А., Зуева Л.П., Гончаров А.Е., Дарьина М.Г. и др. Распространение и антибактериальная резистентность грамотрицательных бактерий, продуцентов карбапенемаз, в Санкт-Петербурге и некоторых других регионах Российской Федерации. *Антибиотики и химиотерапия*. 2016; 61(11-12): 28-38.
73. Pagano M, Martins AF, Barth AL. Mobile genetic elements related to carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Braz J Microbiol*. 2016; 47(4): 785-792. doi: 10.1016/j.bjm.2016.06.005
74. Shek EA, Sukhorukova MV, Edelstein MV, Skleenova EYu, Ivanchik NV, Shajdullina ER, et al. Antimicrobial resistance, carbapenemase production, and genotypes of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Russia: Results of multicenter epidemiological study "MARATHON 2015-2016". *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2019; 21(2): 160-170. doi: 10.36488/cmca.2019.2.160-170
75. Bonomo RA, Burd EM, Conly J, Limbago BM, Poirel L, Segre JA, et al. Carbapenemase-producing organisms: A global scourge. *Clin Infect Dis*. 2018; 66(8): 1290-1297. doi: 10.1093/cid/cix893

REFERENCES

1. Meletis G. Carbapenem resistance: Overview of the problem and future perspectives. *Ther Adv Infect Dis*. 2016; 3(1): 15-21. doi: 10.1177/2049936115621709
2. Codjoe FS, Donkor ES. Carbapenem resistance: A review. *Med Sci (Basel)*. 2017; 6(1): 1. doi: 10.3390/medsci6010001
3. Dadgostar P. Antimicrobial resistance: Implications and costs. *Infect Drug Resist*. 2019; 12: 3903-3910. doi: 10.2147/IDR.S234610
4. Walther-Rasmussen J, Hoiby N. OXA-type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother*. 2006; 57(3): 373-383. doi: 10.1093/jac/dki482
5. Hammoudi HD, Ayoub MC. The current burden of carbapenemases: Review of significant properties and dissemination among gram-negative bacteria. *Antibiotics (Basel)*. 2020; 9(4): 186. doi: 10.3390/antibiotics9040186
6. Mangat CS, Vadlamani G, Holicek V, et al. Molecular basis for the potent inhibition of the emerging carbapenemase VCC-1 by avibactam. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019; 63(4). doi: 10.1128/aac.02112-18
7. Roschanski N, Guenther S, Vu TTT, et al. VIM-1 carbapenemase-producing *Escherichia coli* isolated from retail seafood, Germany 2016 [published correction appears in Euro Surveill. 2017 Nov;22(45):]. *Euro Surveill*. 2017; 22(43): 17-00032. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2017.22.43.17-00032
8. Sugawara Y, Hagiya H, Aakeda Y, et al. Dissemination of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* harbouring *bla*_{NDM} or *bla*_{IMI} in local market foods of Yangon, Myanmar. *Sci Rep*. 2019; 9: 14455. doi: 10.1038/s41598-019-51002-5
9. Elshamy AA, Aboshanab KM. A review on bacterial resistance to carbapenems: Epidemiology, detection and treatment options. *Future Sci OA*. 2020; 6: 3. doi: 10.2144/fsoa-2019-0098
10. Polishchuk AG, Iakubovich EI, Polukhina OV, Osovskikh VV, Evtushenko VI. Carbapenemase-producing gram-negative bacteria in a specialized hospital in St. Petersburg. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2017; 7(2): 181-192. doi: 10.15789/2220-7619-2017-2-181-192. (In Russ.)
11. Jeon JH, Lee JH, Lee JJ, et al. Structural basis for carbapenem-hydrolyzing mechanisms of carbapenemases conferring antibiotic resistance. *Int J Mol Sci*. 2015; 16(5): 9654-9692. doi: 10.3390/ijms16059654
12. Sawa T, Kooguchi K, Moriyama K. Molecular diversity of extended-spectrum β -lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance. *J Intensive Care*. 2020; 8(13). doi: 10.1186/s40560-020-0429-6
13. Reyes JA, Melano R, Cardenas PA, Trueba G. Mobile genetic elements associated with carbapenemase genes in South American *Enterobacteriales*. *Braz J Infect Dis*. 2020; 24(3): 231-238. doi: 10.1016/j.bjid.2020.03.002
14. Partridge SR, Kwong SM, Firth N, Jensen SO. Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance. *Clin Microbiol Rev*. 2018; 31(4): e00088-17. doi: 10.1128/CMR.00088-17
15. Diene SM, Rolain J-M. Carbapenemase genes and genetic platforms in Gram-negative bacilli: *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clin Microbiol Infect*. 2014; 20(9): 831-838. doi: 10.1111/1469-0691.12655

16. Brouwer MSM, Tehrani KHME, Rapallini M, et al. Novel carbapenemases FLC-1 and IMI-2 encoded by an *Enterobacter cloacae* complex isolated from food products. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019; 63(6): e02338-18. doi: 10.1128/AAC.02338-18
17. Aires-de-Sousa M, Ortiz de la Rosa J, Gonçalves M, Pereira A, Nordmann P, Poirel L. Epidemiology of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a hospital, Portugal. *Emerg Infect Dis.* 2019; 25(9): 1632-1638. doi: 10.3201/eid2509.190656
18. Piccirilli A, Mercuri PS, Galleni M, et al. P174E substitution in GES-1 and GES-5 β -lactamases improves catalytic efficiency toward carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018; 62(5): e01851-17. doi: 10.1128/AAC.01851-17
19. Chihi H, Bonnin RA, Bourouis A, Mahrouki S, Besbes S, Moussa MB, et al. GES-11-producing *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Tunisian hospitals: Long-term dissemination of GES-type carbapenemases in North Africa. *J Glob Antimicrob Resist.* 2016; 5: 47-50. doi: 10.1016/j.jgar.2016.03.005
20. Hopkins KL, Findlay J, Meunier D, Cummins M, Curtis S, Kustos I, et al. *Serratia marcescens* producing SME carbapenemases: An emerging resistance problem in the UK? *J Antimicrob Chemother.* 2017; 72(5): 1535-1537. doi: 10.1093/jac/dkw567
21. Iovene MR, Pota V, Galdiero M, et al. First Italian outbreak of VIM-producing *Serratia marcescens* in an adult polyvalent intensive care unit, August-October 2018: A case report and literature review. *World J Clin Cases.* 2019; 7(21): 3535-3548. doi: 10.12998/wjcc.v7.i21.3535
22. Sahuquillo-Arce JM, Hernandez-Cabezas A, Yarad-Auad F, Ibanez-Martínez E, Falomir-Salcedo P, Ruiz-Gaitán A. Carbapenemases: A worldwide threat to antimicrobial therapy. *World J Pharmacol.* 2015; 4(1): 75-95. doi: 10.5497/wjp.v4.i1.75
23. Liakopoulos A, Mevius D, Ceccarelli D. A review of SHV extended-spectrum β -lactamases: Neglected yet ubiquitous. *Front Microbiol.* 2016; 7: 1374. doi: 10.3389/fmicb.2016.01374
24. Naas T, Dortet L, Iorga BI. Structural and functional aspects of class A carbapenemases. *Current Drug Targets.* 2016; 17(9): 1006-1028. doi: 10.2174/1389450117666160310144501
25. Cui X, Zhang H, Du H. Carbapenemases in *Enterobacteriaceae*: Detection and antimicrobial therapy. *Front Microbiol.* 2019; 10: 1823. doi: 10.3389/fmicb.2019.01823
26. Niu S, Chavda KD, Wei J, et al. A ceftazidime-avibactam-resistant and carbapenem-susceptible *Klebsiella pneumoniae* strain harboring *bla*_{KPC-14} isolated in New York City. *mSphere.* 2020; 5(4): e00775-20. doi: 10.1128/mSphere.00775-20
27. Bonnin RA, Jousset AB, Urvoys N, Gauthier L, Tlili L, Creton E, et al. Detection of GES-5 carbapenemase in *Klebsiella pneumoniae*, a newcomer in France. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017; 61(3): e02263-16. doi: 10.1128/AAC.02263-16
28. Marsh JW, Mustapha MM, Griffith MP, Evans DR, Ezeonwuka C, Pasculle AW, et al. Evolution of outbreak-causing carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST258 at a tertiary care hospital over 8 years. *MBio.* 2019; 10(5): e01945-19. doi: 10.1128/mBio.01945-19
29. Duin D van, Doi Y. The global epidemiology of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Virulence.* 2017; 8(4): 460-469. doi: 10.1080/21505594.2016.1222343
30. Antonelli A, D'Andrea MM, Di Pilato V, et al. Characterization of a novel putative Xer-dependent integrative mobile element carrying the bla(NMC-A) carbapenemase gene, inserted into the chromosome of members of the *Enterobacter cloacae* complex. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015; 59(10): 6620-6624. doi: 10.1128/aac.01452-15
31. Boyd DA, Mataseje LF, Davidson R, Delpont JA, Fuller J, Hoang L, et al. *Enterobacter cloacae* complex isolates harboring *bla*_{NMC-A} or *bla*_{IMI}-type class A carbapenemase genes on novel chromosomal integrative elements and plasmids. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017; 61(5): e02578-16. doi: 10.1128/AAC.02578-16
32. Hopkins KL, Findlay J, Doumith M, Mather B, Meunier D, D'Arcy S, et al. IMI-2 carbapenemase in a clinical *Klebsiella variicola* isolated in the UK. *J Antimicrob Chemother.* 2017; 72(7): 2129-2131. doi: 10.1093/jac/dkx103
33. Huang L, Wang X, Feng Y, Xie Y, Xie L, Zong Z. First identification of an IMI-1 carbapenemase-producing colistin-resistant *Enterobacter cloacae* in China. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2015; 14: 51. doi: 10.1186/s12941-015-0112-2
34. Fonseca F, Sarmiento AC, Henriques I, Samyn B, Beumen J van, Domingues P, et al. Biochemical characterization of SFC-1, a class A carbapenem-hydrolyzing β -lactamase. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007; 51(12): 4512-4514. doi: 10.1128/AAC.00491-07
35. Henriques I, Moura A, Alves A, Saavedra MJ, Correia A. Molecular characterization of a carbapenem-hydrolyzing class A β -lactamase, SFC-1, from *Serratia fonticola* UTAD54. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48(6): 2321-2324; doi: 10.1128/AAC.48.6.2321-2324.2004
36. Becka SA, Zeiser ET, Marshall SH, et al. Sequence heterogeneity of the PenA carbapenemase in clinical isolates of *Burkholderia multivorans*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2018; 92(3): 253-258. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2018.06.005
37. Juan C, Torrens G, Gonzalez-Nicolau M, Oliver A. Diversity and regulation of intrinsic β -lactamases from non-fermenting and other Gram-negative opportunistic pathogens. *FEMS Microbiol Rev.* 2017; 41(6): 781-815. doi: 10.1093/femsre/fux043
38. Papp-Wallace KM, Scott AB, Zeiser ET, et al. Overcoming an extremely drug resistant (XDR) pathogen: Avibactam restores susceptibility to ceftazidime for *Burkholderia cepacia* complex isolates from cystic fibrosis patients. *ACS Infect Dis.* 2017; 3(7): 502-511. doi: 10.1021/acsinfecdis.7b00020
39. Nicoletti AG, Marcondes MFM, Martins WMBS, Almeida LGP, Nicolás MF, Vasconcelos ATR, et al. Characterization of BKC-1 class A carbapenemase from *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015; 59(9): 5159-5164. doi: 10.1128/AAC.00158-15
40. Dortet L, Poirel L, Abbas S, Oueslati S, Nordmann P. Genetic and biochemical characterization of FRI-1, a carbapenem-hydrolyzing class A β -lactamase from *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015; 59(12): 7420-7425. doi: 10.1128/AAC.01636-15
41. Schauer J, Gattermann SG, Hoffmann D, Hupfeld L, Pfennigwerth N. GPC-1, a novel class A carbapenemase detected in a clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolate. *J Antimicrob Chemother.* 2020; 75(4): 911-916. doi: 10.1093/jac/dkz536
42. Lv R, Guo J, Yan Y, et al. Characterization of a novel class A carbapenemase PAD-1 from *Paramesorhizobium desertii* A-3-ET, a strain highly resistant to β -lactam antibiotics. *Sci Rep.* 2017; 7: 8370. doi: 10.1038/s41598-017-07841-1
43. Tamma PD, Simner PJ. Phenotypic detection of carbapenemase-producing organisms from clinical isolates. *J Clin Microbiol.* 2018; 56(11): e01140-18. doi: 10.1128/JCM.01140-18
44. Mojica MF, Bonomo RA, Fast W. B1-metallo- β -lactamases: Where do we stand? *Curr Drug Targets.* 2016; 17(9): 1029-1050. doi: 10.2174/1389450116666151001105622
45. Mercuri PS, Bouillenne F, Boschi L, et al. Biochemical characterization of the FEZ-1 metallo-beta-lactamase of *Legionella gormanii* ATCC 33297T produced in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001; 45(4): 1254-1262. doi: 10.1128/AAC.45.4.1254-1262.2001
46. Lowe CF, Matic N, Champagne S, Romney MG, Leung V, Ritchie G. The brief case: IMP, the uncommonly common carbapenemase. *J Clin Microbiol.* 2020; 58(4): e01094-19. doi: 10.1128/JCM.01094-19
47. Bonardi S, Pitino R. Carbapenemase-producing bacteria in food-producing animals, wildlife and environment: A challenge for human health. *Ital J Food Saf.* 2019; 8(2): 7956. doi: 10.4081/ijfs.2019.7956
48. Makena A, Duzgun AO, Brem J, McDonough MA, Rydzik AM, Abboud MI, et al. Comparison of Verona integron-Borne metallo- β -lactamase (VIM) variants reveals differences in stability and inhibition profiles. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016; 60(3): 1377-1384. doi: 10.1128/AAC.01768-15
49. Zmarlicka M, Nailor M, Nicolau D. Impact of the New Delhi metallo-beta-lactamase on beta-lactam antibiotics. *Infect Drug Resist.* 2015; 8: 297-309. doi: 10.2147/IDR.S39186

50. Bahr G, Vitor-Horen L, Bethel ChR, Bonomo RA, Gonzalez LJ, Vila AJ. Clinical evolution of New Delhi metallo- β -lactamase (NDM) optimizes resistance under Zn(II) deprivation. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017; 62(1): e01849-17. doi: 10.1128/AAC.01849-17
51. Weber RE, Pietsch M, Frühauf A, Pfeifer Y, Martin M, Luft D, et al. IS26-mediated transfer of blaNDM-1 as the main route of resistance transmission during a polyclonal, multispecies outbreak in a German hospital. *Front Microbiol*. 2019; 10: 2817. doi: 10.3389/fmicb.2019.02817
52. Adams MD, Pasteran F, Traglia GM, Martinez J, Huang F, Liu C, et al. Distinct mechanisms of dissemination of NDM-1 metallo- β -lactamase in *Acinetobacter* species in Argentina. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020; 64(5): e00324-20. doi: 10.1128/AAC.00324-20
53. Wendel AF, MacKenzie CR. Characterization of a novel metallo- β -lactamase variant, GIM-2, from a clinical isolate of *Enterobacter cloacae* in Germany. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015; 59(3): 1824-1825. doi: 10.1128/AAC.05062-14
54. Lu Y, Zhao S, Liang H, Zhang W, Liu J, Hu H. The first report of a novel IncHI1B blaSIM-1-carrying megaplasmid pSIM-1-BJ01 from a clinical *Klebsiella pneumoniae* isolate. *Infect Drug Resist*. 2019; 12: 2103-2112. doi: 10.2147/IDR.S212333
55. Zheng Z, Cheng Q, Chan EW-C, Chen S. Genetic and biochemical characterization of VMB-1, a novel metallo- β -lactamase encoded by a conjugative, broad-host range IncC plasmid from *Vibrio* spp. *Adv. Biosys*. 2020; 4: 1900221. doi: 10.1002/adbi.201900221
56. Poirel L, Palmieri M, Brilhante M, Masseron A, Perreten V, Nordmann P. PFM-like enzymes are a novel family of subclass B2 metallo- β -lactamases from *Pseudomonas synxantha* belonging to the *Pseudomonas fluorescens* complex Nordmann. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020; 64(2): e01700-19. doi: 10.1128/AAC.01700-19
57. Brem J, Struwe WB, Rydzik AM, et al. Studying the active-site loop movement of the São Paulo metallo- β -lactamase-1. *Chem Sci*. 2015; 6(2): 956-963. doi: 10.1039/c4sc01752h
58. Lopez C, Ayala JA, Bonomo RA, et al. Protein determinants of dissemination and host specificity of metallo- β -lactamases. *Nat Commun*. 2019; 10: 3617. doi: 10.1038/s41467-019-11615-w
59. Jabalameli F, Taki E, Emameini M, Beigverdi R. Prevalence of metallo- β -lactamase-encoding genes among carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients in Iran. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2018; 51(3): 270-276. doi: 10.1590/0037-8682-0044-2018
60. Smith CA, Stewart NK, Toth M, Vakulenko SB. Structural insights into the mechanism of carbapenemase activity of the OXA-48 β -lactamase. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019; 63(10): e01202-19. doi: 10.1128/AAC.01202-19
61. Pasteran F, Denorme L, Ote I, et al. Rapid identification of OXA-48 and OXA-163 subfamilies in carbapenem-resistant gram-negative *Bacilli* with a novel immunochromatographic lateral flow assay. *J Clin Microbiol*. 2016; 54(11): 2832-2836. doi: 10.1128/JCM.01175-16
62. Doi Y. Treatment options for carbapenem-resistant gram-negative bacterial infections. *Clin Infect Dis*. 2019; 69(7): S565-S575. doi: 10.1093/cid/ciz830
63. Joshi PR, Acharya M, Kakshapati T, et al. Co-existence of bla_{OXA-23} and bla_{NDM-1} genes of *Acinetobacter baumannii* isolated from Nepal: Antimicrobial resistance and clinical significance. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2017; 6(21). doi: 10.1186/s13756-017-0180-5
64. Kuzmenkov AYU, Trushin IV, Avramenko AA, Eidelshstein MV, Dekhnich AV, Kozlov RS. Amrmap: online platform for monitoring antibiotic resistance. *KMAX*. 2017. 19(2): 84-90. (In Russ.)
65. Baeza LL, Pfennigwerth N, Greissl C, Gottig S, Saleh A, Stelzer Y, et al. Comparison of five methods for detection of carbapenemases in *Enterobacterales* with proposal of a new algorithm. *Clin Microbiol Infect*. 2019; 25(10): 1286.e9-1286.e15. doi: 10.1016/j.cmi.2019.03.003
66. Zhivich A. Fighting bacterial resistance: Approaches, challenges, and opportunities in the search for new antibiotics. Part 1. Antibiotics used in clinical practice: mechanisms of action and the development of bacterial resistance. *The Microbiology Independent Research (MIR) journal*. 2017; 4(1): 31-51. doi: 10.18527/2500-2236-2017-4-1-31-51
67. Lohans CT, Groesen E van, Kumar K, Tooke CL, Spencer J, Paton RS, et al. A new mechanism for β -lactamases: Class D enzymes degrade 1 β -methyl carbapenems through lactone formation. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2018; 57: 1282. doi: 10.1002/anie.201711308
68. Shurygina IA, Prozorova GF, Trukhan IS, Korzhova SA, Fadeeva TV, Pozdnyakov AS, et al. NonToxic Silver/Poly-1-Vinyl-1,2,4-Triazole. *Nanomaterials*. 2020; 10(8): 1477. doi: 10.3390/nano10081477
69. Williamson DA, Carter GP, Howden BP. Current and emerging topical antibacterials and antiseptics: Agents, action, and resistance patterns. *Clin Microbiol Rev*. 2017; 30(3): 827-860. doi: 10.1128/CMR.00112-16
70. Belete TM. Novel targets to develop new antibacterial agents and novel alternatives to antibacterial agents. *Hum Microb J*. 2019; 11: 100052. doi: 10.1016/j.humic.2019.01.001
71. Beloborodov VB, Gusarov VG, Dekhnich AV, Zamiatin MN, Zubareva NA, Zyrianov SK, et al. Diagnostics and antimicrobial therapy of infections caused by multidrug-resistant microorganisms: Guidelines of the Russian non-profit public organization «Association of Anesthesiologists and Resuscitators», Interregional Public Organization «Alliance of Clinical Chemotherapists and Microbiologists», Interregional Association for Clinical Microbiology and Antimicrobial Organization (MAKMAX) Sepsis Forum». *Messenger of Anesthesiology and Resuscitation*. 2020; 17(1): 52-83. (In Russ.)
72. Lazareva IV, Ageevets VA, Ershova TA, Zueva LP, Goncharov AE, Daryina MG, et al. Distribution and antibacterial resistance of gram-negative bacteria, producers of carbapenemases, in St. Petersburg and some other regions of the Russian Federation. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2016; 61(11-12): 28-38. (In Russ.)
73. Pagano M, Martins AF, Barth AL. Mobile genetic elements related to carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Braz J Microbiol*. 2016; 47(4): 785-792. doi: 10.1016/j.bjm.2016.06.005
74. Shek EA, Sukhorukova MV, Edelstein MV, Skleenova EYu, Ivanchik NV, Shajdullina ER, et al. Antimicrobial resistance, carbapenemase production, and genotypes of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Russia: Results of multicenter epidemiological study "MARATHON 2015-2016". *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2019; 21(2): 160-170. doi: 10.36488/cmac.2019.2.160-170
75. Bonomo RA, Burd EM, Conly J, Limbago BM, Poirel L, Segre JA, et al. Carbapenemase-producing organisms: A global scourge. *Clin Infect Dis*. 2018; 66(8): 1290-1297. doi: 10.1093/cid/cix893

Сведения об авторе

Невежина Анна Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий и регенеративной медицины, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail hanneanevezhina@gmail.com

Information about the author

Anna V. Nevezhina – Junior Research Officer at the Laboratory of Cell Technologies and Regenerative Medicine, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: hanneanevezhina@gmail.com

Статья получена: 26.10.2020. Статья принята: 18.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 26.10.2020. Accepted: 18.11.2020. Published: 26.12.2020.

Особенности состава микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами*

Григорова Е.В., Рычкова Л.В., Шолохов Л.Ф., Белькова Н.Л., Немченко У.М.,
Кунгурцева Е.А., Воропаева Н.М., Савелькаева М.В.

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

Автор, ответственный за переписку: Григорова Екатерина Владимировна, e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru

Резюме

Обоснование. Развитие функциональных гастроинтестинальных расстройств (ФГИР) у детей, особенно первого года жизни, является ключевым фактором при формировании изменённой микробиоты толстой кишки и её становлении в старшем возрасте. В статье представлена как клиническая (развёрнутый анамнез, симптоматика ФГИР), так и бактериологическая (качественный и количественный состав) характеристика микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни.

Цель работы: определить особенности микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни с ФГИР. **Материалы и методы.** Объектами исследования являлись дети первого года жизни ($n = 28$) с установленным врачом-гастроэнтерологом диагнозом ФГИР. Материал был распределён на две группы сравнения в зависимости от возраста обследуемых: в первую группу входили копропробы детей в возрасте от рождения до 6 месяцев ($n = 17$), во вторую – от 6 до 12 месяцев ($n = 11$). Бактериологическое исследование количественного и качественного состава содержимого толстой кишки проводили стандартными методами.

Результаты. По данным анамнеза установлено, что колики и метеоризм являлись ключевыми симптомами ФГИР ($p < 0,05$). Полученные результаты показывают, что формирование ФГИР у детей от рождения до 6 месяцев и от 6 до 12 месяцев могут быть ассоциированы с изменённой микробиотой толстой кишки. Отмечено как снижение количественных показателей индигенной микробиоты: бифидобактерий, КП НФС и *Enterococcus* spp., так и увеличение степени обсеменённости *Klebsiella* spp., *S. aureus*, *Clostridium* spp. **Заключение.** Показано, что определяющим фактором в снижении риска развития ФГИР у детей первого года жизни является высокая концентрация и разнообразие индигенной микробиоты.

Ключевые слова: микробиота толстой кишки, дети первого года жизни, функциональные гастроинтестинальные расстройства

Для цитирования: Григорова Е.В., Рычкова Л.В., Шолохов Л.Ф., Белькова Н.Л., Немченко У.М., Кунгурцева Е.А., Воропаева Н.М., Савелькаева М.В. Особенности состава микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни с функциональными гастроинтестинальными расстройствами. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 106-112. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.12.

Features of the Composition of the Colon Microbiota in Children of the First Year of Life with Functional Gastrointestinal Disorders

Grigorova E.V., Rychkova L.V., Sholokhov L.F., Belkova N.L., Nemchenko U.M., Kungurtseva E.A.,
Voropaeva N.M., Savelkaeva M.V.

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

Corresponding author: Ekaterina V. Grigorova, e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru

Abstract

Background. The development of functional gastrointestinal disorders (FGID) in children, especially in the first year of life, is a key factor in the formation of an altered colon microbiota and its formation in older age. The article presents both clinical-detailed anamnesis, symptoms of FGID, and bacteriological characteristics – qualitative and quantitative composition of the colon microbiota in children of the first year of life.

Aim: to determine the features of the colon microbiota in children of the first year of life with FGID.

Materials and methods. The objects of the study were children of the first year of life ($n = 28$) with a diagnosis of FGID established by a gastroenterologist. The material was divided into two comparison groups, depending on the age of the subjects: the first group included stool sample cultures of children aged from birth to 6 months ($n = 17$), the second – from 6 to 12 months ($n = 11$). The bacteriological study of the quantitative and qualitative composition of the contents of the colon was performed using standard methods.

Results. According to the anamnesis, colic and flatulence were the key symptoms of FGID ($p < 0.05$). The results show that the formation of FGID in children from birth to 6 months and from 6 to 12 months may be associated with altered colon microbiota. There was a decrease in the quantitative indicators of the indigenous microbiota: bifidobacteria, *E. coli* with normal sensitivity and *Enterococcus* spp., and an increase in the degree of contamination of *Klebsiella* spp., *S. aureus*, *Clostridium* spp.

Conclusion. It is shown that the determining factor in reducing the risk of developing FGID in children of the first year of life is a high concentration and diversity of indigenous microbiota.

Key words: colon microbiota, children of the first year of life, functional gastrointestinal disorders

For citation: Grigorova E.V., Rychkova L.V., Sholokhov L.F., Belkova N.L., Nemchenko U.M., Kungurtseva E.A., Voropaeva N.M., Savelkaeva M.V. Features of the Composition of the Colon Microbiota in Children of the First Year of Life with Functional Gastrointestinal Disorders. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 106-112. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.12.

* Статья опубликована по материалам доклада на IV Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 16 октября 2020 года).

Формирование ФГИР представляет одну из актуальных и широко распространённых проблем у детей, особенно раннего детского возраста [1, 2]. По последним данным исследователей всего мира установлено, что при функциональных расстройствах могут изменяться не только моторная функция, переваривание и всасывание питательных веществ [3], но и состав микробиоты толстой кишки [4], а также активность иммунной системы [5–7].

Известно, что кишечная микробиота претерпевает множественные изменения при увеличении возраста ребёнка [8–10]. Исследователи отмечают, что в период до 6 месяцев при снижении представителей индигенной микробиоты доминируют кишечные палочки с атипичными свойствами, протеи и коагулазопозитивные стафилококки, а к 12 месяцам возрастает частота выделения патобионтов, таких как клебсиеллы [11–13]. На первом году жизни ребёнка важным этапом при развитии ФГИР с типичной клинической симптоматикой становится формирование микробиоты и иммунной системы слизистой толстой кишки [14]. Показано, что представители условно-патогенной микробиоты (УПМ) родов *Klebsiella* и *Staphylococcus* могут быть основными значимыми детерминантами снижения количества представителей индигенной флоры толстой кишки [15]. Таким образом, выделяемые из кишечной микробиоты *S. aureus* и *Klebsiella* spp. могут стать информационно значимыми критериями для процедур скрининга и диагностики дисбиотических состояний у детей первого года жизни при ФГИР. Новые данные помогут углубить научные знания о ФГИР, их клинических проявлениях и особенностях изменения кишечной микробиоты у детей первого года жизни для коррекции дисбиотических состояний толстой кишки.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определить особенности микробиоты толстой кишки у детей с ФГИР в разные периоды первого года жизни.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При исследовании были соблюдены этические принципы, предъявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964 г., 2013 г. ред.) и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утверждёнными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» и выполнено с информированного согласия пациентов.

Объектами исследования являлись дети первого года жизни ($n = 28$). Материал был распределён на две группы в зависимости от возраста обследуемых: в первую группу входили копропробы детей в возрасте от рождения до 6 месяцев ($n = 17$, среди которых было 9 девочек и 8 мальчиков), во вторую – от 6 до 12 месяцев ($n = 11$, среди которых было 6 девочек и 5 мальчиков). Установлено, что статистически значимых гендерных различий при исследовании микробиоты толстой кишки не было ($p > 0,05$).

В исследование включали детей с диагнозом ФГИР, установленным врачом-гастроэнтерологом (Римские критерии IV, 2016 г.) [16], не имеющих органических поражений ЖКТ, не принимавших антибактериальные,

пробиотические препараты и лечебные бактериофаги в предшествующие три месяца.

Бактериологическое исследование состава содержимого толстой кишки проводили согласно Отраслевому стандарту «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» 91500.11.0004-2003 [17]. Выделенные микроорганизмы толстой кишки идентифицировали при помощи общепринятых схем с применением коммерческих тест-систем: СИБ (НИИЭМ, г. Н. Новгород); ENTEROtest 16 и ENTEROtest 24 (PLIVA-Lachema, Чехия); среды Гисса (Россия). Идентификацию дрожжеподобных грибов проводили с использованием хромогенного агара HiCrome Candida Agar (HiCrome Candida Differential Agar) (HiMedia Laboratories, Индия). Для определения бактерий рода *Staphylococcus* использовали селективный солевой агар (НИЦФ, г. Санкт-Петербург). Идентификацию неферментирующих бактерий вели по стандартной схеме [18]. Культивирование лактобацилл и бифидобактерий осуществляли на плотных селективных питательных средах в микроанаэроостате с применением газогенерирующих пакетов «Анаэрогаз».

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи лицензионных прикладных программ «MS Office Excel 2013 for Windows 7». Для определения уровня значимости между группами сравнения использовали критерий Фишера. При определении значений критерия Фишера ориентировались на два положения: если значение точного критерия Фишера больше критического, принимали нулевую гипотезу (H_0) и делали вывод об отсутствии статистически значимых различий частоты исхода в зависимости от фактора риска; если значение точного критерия Фишера было меньше критического принимали альтернативную гипотезу (H_1) и делали вывод о наличии статистически значимых различий частоты исхода в зависимости от воздействия фактора риска. При $p \leq 0,05$ различия считались статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе анамнестических данных пациентов установлено, что дети обеих групп проживали в г. Иркутске (табл. 1).

В 23,5 % случаев у матерей 1-й группы (дети от рождения до 6 месяцев) беременность была первой, в 76,5 % случаев – второй. Во 2-й группе (дети от 6 до 12 месяцев), наоборот, первая беременность отмечалась у 72,7 % матерей и вторая – у 27,3 % ($p < 0,01$). По критерию осложнений родоразрешения выявлено, что процесс родов протекал нормально у 10 матерей 1-й группы сравнения и почти у всех матерей 2-й группы (10 человек) – 58,8 и 90,9 % соответственно ($p < 0,05$). Осложнённые роды наблюдали у 6 матерей 1-й группы и у одной матери – 2-й группы ($p < 0,05$). Сложные роды с разрывом промежности регистрировали у одной женщины 1-й группы.

По виду вскармливания не было установлено статистически значимых отличий. На грудном вскармливании находилось 7 детей 1-й группы и 6 детей 2-й группы (41,2 и 54,5 % соответственно), на искусственном – 8 детей первой и 2 ребёнка второй группы (47,1 и 18,2 % соответственно), на смешанном – 2 ребёнка первой и 3 ребёнка второй группы (11,7 и 27,3 % соответственно) ($p > 0,05$).

У 4 детей каждой из групп отмечали аллергию (23,5 и 36,4 % соответственно). Трое детей (17,6 %) в возрасте

Таблица 1

Table 1

Сравнительная характеристика анамнестических критериев у детей с ФГИР

Comparative characteristics of anamnestic criteria in children with FGID

Показатель	Пол		Место жительства (г. Иркутск)	Возраст пациента на момент осмотра (мес.)	Беременность у матери		Осложнённые родоразрешения			Вид вскармливания			Наличие аллергии		ОРВИ		Острые кишечные инфекции	
	женский	мужской			первая	вторая	нормальные роды	осложнённые роды	сложные роды	грудное	искусственное	смешанное	есть	нет	перенесли	не перенесли	перенесли	не перенесли
Количество, чел.	9/6	8/5	17/11	17/11	4/8	13/3	10/10	6/1	1/0	7/6	8/2	2/3	4/4	13/7	3/2	14/9	4/1	13/10
Частота регистрации признака, %	52,9/ 54,5	47,1/ 45,5	100/ 100	100/ 100	23,5/ 72,7	76,5/ 27,3	58,8/ 90,9	35,3/ 9,1	5,9/0	41,2/ 54,5	47,1/ 18,2	11,7/ 27,3	23,5/ 36,4	76,5/ 63,6	17,6/ 18,2	82,4/ 81,8	23,5/ 9,1	76,5/ 90,9
Значение критерия Фишера	0,083	0,083	–	–	2,661	2,661	2,018	1,705	1,266	1,007	1,630	1,030	0,728	0,728	0,036	0,036	1,035	1,035
Уровень значимости	$p > 0,05$	$p > 0,05$	–	–	$p < 0,01$	$p < 0,01$	$p < 0,05$ (принята гипотеза H1)	$p < 0,05$ (принята гипотеза H1)	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

Примечание. Дети в возрасте от рождения до 6 месяцев (1-я группа) / дети в возрасте от 6 до 12 месяцев (2-я группа).

Таблица 2

Table 2

Симптоматика ФГИР у детей первого года жизни

Symptoms of FGID in children of the first year of life

Показатель	Срыгивания		Колики		Метеоризм			Характер стула		
	есть	нет	нет	периодически	нет	часто	периодически	часто	норма	запоры
Количество, чел.	6/3	11/8	3/4	13/5	1/5	1/2	0/5	16/1	3/1	1/2
Частота регистрации признака, %	35,3/27,3	64,7/72,7	17,6/36,4	76,5/45,4	5,9/45,4	5,9/18,2	0/45,4	94,1/9,2	17,6/9,1	5,9/18,2
Значение критерия Фишера	0,448	0,448	1,105	1,677	2,558	1,011	3,824	5,270	0,658	1,011
Уровень значимости	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$ (принята гипотеза H1)	$p < 0,01$	$p > 0,05$	$p < 0,01$	$p < 0,01$	$p > 0,05$	$p > 0,05$

Примечание. Дети в возрасте от рождения до 6 месяцев (1-я группа) / дети в возрасте от 6 до 12 месяцев (2-я группа).

до 6 месяцев и двое – в возрасте 6–12 месяцев (18,2 %) перенесли острые респираторные инфекции дыхательных путей. Острые кишечные инфекции перенесли 4 ребёнка первой и 1 ребёнок второй группы (23,5 и 9,1 % соответственно) ($p > 0,05$) (табл. 1).

Симптоматика ФГИР у детей в разные периоды первого года жизни была представлена срыгиваниями, коликами, метеоризмом и изменённым характером стула (табл. 2).

Срыгивания наблюдали у 6 детей 1-й группы и 3 детей 2-й группы. Колики появлялись периодически у 76,5 % детей 1-й группы, что почти в 2 раза чаще, чем во 2-й группе – 45,4 % ($p < 0,05$). Метеоризм сопровождал колики и проявлялся у 16 детей 1-й группы (94,1 %). У 5 детей 2-й группы отмечали отсутствие метеоризма (45,4 %), периодически он появлялся у 5 детей (45,4 %), часто сопровождал только одного ребёнка (9,2 %) ($p < 0,05$). У детей обеих групп регистрировали «неустойчивый стул» с проявлениями диареи и/или запоров в 76,5 и 72,7 % случаев соответственно (см. табл. 2).

Индигенная микробиота толстой кишки у детей обеих групп была представлена бифидобактериями, лактобациллами, *E. coli* с различным спектром свойств. В 1-й группе сравнения показатель дефицита бифидобактерий составил 82,4 %, а во 2-й – 100 % ($p < 0,05$) (табл. 3).

Лактобацилл детектировали в сверхнормативной концентрации (более 10^7 КОЕ/г фекалий) у всех детей. Ассоциативная структура индигенной микробиоты была представлена спектром вариантов *E. coli* (КП) с различными свойствами: нормальными ферментативными свойствами (НФС), слабыми ферментативными свойствами (СФС), с гемолитической активностью (ГА).

Дефицит КП НФС регистрировали у 6 детей 1-й группы (35,3 %), что в 2 раза чаще, чем во 2-й группе – 2 ребёнка (18,2 %). У 2 детей 1-й и одного ребёнка 2-й группы отмечали появление КП СФС (11,8 и 9,1 %), а у 3 детей 1-й и 2 детей 2-й группы – КП ГА. Установлено, что *E. coli* с нетипичными свойствами (СФС, ГА) формировали ассоциации между собой. Такие ассоциации выявляли с одинаковой частотой в обеих группах ($p > 0,05$).

S. aureus определяли почти в 2 раза чаще у детей 1-й группы – 82,4 %, в то время как *Clostridium* spp. регистрировали с одинаковой частотой (23,5 и 36,4 % соответственно) ($p > 0,05$). *Enterococcus* spp. выделяли в концентрации менее 10^5 КОЕ/г фекалий у 2 детей 1-й группы ($p < 0,05$). Патогенные грибы рода *Candida* регистрировали только у одного ребёнка 2-й группы ($p > 0,05$). Грамотрицательные микроорганизмы *Klebsiella* spp. регистрировали у всех детей в обеих группах, а *Proteus* spp. – только у 2 детей 1-й группы ($p < 0,05$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Клинически ФГИР у детей в возрасте от рождения до полугода выражались периодическими коликами и появлением стойкого метеоризма – до 95 %, тогда как у детей в возрасте от 6 до 12 месяцев данные симптомы были периодичны, либо отсутствовали. Болевой синдром при кишечных коликах часто связывают с повышенным газообразованием кишечника и нарушением его двигательной функции. Газообразование вызвано незрелостью ферментной системы и особенностью становления микробиома кишечника с преобладанием условно-патогенных микроорганизмов, которые определяют непол-

ное расщепление жиров и углеводов, что способствует раздуванию отдела тонкой кишки и возникновению колик [3]. При этом у 70 % обследованных обеих групп регистрировали «неустойчивый стул», характерный для ФГИР. Важную роль играли осложнения при родоразрешении [9]. В 1-й группе осложнённые роды были отмечены у 40 % матерей, что свидетельствует о начале патологических изменений микробиоты толстой кишки при формировании ФГИР [1].

Важно отметить, что в составе микробиоты толстой кишки у всех детей регистрировали дефицит бифидобактерий. Данный представитель анаэробной микробиоты является важнейшим микроорганизмом, участвующим в поддержании колонизационной резистентности толстой кишки [4]. Его недостаточность может повлиять как на обсеменённость условно-патогенными микроорганизмами, так и на клиническую выраженность симптоматики ФГИР [19]. Сверхнормативное содержание лактобацилл, вероятно, полученных с молоком матери, может свидетельствовать о продолжающихся процессах формирования микробиоты толстой кишки [10]. При этом ассоциативное взаимодействие бифидо- и лактофлоры может увеличивать иммуномодулирующий эффект на организм через IgA-реакцию к патогенной микробиоте [5]. Данный эффект может быть опосредован не только конкурентным исключением, при котором затрудняется адгезия и избыточный бактериальный рост, но и транслокация патогенов [19]. Недостаточное количество полноценных штаммов *E. coli*, появление атипичных вариантов и их ассоциаций, снижение числа бактериальных видов индигенной микробиоты может быть опосредовано изменением моторики толстой кишки, формированием токсических эффектов (токсические газы) и, как следствие, проявлениями симптоматики ФГИР (колики, метеоризм) [1, 3]. Таким образом, определяющим фактором в снижении риска развития ФГИР в первые месяцы жизни ребёнка является высокое содержание и разнообразие индигенных микроорганизмов.

Показано, что формирование ФГИР может быть ассоциировано и с высоким бактериальным разнообразием не только грамположительной (энтерококки, стафилококки и клостридии), но и грамотрицательной (клебсиеллы, протеи) микробиоты. Вероятно, в формировании физиологического ответа иммунной системы ключевую роль играют определённые виды бактерий [9]. Выявление *Klebsiella* spp. у всех детей свидетельствует не только об адгезивных свойствах данных бактерий, но и способности к подавлению симбионтной микробиоты толстой кишки, как индигенной, так и патогенной. Таким образом, *Klebsiella* spp. и *S. aureus*, на фоне изменённых показателей индигенной микробиоты, могут служить диагностическими биомаркерами ФГИР в фекальных микробных сообществах детей первого года жизни.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты показывают, что формирование ФГИР у детей от рождения до 6 месяцев и от 6 до 12 месяцев могут быть ассоциированы с изменённой микробиотой толстой кишки. У детей с проявлениями ФГИР отмечено как снижение количественных показателей индигенной микробиоты: бифидобактерий, КП НФС и *Enterococcus* spp., так и увеличение степени обсеменённости патобионтами: *Klebsiella* spp., *S. aureus*,

Таблица 3

Характеристика микробиоты толстой кишки у детей первого года жизни с ФГИР (критерии оценки концентрации микроорганизмов соответствуют данным Отраслевого стандарта ОСТ 91500.11.0004-2003 [17])

Table 3

Characteristics of the colon microbiota in children of the first year of life with FGID (the criteria for assessing the concentration of microorganisms correspond to the data of Standard Patient Management Protocol OST 91500.11.0004-2003 [17])

	Дефицит <i>Bifidobacterium</i> spp.	<i>Lactobacillus</i> spp.	КП НФС	КП СФС	КП ГА	Ассоциации <i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Klebsiella</i> spp.	<i>Proteus</i> spp.	<i>Clostridium</i> spp.	<i>Candida</i> spp.
Показатель	< 10 ¹⁰ КОЕ/г фекалий	< 10 ⁶ КОЕ/г фекалий > 10 ⁷ КОЕ/г фекалий	10 ^{7-10⁸} КОЕ/г фекалий < 10 ⁷ КОЕ/г фекалий	> 10 % > 10 ⁸ КОЕ/г фекалий	> 10 ⁴ КОЕ/г фекалий	КП НФС (10 ^{7-10⁸} КОЕ/г фекалий) + КП СФС (> 10 %)	> 10 ⁴ КОЕ/г фекалий	< 10 ⁵ КОЕ/г фекалий	> 10 ⁴ КОЕ/г фекалий	> 10 ³ КОЕ/г фекалий	> 10 ³ КОЕ/г фекалий	> 10 ³ КОЕ/г фекалий
Количество, чел.*	14/11	1/0	10/9	2/1	3/2	2/1	14/6	2/0	11/6	2/0	4/4	0/1
Частота регистрации признака, %*	82,4/100	5,9/0	58,8/81,8	11,8/9,1	17,6/18,2	11,8/9,1	82,4/54,5	11,8/0	64,7/54,5	11,8/0	23,5/36,4	0/9,1
Значение критерия Фишера	2,241	1,266	1,324	0,277	0,036	0,227	1,583	1,810	0,536	1,810	0,728	1,583
Уровень значимости	p < 0,05 (гипотеза Н1)	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	p < 0,05 (гипотеза Н1)	p > 0,05	p < 0,05 (гипотеза Н1)	p > 0,05	p > 0,05

Примечание. * – дети в возрасте от рождения до 6 месяцев (1-я группа) / дети в возрасте от 6 до 12 месяцев (2-я группа); КП – кишечная палочка; НФС – нормальные ферментативные свойства; СФС – слабые ферментативные свойства; ГА – гемолитическая активность.

Clostridium spp. Следовательно, высокая концентрация и разнообразие индигенной микробиоты может быть значимым определяющим фактором в снижении риска развития ФГИР в первый год жизни ребёнка.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Захарова И.Н., Бережная И.В., Кучина А.Е., Симакова М.А., Дедикова О.В., Кольцов К.А. Функциональные гастроинтестинальные расстройства у младенцев: как помочь? *Педиатрия. Приложение к журналу Consilium Medicum*. 2018; (4): 18-24. doi: 10.26442/24138460.2018.4.180139
2. Chumpitazi BP, Shulman RJ. Dietary carbohydrates and childhood functional abdominal pain. *Ann Nutr Metab*. 2016; 68 (suppl 1): 8-17. doi: 10.1159/000445390
3. Холодова И.Н., Ильенко Л.И., Рубцова А.А. Тактика лечения функциональных нарушений желудочно-кишечного тракта у детей раннего возраста. *Медицинский совет*. 2015; (1): 46-49.
4. Bertelsen RJ, Jensen ET, Ringel-Kulka T. Use of probiotics and prebiotics in infant feeding. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2016; 30(1): 39-48. doi: 10.1016/j.bpg.2016.01.001
5. Derrien M, Alvarez AS, de Vos WM. The gut microbiota in the first decade of life. *Trends Microbiol*. 2019; 27(12): 997-1010. doi: 10.1016/j.tim.2019.08.001
6. Farup PG, Ueland T, Rudi K, Lydersen S, Hestad K. Functional bowel disorders are associated with a central immune activation. *Gastroenterol Res Pract*. 2017; 2017: 1642912. doi: 10.1155/2017/1642912
7. Макарова Е.Г., Украинцев С.Е. Функциональные расстройства органов пищеварения у детей: отдалённые последствия и современные возможности предупреждения и коррекции. *Педиатрическая фармакология*. 2017; 14(5): 392-399. doi: 10.15690/pf.v14i5.1788
8. Belkova NL, Nemchenko UM, Pogodina AV, Feranchuk SI, Romanitsa AI, Novikova EA, et al. Composition and structure of gut microbiome in adolescents with obesity and different breastfeeding duration. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2019; 167(6): 759-762. doi: 10.1007/s10517-019-04617-7
9. Якушин А.С., Украинцев С.Е., Денисов М.Ю. Кишечная микробиота: формирование в раннем возрасте, влияние на здоровье, способы коррекции. *Вопросы современной педиатрии*. 2017; 16(6): 487-492. doi: 10.15690/vsp.v16i6.1821
10. Gaufin T, Tobin NH, Aldrovandi GM. The importance of the microbiome in pediatrics and pediatric infectious diseases. *Curr Opin Pediatr*. 2018; 30(1): 117-124. doi: 10.1097/MOP.0000000000000576
11. Бовбель И.Э. Современные представления о микробиоте кишечника и возможности эффективного применения пробиотиков в практике врача-педиатра. *Медицинские новости*. 2017; (2): 25-31.
12. Григорова Е.В., Немченко У.М., Ракова Е.Б., Савелькаева М.В., Сердюк Л.В. Капсулообразование как фактор селекции фагорезистентных штаммов *Klebsiella* spp. у детей с функциональными нарушениями пищеварения. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2016; (12): 9-12.
13. Paganini D, Zimmermann MB. The effects of iron fortification and supplementation on the gut microbiome and diarrhea in infants and children: a review. *Am J Clin Nutr*. 2017; 106(Suppl 6): 1688S-1693S. doi: 10.3945/ajcn.117.156067
14. Mackos AR, Maltz R, Bailey MT. The role of the commensal microbiota in adaptive and maladaptive stressor-induced immunomodulation. *Horm Behav*. 2017; 88: 70-78. doi: 10.1016/j.yhbeh.2016.10.006
15. Turrioni F, Milani C, Duranti S, Lugli GA, Bernasconi S, Margolles A, et al. The infant gut microbiome as a microbial organ influencing host well-being. *Ital J Pediatr*. 2020; 46(1): 16. doi: 10.1186/s13052-020-0781-0

16. Бельмер С.В., Хавкин А.И., Печкуров Д.В. *Функциональные нарушения органов пищеварения у детей. Принципы диагностики и лечения (в свете Римских критериев IV)*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2018.

17. *Отраслевой Стандарт «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника»*. ОСТ 91500.11.0004-2003.

18. Меньшиков В.В. *Методики клинических лабораторных исследований: справочное пособие*. Т. 3. М.: Лабора; 2009.

19. McCarville JL, Caminero A, Verdu EF. Novel perspectives on therapeutic modulation of the gut microbiota. *Therap Adv Gastroenterol*. 2016; 9(4): 580-593. doi: 10.1177/1756283X16637819

REFERENCES

1. Zaharova IN, Berezhnaya IV, Kuchina AE, Simakova MA, Dedikova OV, Koltsov KA Functional gastrointestinal disorders in infants: helping points. *Pediatrics. Supplement to Consilium Medicum*. 2018; (4): 18-24. doi: 10.26442/24138460.2018.4.180139 (In Russ.)
2. Chumpitazi BP, Shulman RJ. Dietary carbohydrates and childhood functional abdominal pain. *Ann Nutr Metab*. 2016; 68(suppl 1): 8-17. doi: 10.1159/000445390
3. Kholodova IN, Ilyenko LI, Rubtsova AA. Treatment tactics for functional disorders of the gastrointestinal tract in infants. *Meditsinskiy sovet*. 2015; (1): 46-49. (In Russ.)
4. Bertelsen RJ, Jensen ET, Ringel-Kulka T. Use of probiotics and prebiotics in infant feeding. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2016; 30(1): 39-48. doi: 10.1016/j.bpg.2016.01.001
5. Derrien M, Alvarez AS, de Vos WM. The gut microbiota in the first decade of life. *Trends Microbiol*. 2019; 27(12): 997-1010. doi: 10.1016/j.tim.2019.08.001
6. Farup PG, Ueland T, Rudi K, Lydersen S, Hestad K. Functional bowel disorders are associated with a central immune activation. *Gastroenterol Res Pract*. 2017; 2017: 1642912. doi: 10.1155/2017/1642912
7. Makarova EG, Ukraintsev SE. Functional gastrointestinal disorders in infants: long-term consequences and modern approaches for prevention and treatment. *Pediatric pharmacology*. 2017; 14(5): 392-399. doi: 10.15690/pf.v14i5.1788 (In Russ.)
8. Belkova NL, Nemchenko UM, Pogodina AV, Feranchuk SI, Romanitsa AI, Novikova EA, et al. Composition and structure of gut microbiome in adolescents with obesity and different breastfeeding duration. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2019; 167(6): 759-762. doi: 10.1007/s10517-019-04617-7
9. Yakushin AS, Ukraintsev SE, Denisov MYu. Intestinal microbiota: early formation, health effects, and correction ways. *Current Pediatrics*. 2017; 16(6): 487-492. doi: 10.15690/vsp.v16i6.1821 (In Russ.)
10. Gaufin T, Tobin NH, Aldrovandi GM. The importance of the microbiome in pediatrics and pediatric infectious diseases. *Curr Opin Pediatr*. 2018; 30(1): 117-124. doi: 10.1097/MOP.0000000000000576
11. Bovbel IE. Intestinal microbiota and use of probiotics in pediatric practice. *Meditsinskie novosti*. 2017; (2): 25-31. (In Russ.)
12. Grigorova EV, Nemchenko UM, Rakova EB, Savelkaeva MV, Serdyuk LV. Capsule formation as a selection factor of phagoresistant *Klebsiella* spp. strains among children having functional intestinal disorders. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2016; (12): 9-12. (In Russ.)
13. Paganini D, Zimmermann MB. The effects of iron fortification and supplementation on the gut microbiome and diarrhea in infants and children: a review. *Am J Clin Nutr*. 2017; 106(Suppl 6): 1688S-1693S. doi: 10.3945/ajcn.117.156067
14. Mackos AR, Maltz R, Bailey MT. The role of the commensal microbiota in adaptive and maladaptive stressor-induced immunomodulation. *Horm Behav*. 2017; 88: 70-78. doi: 10.1016/j.yhbeh.2016.10.006
15. Turrioni F, Milani C, Duranti S, Lugli GA, Bernasconi S, Margolles A, et al. The infant gut microbiome as a microbial organ influencing host well-being. *Ital J Pediatr*. 2020; 46(1): 16. doi: 10.1186/s13052-020-0781-0

16. Belmer SV, Khavkin AI, Pechkurov DV. *Functional disorders of the digestive organs in children. Principles of diagnosis and treatment (in the light of Roman criteria IV)*. M.: GEOTAR-Media; 2018. (In Russ.)
17. Ministry of Health. *Standard Patient Management Protocol. Intestinal dysbacteriosis*. OST 91500.11.0004-2003. (In Russ.)

18. Menshikov VV. *Methods of clinical laboratory research: handbook*. Vol. 3. M.: Labora; 2009. (In Russ.)
19. McCarville JL, Caminero A, Verdu EF. Novel perspectives on therapeutic modulation of the gut microbiota. *Therap Adv Gastroenterol*. 2016; 9(4): 580-593. doi: 10.1177/1756283X16637819

Сведения об авторах

Григорова Екатерина Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6588-2591>

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2910-0737>

Шолохов Леонид Федорович – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: lfshol@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3647-3366>

Белькова Наталья Леонидовна – кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nlbelkova@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Немченко Ульяна Михайловна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: umnemch@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7656-342X>

Кунгурцева Екатерина Александровна – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: ekaterina_kozlova_84@bk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4535-9397>

Воропаева Наталья Михайловна – младший научный сотрудник лаборатории микробиома и микроэкологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: n.m.shabanova@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7026-2522X>

Савелькаева Марина Владимировна – врач высшей квалификационной категории, заведующая гастроэнтерологическим отделением, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: for-samarina@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6793-6493>

Information about the authors

Ekaterina V. Grigороva – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Microecology and Microbiome, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6588-2591>

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2910-0737>

Leonid F. Sholokhov – Dr. Sc. (Med), Professor, Leading Research Officer at the Laboratory of Physiology and Pathology of the Endocrine System, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: lfshol@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3647-3366>

Natalia L. Belkova – Cand. Sc. (Biol.), Associate Professor, Leading Research Officer at the Laboratory of Microecology and Microbiome, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nlbelkova@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-9720-068X>

Ulyana M. Nemchenko – Cand. Sc. (Biol.), Research Officer at the Laboratory of Microecology and Microbiome, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: umnemch@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7656-342X>

Ekaterina A. Kungurtseva – Cand. Sc. (Biol.), Junior Research Officer at the Laboratory of Microecology and Microbiome, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: ekaterina_kozlova_84@bk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4535-9397>

Natalia M. Voropaeva – Junior Research Officer at the Laboratory of Microecology and Microbiome, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: n.m.shabanova@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7026-2522X>

Marina V. Savelkayeva – Head of the Gastroenterology Department, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: for-samarina@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6793-6493>

Вклад авторов в работу

Григорова Е.В. – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста, редактирование

Рычкова Л.В. – концепция и дизайн исследования, написание текста

Шолохов Л.Ф. – концепция и дизайн исследования, написание текста

Белькова Н.Л. – редактирование

Немченко У.М. – сбор и обработка материала, редактирование

Кунгурцева Е.А. – сбор и обработка материала

Воропаева Н.М. – сбор и обработка материала

Савелькаева М.В. – сбор и обработка материала

Статья получена: 10.06.2020. Статья принята: 04.08.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.
Received: 10.06.2020. Accepted: 04.08.2020. Published: 26.12.2020.

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.13

Активность генов рецепторов к паратиреоидному гормону в биоптатах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне

Родионова Л.В.^{1,2}, Самойлова Л.Г.¹, Сороковиков В.А.^{1,2}¹ ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия);² Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Родионова Любовь Викторовна, e-mail: greidmacho@yandex.ru

Резюме

Рецепторы к паратиреоидному гормону PTH1R и PTH2R мало изучены при патологии позвоночника и могут быть вовлечены в процессы как эктопической оссификации связок позвоночника, так и фиброзного разрастания внеклеточного матрикса, а также в другие, ещё не известные, процессы, протекающие в патологическом очаге.

Цель работы. В интраоперационных образцах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка поясничного отдела позвоночника исследовать экспрессию генов, кодирующих рецепторы к паратиреоидному гормону, и оценить взаимосвязанность с экспрессией других генов, активных в соединительной ткани в условиях развивающейся патологии.

Материалы и методы. Исследования жёлтой связки проведены у 33 пациентов (17 женщин, 16 мужчин) со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка поясничного отдела позвоночника. Выделенная из биоматериала РНК (реагенты Qiagen, Германия), подвергалась обратной транскрипции, ставили полимеразную цепную реакцию с кДНК (реагенты Promega, США) с использованием термоциклера CFX96 (Biorad, США) со специально подобранными специфичными праймерами.

Результаты. В интраоперационных образцах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка впервые обнаружена и оценена экспрессия генов, кодирующих рецепторы к паратиреоидному гормону PTH1R и PTH2R, и выявлена их взаимосвязь с активностью генов, кодирующих рецепторы к эстрадиолу (ESR1 и ESR2) и FGFR3. Впервые обнаружены общие особенности экспрессии генов PTH1R и PTH2R, а также их различия. Доказано, что интенсивность экспрессии рецепторов к паратиреоидному гормону в интраоперационных биоптатах *Ligamentum flavum* не зависит от возраста, половой принадлежности, а также от наличия костно-хрящевых узлов по результатам МРТ. Выявлена взаимообусловленность дифференциальных изменений экспрессии генов рецепторного аппарата, принимающих участие в метаболизме тканей *Ligamentum flavum*.

Ключевые слова: стеноз позвоночного канала, дегенеративно-дистрофические заболевания позвоночника, экспрессия генов, желтая связка, PTH1R, PTH2R

Для цитирования: Родионова Л.В., Самойлова Л.Г., Сороковиков В.А. Активность генов рецепторов к паратиреоидному гормону в биоптатах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 113-123. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.13.

Activity of Parathyroid Hormone Receptor Genes in *Ligamentum Flavum* Biopsies of Patients with Spinal Canal and Dural Sac Stenosis at the Lumbar Level

Rodionova L.V.^{1,2}, Samoilova L.G.¹, Sorokovikov V.A.^{1,2}¹ Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation);² Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

Corresponding author: Lyubov V. Rodionova, e-mail: greidmacho@yandex.ru

Abstract

Parathyroid hormone receptors PTH1R and PTH2R are poorly studied in the pathology of the vertebral column and may be involved in both ectopic ossification of the vertebral ligaments and fibrous growth of the extracellular matrix, as well as in other unknown processes occurring in the pathological focus.

Aim. To study the expression of genes encoding parathyroid hormone receptors in intraoperative Ligamentum flavum samples of patients with stenosis of the spinal canal and the lumbar dural sac of the spine and to assess the correlation with the expression of other genes active in connective tissue in conditions of developing pathology.

Materials and methods. Studies of the Ligamentum flavum were performed in 33 patients (17 women, 16 men) with stenotic processes of the spinal canal and dural sac of the lumbar spine. RNA was isolated from the biopsies using Qiagen reagents (Germany). Then reverse transcription was performed. cDNA was used for setting up a polymerase chain reaction (Promega Reagents, USA) using a CFX96 thermal cycler (Biorad, USA) with specially selected specific primers.

Results. The expression of genes encoding parathyroid hormone receptors PTH1R and PTH2R was detected and evaluated for the first time in intraoperative Ligamentum flavum samples of patients with spinal canal and dural sac stenosis, and their relationship with the activity of genes encoding estradiol receptors (ESR1 and ESR2) and FGFR3 was revealed. For the first time, common features of PTH1R and PTH2R gene expression, as well as their differences, were revealed. It is proved that the intensity of expression of parathyroid hormone receptors in intraoperative Ligamentum flavum biopsies does not depend on age, gender, or the presence of bone and cartilage nodes according to MRI results. The interdependence of differential changes in the expression of genes of the receptor apparatus involved in the metabolism of Ligamentum flavum tissues was revealed.

Key words: stenosis of the spinal canal, degenerative spine disorders, gene expression, Ligamentum flavum, PTH1R, PTH2R

For citation: Rodionova L.V., Samoilo L.G., Sorokovikov V.A. Activity of Parathyroid Hormone Receptor Genes in Ligamentum Flavum Biopsies of Patients with Spinal Canal and Dural Sac Stenosis at the Lumbar Level. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 113-123. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.13.

Жёлтая связка является важным компонентом в патологическом механизме формирования стеноза позвоночного канала и дурального мешка [1, 2]. Известно о значении гипертрофии жёлтой связки и её оксификации в данном процессе [2, 3, 4]. Несмотря на значимость проблемы, молекулярные механизмы, лежащие в основе дегенеративно-дистрофических изменений *Ligamentum flavum*, ещё только начинают изучаться [5, 6], и патогенез этого процесса все ещё недостаточно ясен.

Перспективным подходом является изучение метаболических путей с целью выявления ключевой «мишени» для воздействия в саногенетических целях. Например, известно, что путь TGF- β имеет решающее значение при патологической гипертрофии *Ligamentum flavum*. Опираясь на эти знания, исследователи пытаются получить «рычаги» воздействия на этот патологический процесс с помощью блокирования или модуляции механизма TGF- β [2]. Дегенерация межпозвоночных дисков включает в себя увеличение активности деградирующих ферментов и убыль компонента внеклеточного матрикса (ВКМ) в процессе, который контролируется целым рядом цитокинов и факторов роста. Зарубежные исследователи предлагают использовать анаболические факторы роста для регенерации нормального матрикса межпозвоночных дисков, пытаясь таким образом восстановить высоту диска и обращая вспять дегенеративно-дистрофический процесс. Однако для того, чтобы такая терапия была успешной, необходимо, чтобы клетки-мишени экспрессировали соответствующие рецепторы [7]. Зная конкретные параметры рецепторного аппарата тканей патологического очага, можно будет разрабатывать новые подходы к лечению и профилактике, включая и поиск новых мишеней для персонализированной терапии [8, 9].

Перспективным является исследование действия паратиреоидного гормона (ПТГ) на локальном уровне в месте развития патологического процесса в позвоночнике. Основная функция ПТГ – угнетение формирования костной ткани через влияние на остеобласты и остеоциты, которые, выделяя различные факторы роста и цитокины, активируют остеокласты. Те в свою очередь начинают секретировать щелочную фосфатазу и коллаген, разрушая костную ткань. ПТГ опосредованно увеличивает канальцевую реабсорбцию Ca^{2+} , экскрецию

фосфатов почками, а также кишечную абсорбцию кальция путём индукции синтеза кальцитриола. В результате действия ПТГ происходит повышение концентрации кальция в крови и деминерализация костного матрикса, а также уменьшение концентрации фосфатов в плазме крови. Биологическое действие ПТГ осуществляется за счёт связывания со специфическими ПТГ-рецепторами на поверхности клеток [10].

Повышенная плотность остеоцитов сопровождается анаболическим эффектом ПТГ *in vivo*, тогда как ускоренная гибель остеоцитов может быть вызвана дефицитом эстрогена или избытком глюкокортикоидов и почечной недостаточностью [11]. Активация PTH1R в остеоцитах способствует межклеточному соединению, увеличивает экспрессию металлопротеиназы-9, потенцирует приток кальция через активированные растяжением катионные каналы, усиливает остеогенный ответ на механическую нагрузку *in vivo* и регулирует апоптоз [11].

У человека известно два типа рецепторов к паратиреоидному гормону – PTH1R и PTH2R, – расположенных на разных хромосомах (2-й и 3-й соответственно). В зарубежной литературе приводятся данные, свидетельствующие о взаимосвязи возрастных дегенеративных изменений структур позвоночника с полиморфизмом генов PTH1R и PTH2R. [12]. Обычно роль паратиреоидного гормона и связанного с ним сигнального каскада соотносят с регуляцией кальций-фосфорного обмена, развитием остеоартроза и остеопороза [13]. Однако теперь стало известно, что PTH1R и PTH2R могут связываться не только с «целевым» паратиреоидным гормоном. У каждого из них обнаружено ещё по одному дополнительному лиганду: паратиреоид-подобный гормон (PTHrP) для PTH1R и тубероинфундибулярный пептид, состоящий из 39 аминокислотных остатков (TIP39) – для PTH2R. При связывании с альтернативным лигандом активируются совершенно другие метаболические пути, хотя взаимодействие какого-либо лиганда с рецептором приводит к синтезу цАМФ и инициации внутриклеточной Ca^{2+} -сигналикации, но в конце концов ПТГ и TIP39 вызывают различные реакции от PTH2R [14]. Так, в работах Е. Сато с соавт. выявлена роль PTH2R в продукции внеклеточного матрикса в ранах. Показано, что дефицит PTH2R или его дополнительного лиганда – TIP39 – задерживает репарацию, а лечение добавлением TIP39

ускоряет заживление. Эти исследования выявили новую роль сигнализации с участием *PTH2R* в производстве внеклеточного матрикса. Предполагают, что система *TIP39/PTH2R* является ранее неизвестным механизмом регуляции формирования внеклеточного матрикса и репарации ран [15].

Интересно, что тубероинфундибулярный пептид (*TIP39*), способствующий синтезу нейронов, активно работает в участках с выраженной экспрессией *PTH2R*. К этим областям относятся многие, участвующие в обработке ноцицептивной информации [16]. Помимо «традиционной» роли ПТГ, известно также модулирование памяти страха и психопатологии, с ним связанное через нейропептид *TIP39*, который действует через свой рецептор *PTH2R* [17]. Показано, что система *TIP39/PTH2R* является уникальной нейропептид-рецепторной системой, локализация и функции которой в центральной нервной системе отличаются от любых других нейропептидов [18].

Опубликованные в научной литературе данные указывают на то, что система лиганд/рецептор *TIP39/PTH2R* обеспечивает стимулирующую регуляцию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси через гипоталамические глутаматэргические нейроны и что она может регулировать другие нейроэндокринные системы по аналогичному механизму [16]. Также показано, что сигнализация *TIP39/PTH2R* ингибирует пролиферацию и изменяет дифференцировку хондроцитов [19]. Предполагают также, что, связываясь с *PTH2R*, *TIP39* может непосредственно влиять на соматостатин и таким образом косвенно влиять на кортикотропин-рилизинг-гормон, содержащийся в нейронах [20]. Физиологическая роль *TIP39/PTH2R* может заключаться в ингибировании высвобождения гипоалгезирующих количеств норадреналина во время хронической боли. Нейропептид может помочь поддерживать центральную сенситизацию, которая может служить для усиления охранительного поведения [21].

Обобщая приведённую информацию, следует сказать, что через рецепторный аппарат модулируется воздействие на ткани различных гормонов. Есть тропные ткани, где гормон, связываясь со специфическими рецепторами, запускает запрограммированный каскад реакций, а есть ткани, которые практически «не видят» этого гормона, так как на поверхности их клеток нет рецепторов, способных «узнать» его. Через увеличение и уменьшение экспрессии происходит так называемая *up-* и *down-*регуляция, то есть это ещё один уровень «тонкой настройки» метаболических изменений, ведущих к оптимальному выполнению функций. Рецепторы к ПТГ мало изучены при патологии позвоночника и могут быть вовлечены в процессы как эктопической оссификации связок позвоночника, так и фиброзного разрастания внеклеточного матрикса, а также в другие, ещё не известные, процессы, протекающие в патологическом очаге.

В соответствии с вышеперечисленным была поставлена **цель**: в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка поясничного отдела позвоночника исследовать экспрессию генов, кодирующих рецепторы к паратиреоидному гормону и оценить взаимосопряжённость с экспрессией других генов, активных в соединительной ткани в условиях

развивающейся патологии. Критериями выбора генов-кандидатов являлись: недостаточная изученность механизмов влияния на развитие дегенеративно-дистрофических процессов соединительной ткани; доказанное и/или потенциальное участие в метаболизме соединительной ткани; участие в регуляции активности локального метаболизма, влияние на процессы оссификации и пролиферации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования жёлтой связки проведены в группе пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка, локализованными в поясничном отделе, в которую вошли 33 человека (17 женщин и 16 мужчин). Критерием включения пациентов в исследование было наличие клинико-рентгенологических признаков стенозирования позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне, в частности, при толщине жёлтой связки более 3,5 мм и ширине позвоночного канала меньше 12 мм (по данным МРТ), и назначение оперативного лечения – декомпрессии и реконструкции позвоночного канала с интеграцией системы транспедикулярной фиксации. Таким образом, у всех пациентов, вошедших в исследование, была гипертрофия *Ligamentum flavum*, сопровождающаяся стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне позвоночника. Кроме того, у 93,5 % пациентов была диагностирована нестабильность позвоночно-двигательного сегмента. Всем пациентам были разъяснены характер и объём оперативного вмешательства, связанный с ним ожидаемый положительный эффект с последующим подписанием добровольного информированного согласия на участие в исследовании. Протокол исследования был предварительно одобрен локальным этическим комитетом ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии». Подробная характеристика пациентов, алгоритм их обследования и верификации диагноза приводится в ранее опубликованной нами работе [22]. Критериями исключения из исследования являлись: возраст моложе 18 лет; отсутствие подписанного информированного согласия; беременность; тяжёлая сопутствующая патология; инфекционные и гнойные заболевания.

Отсутствие группы клинического сравнения обусловлено этической невозможностью отбора образцов *Ligamentum flavum* у пациентов без патологии позвоночника или у других пациентов. Биоптаты *Ligamentum flavum*, собранные интраоперационно в раствор, предотвращающий гидролиз и осуществляющий стабилизацию нуклеиновых кислот (RNAlater (Qiagen, Германия)), подвергали препаровке для выделения единообразных фрагментов ткани без захвата чужеродных структур, а затем замораживали в жидком азоте, гомогенизировали и экстрагировали из них РНК наборами «RNeasy Fibrous Tissue» (Qiagen, Германия). После проведения обратной транскрипции с кДНК ставили полимеразную цепную реакцию с применением реагентов Promega (CША) и термочиклера CFX96 (Biorad, США) со специфическими праймерами RealTimePrimers.com (табл. 1). Режим амплификации: 10 мин при 95° С; 2–40-й циклы: 15 с при 95° С, 1 мин при 60° С; считывание флуоресцентного сигнала и возврат на следующий цикл.

Таблица 1

Гены-кандидаты и праймеры, используемые для определения их экспрессии

Table 1

Candidate genes and primers used to determine their expression

RefSeq accession Gene Bank	Обозначение гена	Описание	Прямой праймер	Обратный праймер
NM_001088	AANAT	Aralkylamine N-acetyltransferase	CTCTCCACAGTCCAGGTGCTG	GAGGCAGCGAAACTCACTGG
NM_001742	CALCR	Calcitonin receptor	CTTCCCGGGTTGGAGAAGTG	GAAGCAAAGGGTGTTCGCAG
NM_000792.5	Dio1	DIO1 deiodinase, iodothyronine, type I	AGTCAAGCGGAACATCCTGG	CGGACCTTCAAGACGAACCA
NM_000793.6	Dio2	DIO2 deiodinase, iodothyronine, type II	TAACAACTCGGATGGGTGCT	GACGCCTTGGGAGGTATGAG
NM_001362.3	Dio3	DIO3 deiodinase, iodothyronine, type III	GTGATGTCGTGGATGGGGAG	AAGCAGACACCCCAACTTCC
NM_000125.4	ESR1	Estrogen receptor 1	TTCGTCTGGGACTGCACTT	CAGGGCAGAAGGCTCAGAAA
NM_001437.3	ESR2	Estrogen receptor 2 (ER beta)	CCTCGAGTGGGCAGTATCAG	CTTTTGTCTTGTGTTCCCGCC
NM_015850.4	FGFR1	Fibroblast growth factor receptor 1	ATTCTGCCTTGGCCCTACC	CTAGCGCAGTCTTTGGGGAA
NM_000142.5	FGFR3	FGFR3 fibroblast growth factor receptor 3 [<i>Homo sapiens</i> (human)]	AGGAGCTCTTCAAGCTGCTG	AGGTCCAGGTACTCGTCGG
NM_000557.5	GDF5	GDF5 growth differentiation factor 5	GTCCACGAGAAAGCCCTGTT	GCTGGCTGAACAGGTACTCA
NM_016100.5	NAA20	N(alpha)-acetyltransferase 20, NatB catalytic subunit	CCCTGGGCAGTGGTTCTTAG	TCCTTCTGACCTAGCTGCCT
NM_000662.8	NAT1	N-acetyltransferase 1 (arylamine N-acetyltransferase)	GACCTTGGATGTGGGAGGAT	ACAGCTCGGATCTGGTGTG
NM_000015.3	NAT2	N-acetyltransferase 2 (arylamine N-acetyltransferase)	TTACAGACCTTGAAGCAAGAGG	GGTTCTCAAAGGGAACAGCC
NM_002607.6	PDGFA	Platelet-derived growth factor alpha polypeptide	GGTCGCTCCTGAAGCCAG	GGAGGAGAAACAGGGAGTGC
NM_002608.4	PDGFB	Platelet-derived growth factor beta polypeptide	CCAGCGCCCATTTTTCATTCC	CCGGTTTTCTTTTCAGCG
NM_000316.3	PTH1R	Parathyroid hormone 1 receptor	GGCCAACCTTGAGTCTGCTCT	AGTTTCTCATCTGCAGCCC
NM_005048.3	PTH2R	PTH2R parathyroid hormone 2 receptor	CGTCGTTACTGGCCACAAGT	ATTAGCCAACCCAGACGTG
NM_003255	ACTB	ACTB actin beta	CTCGCCTTTGCCGATCC	GGGGTACTTCAGGGTGAGGA
NM_004048.4	B2M	beta-2-microglobulin (B2M)	ACACTGAATTCACCCCCAC	TGCGGCATCTTCAAACCTCC
NM_001270491.2	RPL13A	ribosomal protein L13a	GCCATCGTGGCTAAACAGTG	TGCCGTCAAACACCTTGAGA
NM_002046.7	GAPDH	GAPDH glyceraldehyde- 3-phosphate dehydrogenase	GACAGTCAGCCGCATCTTCT	GCGCCCAATACGACCAAATC

Контроль специфичности синтеза проводили с использованием кривых плавления ампликонов. В качестве генов «домашнего хозяйства» применяли: *ACTB*, кодирующий (β)-актин; *GADP*, кодирующий глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу; *RPL13A*, ответственный за 60S рибосомальный белок L13a; *B2M*, кодирующий 2-микроглобулин. Подробная методика подготовки образцов описана нами ранее [22].

Статистическую обработку результатов производили с помощью программы Statistica 10.0 (лицензия № AXAR402G263414FA-V), различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для обработки категориальных данных использовали критерий согласия Пирсона (χ^2), предназначенный для проверки значимости расхождения эмпирических и теоретических частот. Значимость различий между группами по количественным показателям рассчитывали с помощью однофакторного

дисперсионного анализа. Исследование одобрено локальным этическим комитетом, всеми пациентами было подписано добровольное информированное согласие.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Во всех образцах интраоперационных биоптатов *Ligamentum flavum* обнаружены значительные количества матричной РНК *PTH1R* и *PTH2R*. Место рецепторов паратиреоидного гормона (*PTH1R* и *PTH2R*) в ранге средней интенсивности экспрессии генов в желтой связке отражено на рисунке 1. Если не учитывать наиболее активные гены «домашнего хозяйства» *RPL13A* и *GADP*, высокая экспрессия которых закономерна, то другими генами, превышающими активность *PTH1R* и *PTH2R*, были *AANAT* и гены, кодирующие рецепторы к эстрадиолу (*ESR1* и *ESR2*). Интенсивность транскрипции *ESR1* была статистически значимо выше, чем экспрессия *PTH1R*.

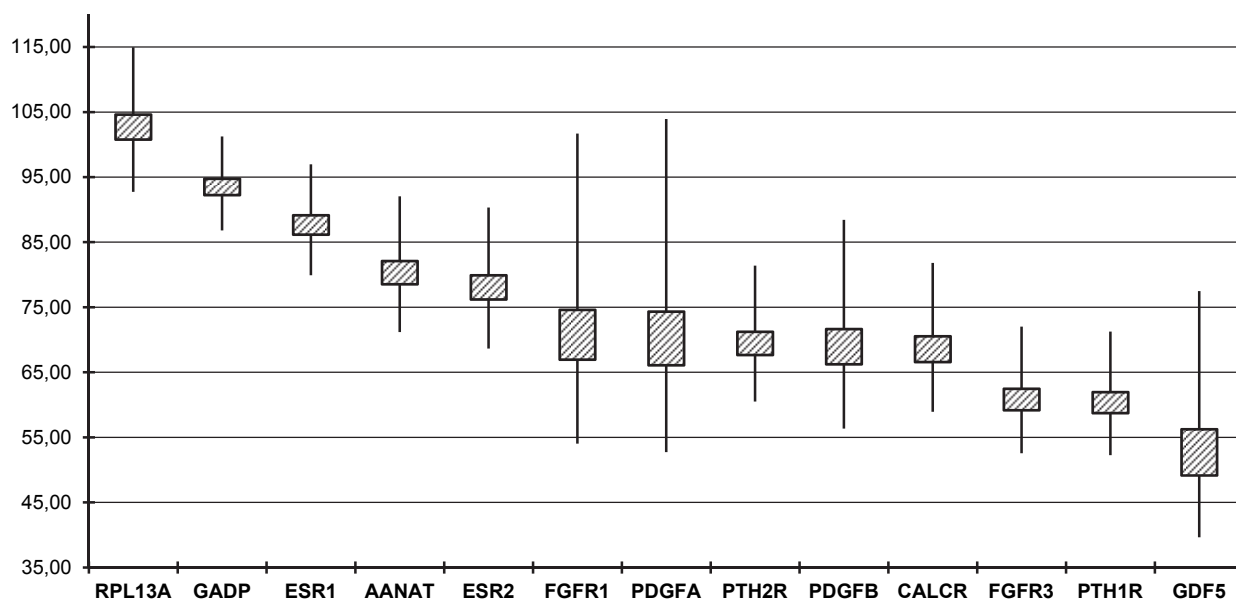


Рис. 1. Экспрессия генов в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum*, ранжированная по убыванию интенсивности. По оси ординат – величины, производные от Ct ($1 : \frac{Ct \text{ гена}}{Ct \text{ ACTB}} \times 100$)

Fig. 1. Gene expression in intraoperative *Ligamentum flavum* samples, ranked in descending order of intensity. At the ordinate axis – derived values from Ct ($1 : \frac{Ct \text{ gene}}{Ct \text{ ACTB}} \times 100$)

На первом этапе проведена оценка распределения (рис. 2). Видно, что распределение интенсивности экспрессии рецепторов к ПТГ в выборке не соответствует нормальному, что часто встречается в биологии и медицине. Тренд ожидаемого нормального распределения обозначен на графике линией, а реальное распределение – столбцами, высота которых увеличивается с числом наблюдений в данном диапазоне. На рисунке 2 видно, что как для *PTH1R*, так и для *PTH2R* выявлены два наиболее часто наблюдающихся диапазона активности (показано стрелками вверх), однако они не сливались, а между ними находился «провал» (показан стрелкой вниз). Такая особенность может нивелироваться увеличением количества исследований и на данном этапе вызывает трудности в интерпретации и пока признается как факт, характеризующий схожие особенности экспрессии *PTH1R* и *PTH2R*. По результатам оценки распределения для расчётов использовали непараметрические методы статистики.

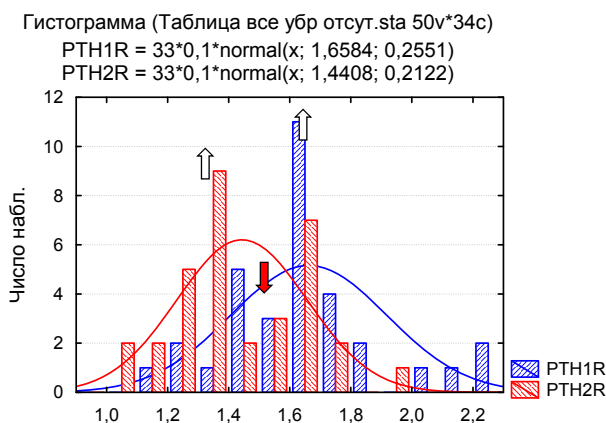


Рис. 2. Оценка распределения экспрессии *PTH1R* и *PTH2R*

Fig. 2. Assessment of the distribution of *PTH1R* and *PTH2R* expression

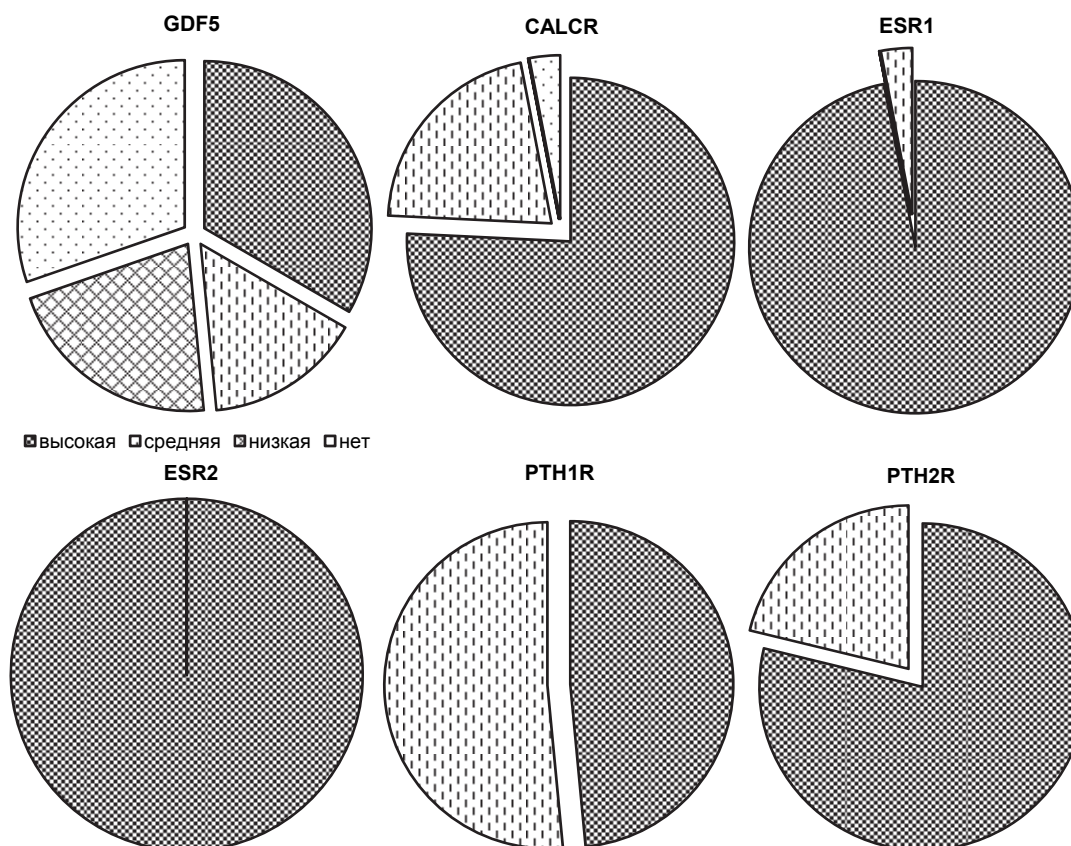
На данном этапе исследования активность генов *PTH1R* и *PTH2R* была самой часто встречающейся и активной после *ESR1* и *ESR2*. Из рисунка 3 видно, что нет образцов, которые бы показали низкую экспрессию или её отсутствие. *PTH2R* чаще проявлял высокую активность (78,8 % против 48,5 % для *PTH1R*) (рис. 3). Для сравнения приведены данные для *GDF5* – наиболее низкоактивного гена в ткани жёлтой связки (рис. 3).

Результаты проведения кластерного анализа представлены на рисунке 4. Видно, что паттерны экспрессии отражают, что рецепторы к ПТГ как 1-го, так и 2-го типа теснее других связаны с другими показателями. В соответствии с этими данными, наиболее основополагающие гены – это *CALCR*, *ESR2*, *PTH2R*, *FGFR3* и *PTH1R*: они тесно связаны между собой корреляционными связями и формируют своеобразное «ядро» – структуру, где эти показатели оказались в близких кластерах.

Оба гена, кодирующие рецепторы к ПТГ, работали сопряжённо и однонаправленно ($r = 0,567$; $p < 0,01$): при увеличении экспрессии одного увеличивалась экспрессия и другого (рис. 5), что было подтверждено с помощью корреляционного анализа.

При поиске коррелятивных связей не было выявлено сопряжённости экспрессии *PTH1R* и *PTH2R* с половой принадлежностью, возрастом (рис. 6) и наличием костнохрящевых узлов по результатам MPT (табл. 2).

Также не все даже очень хорошо теоретически обоснованные взаимосвязи были обнаружены. Так, нет взаимосвязи между экспрессией рецепторов к кальцитонину (*CALCR*) и *PTH1R*, хотя их физиологический антагонизм давал основания ожидать такую ассоциацию, выраженную в отрицательной корреляции этих показателей. Интересна и неожиданно выявленная положительная корреляция между *CALCR* и *PTH2R*, несмотря на их, казалось бы, разнонаправленное действие.



Экспрессия	GDF5	PTH1R	PTH2R	CALCR	ESR1	ESR2
высокая	11 (33,3 %)	16 (48,48 %)	26 (78,78 %)	25 (75,76 %)	32 (96,97 %)	33 (100 %)
средняя	5 (15,15 %)	17 (51,52 %)	7 (21,21 %)	7 (21,21 %)	0	0
низкая	7 (21,21 %)	0	0	0	0	0
нет	10 (30,3 %)	0	0	1 (3,03 %)	1 (3,03 %)	0

Рис. 3. Характеристика активности экспрессии генов-кандидатов в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне ($n = 33$)

Fig. 3. Characteristics of the activity of candidate genes expression in intraoperative *Ligamentum flavum* samples from patients with stenosing processes of the spinal canal and dural sac at the lumbar level ($n = 33$)

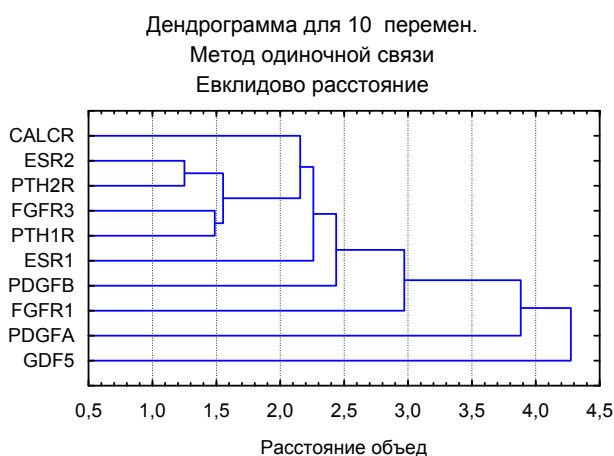


Рис. 4. Иерархическая кластеризация данных экспрессии генов-кандидатов

Fig. 4. Hierarchical clustering of candidate gene expression data

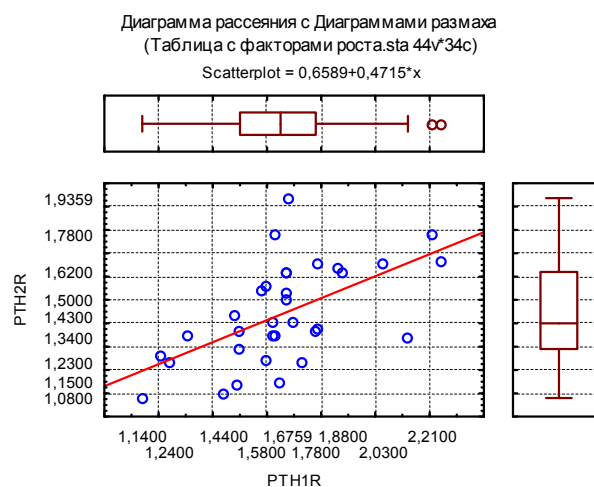


Рис. 5. Взаимосвязь экспрессии *PTH1R* и *PTH2R*

Fig. 5. Relationship between *PTH1R* and *PTH2R* expression

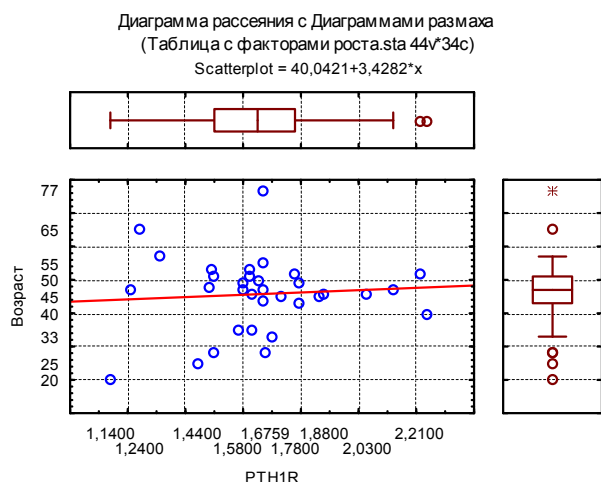


Рис. 6. Исследование возможной взаимосвязи экспрессии *PTH1R* и *PTH2R* с возрастом пациентов (взаимосвязь не выявлена)

Fig. 6. Investigation of a possible relationship between the expression of *PTH1R* and *PTH2R* with the age of patients (no relationship was found)

Трудно предположить причины положительной коррелятивной связи между *PTH2R* и *CALCR*, поскольку ПТГ и кальцитонин являются функциональными антагонистами и, соответственно, действуют разнонаправленно. Возможно, антагонистическое действие кальцитонина и ПТГ не так ярко выражено в ткани *Ligamentum flavum*, как можно было бы теоретически ожидать. Но возможно также, что *PTH2R* в данном случае экспрессируется для взаимодействия со своим другим недавно открытым лигандом, называемым *TIP39*. Исходя из этого, можно предположить, что если для заживления ран необходима активность *PTH2R* [15], то в случае фиброзных процессов, наоборот, чтобы они не были сильно выражены, экспрессия этого рецептора должна быть ниже. То есть излишняя активность *PTH2R* при связывании не с ПТГ, а с *TIP39* может приводить к образованию излишков внеклеточного матрикса и таким образом – к фиброзу и стенозу позвоночного канала за счёт гипертрофии жёлтой связки. С одной стороны, увеличение концентрации ПТГ и связывание его с рецепторами способствуют увеличению

Таблица 3
Коэффициенты корреляции (*r*) между экспрессией рецепторов к ПТГ и другими изучаемыми параметрами

Table 3
Correlation coefficients (*r*) between the expression of parathyroid hormone receptors and other studied parameters

Показатели	<i>PTH1R</i>	<i>PTH2R</i>
Наличие костно-хрящевых узлов по признакам МРТ	0,133	–0,010
Вес	0,484	0,293
Объём бёдер	0,456	0,322
Концентрация T_3 в сыворотке крови	–0,400	–0,390
<i>ESR1</i>	0,589	0,823
<i>ESR2</i>	0,500	0,570
<i>FGFR1</i>	–0,290	–0,280
<i>FGFR3</i>	0,394	0,436
<i>AANAT</i>	0,749	0,799
<i>CALCR</i>	0,180	0,457
<i>PDGFA</i>	–0,280	0,225
<i>PDGFB</i>	–0,340	0,442
<i>GADP</i>	–0,140	–0,430

Примечание. Полужирным шрифтом выделены коэффициенты корреляции, достигающие уровня статистической значимости (критическое значение $r = 0,35$ при $p < 0,05$).

мобилизации кальция, его выходу в кровеносное русло, а с другой стороны, связывание с альтернативным лигандом вызывает совсем иное действие. Таким образом, определение изолированной экспрессии *PTH1R* и *PTH2R* дало новую информацию об их наличии в тканях жёлтой связки, и на следующем этапе целесообразно продолжить исследование, выполнив анализ экспрессии других малоизвестных важных лигандов *PTH1R* и *PTH2R* – *PTH1LH* и *TIP39*. *PTH1LH* (parathyroid hormone-like hormone) – гормон, подобный ПТГ; известно, что он задействован в хондрогенезе, но пока очень мало изучен [23].

При проведении корреляционного анализа выявлена структура взаимоотношений транскрипции генов рецепторов *PTH1R* и *PTH2R* с экспрессией других генов (рис. 7).

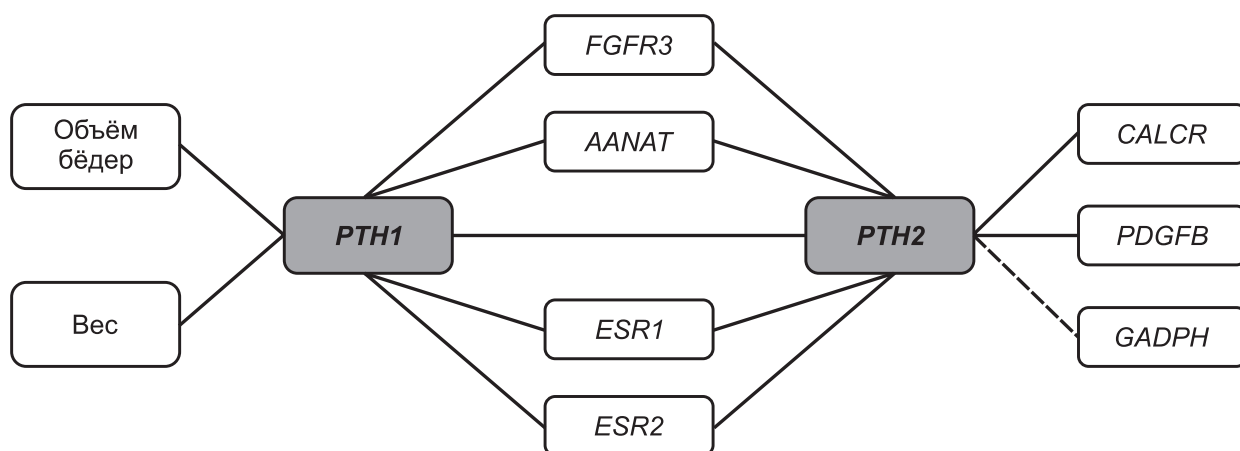


Рис. 7. Структура корреляционных связей экспрессии рецепторов паратиреоидного гормона с другими показателями: сплошная линия – прямая корреляция; пунктирная линия – обратная корреляция

Fig. 7. The structure of correlations between the expression of parathyroid hormone receptors with other indicators: solid line – direct correlation; stipple line – inverse correlation

Видно, что общими связями рецепторов *PTH1R* и *PTH2R* были ассоциации с рецепторами к эстрадиолу (*ESR1* и *ESR2*), а также с экспрессией фактора роста фибробластов 3 (*FGFR3*) и гена N-ацетилтрансферазы (*AANAT*). Очевидно, что именно эти гены действуют скоординированно, образуя устойчивые профили экспрессии, взаимоактивируя и взаимообуславливая активность друг друга (см. рис. 7). На «втором плане» в этой структуре были такие антропометрические показатели, как вес и объём бёдер, которые изменялись параллельно с *PTH1R*, и экспрессия рецепторов к кальцитонину (*CALCR*), бета-полипептиду тромбоцитарного фактора роста (*PDGFB*) и глициральдегид-3-фосфатдегидрогеназе (*GAPDH*) (см. рис. 7).

Для дальнейшего анализа все образцы были разделены на 3 подгруппы по возрастанию активности экспрессии *PTH1R* и *PTH2R*: 1-я подгруппа – наиболее высокая экспрессия; 2-я подгруппа – средняя экспрессия; 3-я подгруппа – относительно низкая экспрессия (рис. 8, 9). В таблице 3 приведены статистически значимые различия по экспрессии генов-кандидатов в подгруппах, разделённых по активности генов *PTH1R* и *PTH2R*. Очень много общего выявлено между подгруппами, сформированными по активности экспрессии *PTH1R* и *PTH2R*, что отражает сопряжённость изменений этих рецепторов 1-го и 2-го типа, но есть и небольшие различия (табл. 3).

Данные, полученные при ранжировании по активности рецепторов к ПТГ, достаточно информативны,

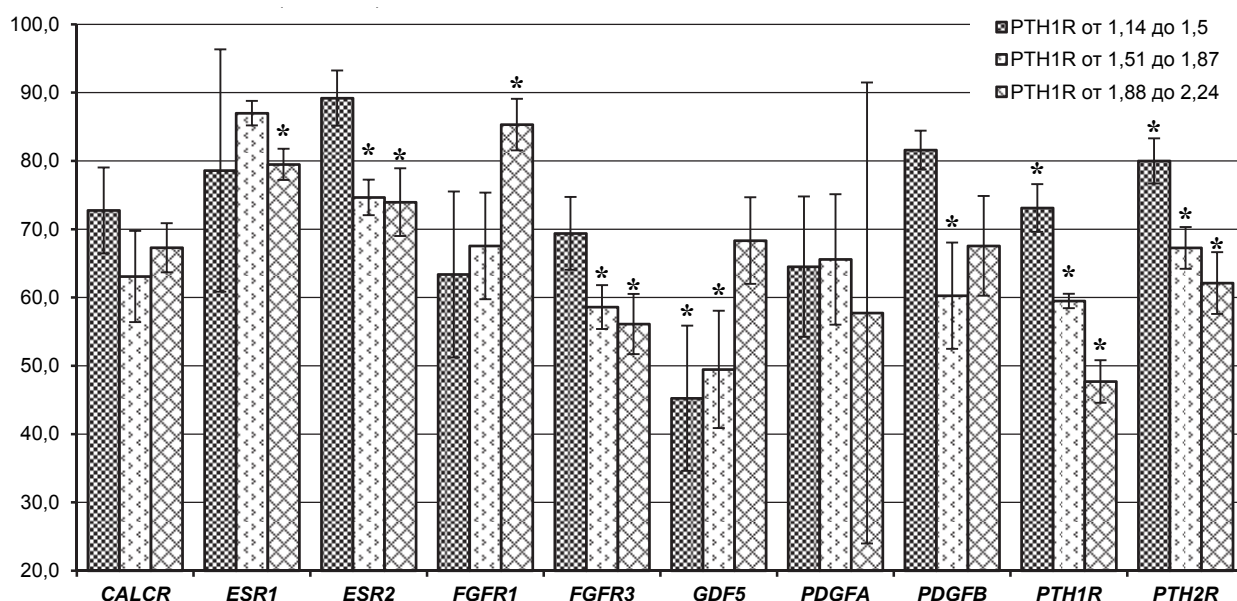


Рис. 8. Профиль экспрессии генов-кандидатов в *Ligamentum flavum*, ранжированный по активности гена *PTH1R*: * – $p < 0,05$

Fig. 8. Expression profile of candidate genes in *Ligamentum flavum*, ranked by *PTH1R* gene activity: * – $p < 0,05$

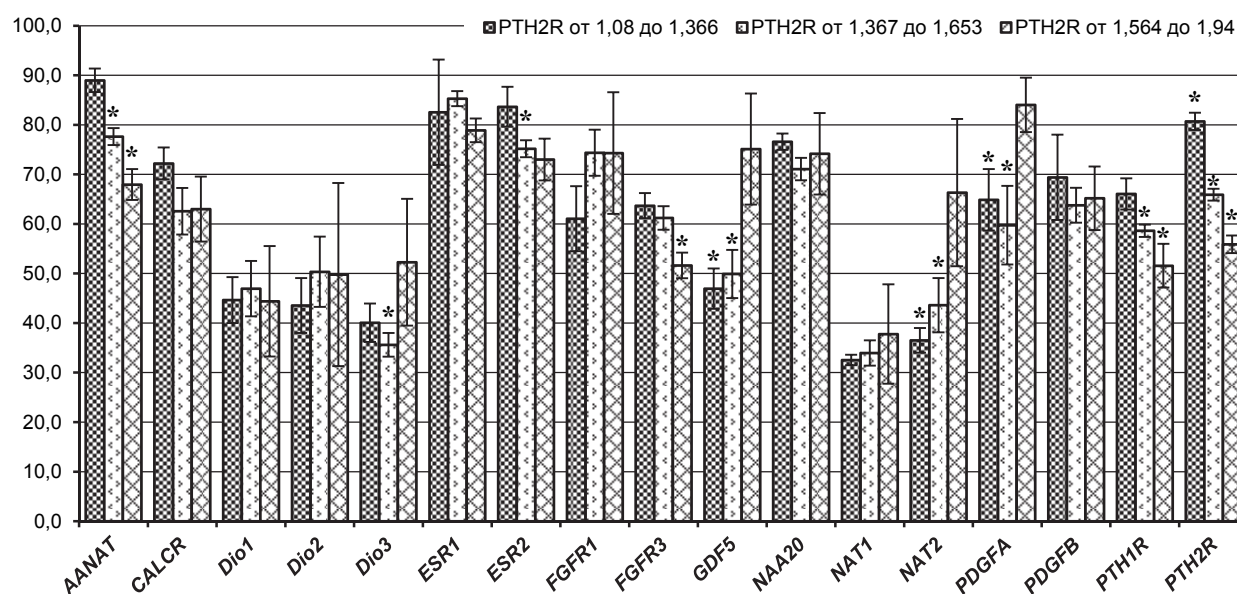


Рис. 9. Профиль экспрессии генов-кандидатов в *Ligamentum flavum*, ранжированный по активности гена *PTH2R*: * – $p < 0,05$

Fig. 9. Expression profile of candidate genes in *Ligamentum flavum*, ranked by *PTH2R* gene activity: * – $p < 0,05$

Таблица 3

Статистически значимые различия по экспрессии генов-кандидатов

Table 3

Statistically significant differences in the expression of candidate genes

Группы	Разделено по PTH1R			Разделено по PTH2R		
	1,14–1,5	1,51–1,87	1,88–2,24	1,08–1,366	1,367–1,653	1,654–1,94
Диапазон Ст	1	2	3	1	2	3
Номер подгруппы	1	2	3	1	2	3
AANAT	1–2	2–3	1–3	1–2	2–3	1–3
CALCR	1–2	–	–	1–2	–	–
Dio1	–	–	–	–	–	–
Dio2	–	2–3	1–3	–	–	–
Dio3	–	–	–	–	2–3	–
ESR1	–	2–3	–	–	2–3	–
ESR2	1–2	–	1–3	1–2	–	1–3
FGFR1	–	2–3	1–3	–	–	1–3
FGFR3	1–2	–	1–3	–	2–3	1–3
GDF5	–	2–3	1–3	–	2–3	1–3
NAA20	–	–	–	–	–	–
NAT1	–	–	–	–	–	–
NAT2	–	–	–	–	2–3	1–3
PDGFA	–	–	–	1–3	2–3	–
PDGFB	1–2	2–3	1–3	–	–	–
PTH1R	1–2	2–3	1–3	1–2	2–3	1–3
PTH2R	1–2	2–3	1–3	1–2	2–3	1–3
GADP	–	–	–	–	2–3	1–3
RPLP13A	–	–	–	–	–	–

Примечание. Цифрами обозначено, между какими группами есть статистически значимые различия по данному гену.

поскольку при таком делении получилось много статистически подтвержденных различий по большому количеству генов. Вполне может быть, что именно рецепторы к ПТГ являются особенно значимыми для метаболизма тканей жёлтой связки, поскольку многие гены работают совместно и скоординировано с ними (см. табл. 3, рис. 7).

ВЫВОДЫ

1. В ткани *Ligamentum flavum* всех пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне позвоночника экспрессируются гены, кодирующие рецепторы к паратиреоидному гормону PTH1R и PTH2R.

2. Общими особенностями экспрессии генов PTH1R и PTH2R были сопряжённость и однонаправленность изменений с экспрессией рецепторов к эстрадиолу (ESR1 и ESR2), а также с экспрессией фактора роста фибробластов FGFR3.

3. Отличительными чертами между транскрипцией генов PTH1R и PTH2R являются: для PTH1R – корреляция с весом тела пациента и объёмом бёдер; для PTH2R – параллельное однонаправленное изменение с экспрессией рецепторов к кальцитонину и PDGFB.

4. Интенсивность экспрессии рецепторов к паратиреоидному гормону в интраоперационных биоптатах *Ligamentum flavum* не зависит от возраста, половой принадлежности и наличия костно-хрящевых узлов по результатам МРТ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведённого исследования в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном уровне позвоночника впервые обнаружена и оценена экспрессия генов, кодирующих рецепторы к паратиреоидному гормону PTH1R и PTH2R, и выявлена их взаимосвязь с активностью генов, кодирующих рецепторы к эстрадиолу (ESR1 и ESR2) и FGFR3. Таким образом, выявлены паттерны экспрессии генов, кодирующих важные параметры рецепторного аппарата жёлтой связки, факторы роста и гены ацетилтрансфераз в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum*.

Обнаружены общие особенности экспрессии генов PTH1R и PTH2R, выражающиеся в сопряжённости и однонаправленности изменений с экспрессией рецепторов к эстрадиолу ESR1 и ESR2, а также с экспрессией фактора роста фибробластов FGFR3.

Впервые найдены отличительные черты между транскрипцией генов PTH1R и PTH2R, каковыми являются: для PTH1R – корреляция с весом тела пациента и объёмом бёдер; для PTH2R – параллельное однонаправленное изменение с экспрессией рецепторов к кальцитонину и PDGFB.

Доказано отсутствие зависимости интенсивности экспрессии рецепторов к паратиреоидному гормону в интраоперационных биоптатах *Ligamentum flavum*

от возраста пациента, его половой принадлежности, а также от наличия костно-хрящевых узлов, выявленных по результатам МРТ.

Изучение и оценка экспрессии ключевых генов, определяющих метаболизм соединительной ткани, даёт новые данные о патогенезе дегенеративно-дистрофических заболеваний позвоночника.

Определены новые значимые параметры рецепторного аппарата *Ligamentum flavum*, выявлена взаимообусловленность дифференциальных изменений экспрессии генов, принимающих участие в метаболизме тканей *Ligamentum flavum*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lan X, Gao J, Xu JZ, Liu XM. Treatment of ossification of Ligamentum flavum complicated with lumbar spinal stenosis. *Zhongguo Gu Shang*. 2017; 30(2): 175-178. doi: 10.3969/j.issn.1003-0034.2017.02.016
2. Ye S, Kwon WK, Bae T, Kim S, Lee JB, Cho TH, et al. CCN5 reduces Ligamentum flavum hypertrophy by modulating the TG-F- β pathway. *J Orthop Res*. 2019; 37(12): 2634-2644. doi: 10.1002/jor.24425
3. Haig AJ, Adewole A, Yamakawa KSJ, Kelemen B, Aagesen AL. The Ligamentum flavum at L4-5: relationship with anthropomorphic factors and clinical findings in older persons with and without spinal disorders. *PMR*. 2012; 4(1): 23-29.
4. Rahimizadeh A, Soufiani H, Amirzadeh M, Rahimizadeh Sh. Ossification of the Ligamentum flavum of the lumbar spine in Caucasians: case series. *J Spine Neurosurg*. 2017; 6(5). doi: 10.4172/2325-9701.1000283
5. Mori T, Sakai Y, Kayano M, Matsuda A, Oboki K, Matsmoto K. MicroRNA transcriptome analysis on hypertrophy of Ligamentum flavum in patients with lumbar spinal stenosis. *Spine Surg Relat Res*. 2017; 1(4): 211-217. doi: 10.22603/ssrr.1.2017-0023
6. Qu X, Chen Z, Fan D, Sun C, Zeng Y, Hou X, et al. Notch signaling pathways in human thoracic ossification of the Ligamentum flavum. *J Orthop Res*. 2016; 34(8): 1481-1491. doi: 10.1002/jor.23303
7. Le Maitre CL, Richardson SM, Baird P, Freemont AJ, Hoyland JA. Expression of receptors for putative anabolic growth factors in human intervertebral disc: implications for repair and regeneration of the disc. *J Pathol*. 2005; 207(4): 445-452. doi: 10.1002/path.1862
8. Guo W, Zhang B, Li Y, Duan HQ, Sun C, Xu YQ, et al. Gene expression profile identifies potential biomarkers for human intervertebral disc degeneration. *Mol Med Rep*. 2017; 16(6): 8665-8672. doi: 10.3892/mmr.2017.7741
9. Hong J, Yan J, Chen J, Li S, Huang Y, Huang Z, et al. Identification of key potential targets for TNF- α /TNFR1-related intervertebral disc degeneration by bioinformatics analysis. *Connect Tissue Res*. 2020; 26: 1-11. doi: 10.1080/03008207.2020.1797709
10. Северин Е.С. (ред.). Биохимия: учебник. М.: ГЭОТАР-МЕД; 2003.
11. Bringhurst FR. PTH receptors and apoptosis in osteocytes. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2002; 2(3): 245-251.
12. Åkesson K, Tenne M, Gerdhem P, Luthman H, McGuigan FE. Variation in the PTH2R gene is associated with age-related degenerative changes in the lumbar spine. *J Bone Miner Metab*. 2015; 33(1): 9-15. doi: 10.1007/s00774-013-0550-x
13. Galloway TS, Fletcher T, Thomas OJ, Lee BP, Pilling LC, Harries LW. PFOA and PFOS are associated with reduced expression of the parathyroid hormone 2 receptor (PTH2R) gene in women. *Chemosphere*. 2015; 120: 555-562. doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.09.066
14. Bisello A, Manen D, Pierroz DD, Usdin TB, Rizzoli R, Ferrari SL. Agonist-specific regulation of parathyroid hormone (PTH) receptor type 2 activity: structural and functional analysis of PTH- and tuberoinfundibular peptide (TIP) 39-stimulated desensitization and internalization. *Mol Endocrinol*. 2004; 18(6): 1486-1498. doi: 10.1210/me.2003-0487

15. Sato E, Zhang LJ, Dorschner RA, Adase CA, Choudhury BP, Gallo RL. Activation of parathyroid hormone 2 receptor induces decorin expression and promotes wound repair. *J Invest Dermatol*. 2017; 137(8): 1774-1783. doi: 10.1016/j.jid.2017.03.034
16. Dimitrov EL, Petrus E, Usdin TB. Tuberoinfundibular peptide of 39 residues (TIP39) signaling modulates acute and tonic nociception. *Exp Neurol*. 2010; 226(1): 68-83. doi: 10.1016/j.expneurol.2010.08.004
17. Tsuda MC, Yeung HM, Kuo J, Usdin TB. Incubation of fear is regulated by TIP39 peptide signaling in the medial nucleus of the amygdala. *J Neurosci*. 2015; 35(35): 12152-12161. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1736-15.2015
18. Dobolyi A, Palkovits M, Usdin TB. The TIP39-PTH2 receptor system: unique peptidergic cell groups in the brainstem and their interactions with central regulatory mechanisms. *Prog Neurobiol*. 2010; 90(1): 29-59. doi: 10.1016/j.pneurobio.2009.10.017
19. Panda D, Goltzman D, Jüppner H, Karaplis AC. TIP39/parathyroid hormone type 2 receptor signaling is a potent inhibitor of chondrocyte proliferation and differentiation. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009; 297(5): E1125-E1136. doi: 10.1152/ajpendo.00254.2009
20. Bagó AG, Dimitrov E, Saunders R, Seress L, Palkovits M, Usdin TB, et al. Parathyroid hormone 2 receptor and its endogenous ligand tuberoinfundibular peptide of 39 residues are concentrated in endocrine, viscerosensory and auditory brain regions in macaque and human. *Neuroscience*. 2009; 162(1): 128-147. doi: 10.1016/j.neuroscience.2009.04.054
21. Dimitrov EL, Kuo J, Kohno K, Usdin TB. Neuropathic and inflammatory pain are modulated by tuberoinfundibular peptide of 39 residues. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013; 110(32): 13156-13161. doi: 10.1073/pnas.1306342110
22. Родионова Л.В., Самойлова Л.Г., Шурыгина И.А., Складенко О.В., Животенко А.П., Кошкарёва З.В., и др. Особенности реакций ацетилирования у больных со стенозирующим процессом позвоночного канала и дурального мешка поясничного отдела позвоночника в зависимости от выраженности оксификации Ligamentum flavum. Патогенез. 2020; 13(3): 45-52. doi: 10.25557/2310-0435.2020.03.45-52
23. Bai M, Yin H, Zhao J, Li Y, Wu Y. miR-182-5p overexpression inhibits chondrogenesis by down-regulating PTHLH. *Cell Biol Int*. 2019; 43(3): 222-232. doi: 10.1002/cbin.11047

REFERENCES

1. Lan X, Gao J, Xu JZ, Liu XM. Treatment of ossification of Ligamentum flavum complicated with lumbar spinal stenosis. *Zhongguo Gu Shang*. 2017; 30(2): 175-178. doi: 10.3969/j.issn.1003-0034.2017.02.016
2. Ye S, Kwon WK, Bae T, Kim S, Lee JB, Cho TH, et al. CCN5 reduces Ligamentum flavum hypertrophy by modulating the TG-F- β pathway. *J Orthop Res*. 2019; 37(12): 2634-2644. doi: 10.1002/jor.24425
3. Haig AJ, Adewole A, Yamakawa KSJ, Kelemen B, Aagesen AL. The Ligamentum flavum at L4-5: relationship with anthropomorphic factors and clinical findings in older persons with and without spinal disorders. *PMR*. 2012; 4(1): 23-29.
4. Rahimizadeh A, Soufiani H, Amirzadeh M, Rahimizadeh Sh. Ossification of the Ligamentum flavum of the lumbar spine in Caucasians: case series. *J Spine Neurosurg*. 2017; 6(5). doi: 10.4172/2325-9701.1000283
5. Mori T, Sakai Y, Kayano M, Matsuda A, Oboki K, Matsmoto K. MicroRNA transcriptome analysis on hypertrophy of Ligamentum flavum in patients with lumbar spinal stenosis. *Spine Surg Relat Res*. 2017; 1(4): 211-217. doi: 10.22603/ssrr.1.2017-0023
6. Qu X, Chen Z, Fan D, Sun C, Zeng Y, Hou X, et al. Notch signaling pathways in human thoracic ossification of the Ligamentum flavum. *J Orthop Res*. 2016; 34(8): 1481-1491. doi: 10.1002/jor.23303
7. Le Maitre CL, Richardson SM, Baird P, Freemont AJ, Hoyland JA. Expression of receptors for putative anabolic growth factors in human intervertebral disc: implications for repair and

regeneration of the disc. *J Pathol.* 2005; 207(4): 445-452. doi: 10.1002/path.1862

8. Guo W, Zhang B, Li Y, Duan HQ, Sun C, Xu YQ, et al. Gene expression profile identifies potential biomarkers for human intervertebral disc degeneration. *Mol Med Rep.* 2017; 16(6): 8665-8672. doi: 10.3892/mmr.2017.7741

9. Hong J, Yan J, Chen J, Li S, Huang Y, Huang Z, et al. Identification of key potential targets for TNF- α /TNFR1-related intervertebral disc degeneration by bioinformatics analysis. *Connect Tissue Res.* 2020; 26: 1-11. doi: 10.1080/030008207.2020.1797709

10. Severin ES (ed.). *Biochemistry: textbook.* Moscow: GEO-TAR-MED; 2003. (In Russ.)

11. Bringham FR. PTH receptors and apoptosis in osteocytes. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2002; 2(3): 245-251.

12. Åkesson K, Tenne M, Gerdhem P, Luthman H, McGuigan FE. Variation in the PTH2R gene is associated with age-related degenerative changes in the lumbar spine. *J Bone Miner Metab.* 2015; 33(1): 9-15. doi: 10.1007/s00774-013-0550-x

13. Galloway TS, Fletcher T, Thomas OJ, Lee BP, Pilling LC, Harries LW. PFOA and PFOS are associated with reduced expression of the parathyroid hormone 2 receptor (PTH2R) gene in women. *Chemosphere.* 2015; 120: 555-562. doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.09.066

14. Bisello A, Manen D, Pierroz DD, Usdin TB, Rizzoli R, Ferrari SL. Agonist-specific regulation of parathyroid hormone (PTH) receptor type 2 activity: structural and functional analysis of PTH- and tuberoinfundibular peptide (TIP) 39-stimulated desensitization and internalization. *Mol Endocrinol.* 2004; 18(6): 1486-1498. doi: 10.1210/me.2003-0487

15. Sato E, Zhang LJ, Dorschner RA, Adase CA, Choudhury BP, Gallo RL. Activation of parathyroid hormone 2 receptor induces decorin expression and promotes wound repair. *J Invest Dermatol.* 2017; 137(8): 1774-1783. doi: 10.1016/j.jid.2017.03.034

16. Dimitrov EL, Petrus E, Usdin TB. Tuberoinfundibular peptide of 39 residues (TIP39) signaling modulates acute and tonic nociception. *Exp Neurol.* 2010; 226(1): 68-83. doi: 10.1016/j.expneurol.2010.08.004

17. Tsuda MC, Yeung HM, Kuo J, Usdin TB. Incubation of fear is regulated by TIP39 peptide signaling in the medial nucleus of the amygdala. *J Neurosci.* 2015; 35(35): 12152-12161. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1736-15.2015

18. Dobolyi A, Palkovits M, Usdin TB. The TIP39-PTH2 receptor system: unique peptidergic cell groups in the brainstem and their interactions with central regulatory mechanisms. *Prog Neurobiol.* 2010; 90(1): 29-59. doi: 10.1016/j.pneurobio.2009.10.017

19. Panda D, Goltzman D, Jüppner H, Karaplis AC. TIP39/parathyroid hormone type 2 receptor signaling is a potent inhibitor of chondrocyte proliferation and differentiation. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009; 297(5): E1125-E1136. doi: 10.1152/ajpendo.00254.2009

20. Bagó AG, Dimitrov E, Saunders R, Seress L, Palkovits M, Usdin TB, et al. Parathyroid hormone 2 receptor and its endogenous ligand tuberoinfundibular peptide of 39 residues are concentrated in endocrine, viscerosensory and auditory brain regions in macaque and human. *Neuroscience.* 2009; 162(1): 128-147. doi: 10.1016/j.neuroscience.2009.04.054

21. Dimitrov EL, Kuo J, Kohno K, Usdin TB. Neuropathic and inflammatory pain are modulated by tuberoinfundibular peptide of 39 residues. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013; 110(32): 13156-13161. doi: 10.1073/pnas.1306342110

22. Rodionova LV, Samoilova LG, Shurygina IA, Sklyarenko OV, Zhivotenko A., Koshkareva ZV, et al. Peculiarities of acetylation reactions in patients with stenosis of spinal canal and dural sac of the lumbar spine, depending on the severity of ossification of the Ligamentum flavum. *Pathogenesis.* 2020; 13(3): 45-52. doi: 10.25557/2310-0435.2020.03.45-52. (In Russ.)

23. Bai M, Yin H, Zhao J, Li Y, Wu Y. miR-182-5p overexpression inhibits chondrogenesis by down-regulating PTHLH. *Cell Biol Int.* 2019; 43(3): 222-232. doi: 10.1002/cbin.11047

Сведения об авторах

Родионова Любовь Викторовна – кандидат биологических наук, заведующая лабораторией клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: greidmacho@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5080-9225>

Самойлова Лилия Григорьевна – младший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: popovalg@mail.ru

Сороковиков Владимир Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, директор, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и нейрохирургии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: vasorokovikov@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9008-6383>

Information about the authors

Lyubov V. Rodionova – Cand. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Teaching Assistant at the Department of Clinical Laboratory Medicine, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: greidmacho@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5080-9225>

Liliya G. Samoilova – Junior Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: popovalg@mail.ru

Vladimir A. Sorokovikov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Head of the Department of Traumatology, Orthopedy and Neurosurgery, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: vasorokovikov@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9008-6383>

Статья получена: 18.11.2020. Статья принята: 30.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 18.11.2020. Accepted: 30.11.2020. Published: 26.12.2020.

Активность реакций липопероксидации – антиоксидантной защиты у больных с ВИЧ-инфекцией (обзор)*

Никитина О.А.

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

Автор, ответственный за переписку: Никитина Ольга Андреевна, e-mail: olga_tolpygina@mail.ru

Резюме

Изменение активности системы перекисного окисления липидов – антиоксидантной системы защиты (ПОЛ–АОЗ) является важной метаболической характеристикой при различных заболеваниях, в том числе при инфицировании вирусом иммунодефицита человека. Высокая медико-социальная и экономическая значимость ВИЧ-инфекции определяется широким распространением и тяжелым течением заболевания. Ежегодно в мире регистрируются до 2,7 млн новых случаев инфицирования. Рост распространенности ВИЧ-инфекции в Российской Федерации во многом обусловлен превалированием полового пути передачи (50,3 %). В последние годы значительно выросла доля женщин репродуктивного возраста, зараженных ВИЧ, что влечет за собой проблему увеличения числа случаев передачи ВИЧ-инфекции от матери к ребенку во время беременности и родов.

По данным ряда авторов установлено, что у больных ВИЧ-инфекцией происходит интенсификация процессов перекисного окисления липидов на фоне истощения активности антиоксидантной системы защиты. Наличие при вирусе иммунодефицита человека ко-инфекций, сопутствующих заболеваний и других негативных факторов могут усугублять течение данного рода реакций.

В статье представлен обзор и анализ данных литературы последних лет по исследованиям особенностей изменений показателей свободнорадикального окисления при ВИЧ-инфекции. Изучение процессов ПОЛ–АОЗ при ВИЧ-инфекции является необходимым и может выступать как новый подход в профилактике осложнений и лечении данного заболевания.

При написании обзора была использована база данных научной электронной библиотеки eLibrary.Ru, ключевые слова: ВИЧ, липопероксидация, перекисное окисление липидов, свободнорадикальное окисление, антиоксидантная защита; фильтры: годы публикации 2010–2020 гг., публикации, имеющие полный текст, публикации доступные для просмотра; англоязычная база данных медицинских и биологических публикаций, созданная Национальным центром биотехнологической информации (NCBI), ключевые слова: HIV, lipid peroxidation, antioxidant protection, antioxidants, oxidative stress, human immunodeficiency virus.

Ключевые слова: свободнорадикальное окисление, перекисное окисление липидов, окислительный стресс, антиоксидантная защита, ВИЧ, инфекции

Для цитирования: Никитина О.А. Активность реакций липопероксидации-антиоксидантной защиты у больных с ВИЧ-инфекцией (обзор). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 124-132. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.14.

Activity of Lipoperoxidation – Antioxidant Protection Reactions in Patients with HIV Infection (Review)

Nikitina O.A.

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

Corresponding author: Olga A. Nikitina, e-mail: olga_tolpygina@mail.ru

Abstract

Changes in the activity of the lipid peroxidation – the antioxidant defense system is an important metabolic characteristic in various diseases, including infection with the human immunodeficiency virus. The high medical, social and economic significance of HIV infection is determined by the widespread and severe course of the disease. Up to 2.7 million new infections are registered in the world every year. The increase in the prevalence of HIV infection in the Russian Federation is largely due to the prevalence of sexual transmission (50.3 %). In recent years, the proportion of women of reproductive age who are infected with HIV has significantly increased, which entails the problem of an increase in the number of cases of HIV transmission from mother to child during pregnancy and childbirth.

According to a number of authors, it was found that in patients with HIV infection there is an intensification of the processes of lipid peroxidation, against the background of depletion of the activity of the antioxidant defense system. The presence of co-infections in the human immunodeficiency virus, concomitant diseases and other negative factors can aggravate the course of this kind of reactions.

The article presents a review and analysis of recent literature data on studies of the features of changes in free radical oxidation indicators in HIV infection. The study of LPO–AOD processes in HIV infection is necessary and can act as a new approach in the prevention of complications and treatment of this disease.

When writing the review, the database of the scientific electronic library (eLibrary.Ru) was used, the keywords were HIV, lipid peroxidation, lipid peroxidation, free radical oxidation, antioxidant protection; filters: publication years 2010–2020, publications with full text, publications available for viewing; An English-language database of medical

* Статья опубликована по материалам доклада на IV Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 16 октября 2020 года).

and biological publications created by the NCBI, keywords: HIV, lipid peroxidation, antioxidant protection, antioxidants, oxidative stress, human immunodeficiency virus.

Key words: free radical oxidation, lipid peroxidation, oxidative stress, antioxidant defense, HIV, infections

For citation: Nikitina O.A. Activity of Lipoperoxidation – Antioxidant Protection Reactions in Patients with HIV Infection (Review). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 124-132. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.14.

МЕХАНИЗМЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ КАК ОДИН ИЗ ВИДОВ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ

При патологических состояниях в организме баланс в системе ПОЛ–АОЗ изменяется, приводя к развитию окислительного стресса. В любой клетке живого организма есть условия для осуществления процессов перекисного окисления липидов: это наличие субстратов – полиеновых липидов, а также инициаторов и катализаторов – активных форм кислорода и ионов металлов с переменной валентностью. В то же время в норме содержание продуктов ПОЛ в организме невелико. При физиологических условиях в организме наблюдается равновесие между уровнем свободных радикалов (оксидантов) и активностью системы антиоксидантной защиты. Дисбаланс приводит к развитию окислительного стресса, который формируется вследствие антиоксидантной недостаточности и становится основой для нарушения целостности мембранных структур клеток и тканей. Именно эти процессы являются стартовой точкой для формирования метаболических нарушений и развития патологических процессов.

Нарушение системы ПОЛ–АОЗ сопровождается или является причиной более 200 заболеваний у человека [1]. В литературе последнего десятилетия имеются данные, свидетельствующие о том, что ВИЧ-инфекцию также можно отнести к «свободнорадикальным» болезням [2, 3, 4].

АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА И МЕХАНИЗМЫ ИХ ОБРАЗОВАНИЯ

В условиях оптимального функционирования дыхательной цепи митохондрий большая часть электронов (до 95–99 %) при последнем этапе переноса с участием цитохромоксидазы акцептируется на кислороде с образованием воды и макроэргических фосфатов [5]. Оставшиеся электроны посредством шунтирующих механизмов также акцептируются на кислороде, причем к каждой молекуле кислорода присоединяется не четыре электрона, а 1–3 с образованием частиц, в том числе имеющих неспаренные электроны, т. е. радикалов. Среди супероксидных радикалов наибольшее значение имеют супероксиданион-радикал ($O_2^{\cdot-}$), гидроксильный радикал ($\cdot OH$), пергидроксильный радикал ($HO_2^{\cdot}$), пероксильный радикал ($ROO^{\cdot}$).

Кроме радикалов в процессах свободнорадикального окисления (СРО) важную роль играют такие нейтральные молекулы как пероксид водорода (H_2O_2), анион гипохлорной кислоты (OCl^-), кислород в возбужденном состоянии, или синглетный кислород ($^1O_2$). Высокой окислительной активностью обладает также озон (O_3) [6], успешно применяющийся в настоящее время для изучения тонких механизмов липопероксидации. Все эти нейтральные молекулы и радикальные частицы объединяются под названием «активные формы кислорода» (АФК).

Супероксиданион-радикал является триггерным эндогенным агентом начала реакций СРО, приводящих к генерации большинства АФК. Его основными метабо-

лическими источниками являются дыхательная цепь митохондрий, NADPH-оксидазы фагоцитирующих и нефагоцитирующих клеток, ксантиноксидаза, цитохром P_{450} , цитохром c, микросомальные монооксигеназы [7] и структуры аппарата Гольджи [8]. Этот радикал образуется также как интермедиат при окислении целого ряда биологически активных соединений, к которым относятся вещества, содержащие сульфгидрильные группы, а также катехоламины, флавины, хиноны, ксенобиотики и многие другие соединения [9].

В водном растворе супероксидный радикал быстро дисмутирует и приводит к образованию пероксида водорода и кислорода [5]. Пероксид водорода, несмотря на свою небольшую токсичность, в присутствии металлов переменной валентности может образовывать один из наиболее реакционноспособных радикалов кислорода и АФК – гидроксильный радикал [7]. Кстати, этот радикал в реакции Габера – Вейса образуется также при взаимодействии двух относительно мало активных АФК – пероксида водорода и супероксидного радикала. В этом случае, вероятно, имеет место подмеченная многими исследователями закономерность о том, что вторичные радикалы, как правило, значительно более активны в биологическом отношении, по сравнению с первичными, из которых они произошли.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПРИ ГЕНЕРАЦИИ АФК

Обнаружение в свое время высокоактивных радикалов кислорода и азота и, особенно, гидроксильного радикала, привело к широкой дискуссии о значении АФК для метаболизма клеток и в целом для организма [10]. В начале преобладала точка зрения о негативной роли АФК в этиопатогенезе самых разнообразных заболеваний, затем появились хорошо аргументированные исследования, доказывающие важные физиологические аспекты генерации АФК. Дискуссия закончилась тем, что обе стороны по-своему оказались правы, так как изучаемое явление, как и любое явление в науке, необходимо рассматривать, по крайней мере, с двух сторон [11].

Другими словами, генерация АФК в своей эволюционной основе представляет собой ценное приобретение для расширения возможностей регуляции метаболических систем и адаптации целостного организма (от бактерий до человека), но при изменении количественных параметров интенсивности регулирующего сигнала это приводит к противоположному эффекту [12].

Активные формы кислорода являются продуктами нормального метаболизма, а их функцию можно обозначить как редокс-мессенджерную в процессе внутриклеточной регуляции, в то время как их избыток индуцирует модификацию клеточных макромолекул, ингибирует функции структурных и функциональных белков и способствует клеточной смерти. Кроме того, различные редокс-системы, такие как глутатион, тиоредоксин и редокс-пара пиридиновок нуклеотидов, участвуют в клеточной сигнализации и модуляции клеточной функции,

включая апоптическую клеточную смерть, которая рассматривается как физиологическое явление [13].

Активные формы кислорода, кроме упомянутых функций, в физиологических условиях выполняют и другие многочисленные функции, участвуя в регуляции тонуса сосудов, синтезе простагландинов, эстрогенов и других эйкозаноидов, обеспечивают микробицидное действие фагоцитов [5], обновляют компоненты биологических мембран и макромолекул клеток [14], принимают участие в холодовой адаптации, оптимизируют состояние после физических нагрузок [15], являются необходимым условием для проведения нервного импульса [10].

Особенно важно отметить, что высокая реакционная способность и короткое время жизни АФК делает их ценнейшим инструментом для сигналинга в наноразмерном режиме [14, 16]. Любопытно, что в некоторых случаях в процессе передачи редокс-сигнала о гибели, этот сигнал может трансформироваться в сигнал выживания, что лишний раз свидетельствует о фундаментальной роли генерации активных форм кислорода не только на молекулярном, но и на организменном уровне.

ХАРАКТЕРИСТИКА СИСТЕМЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЗАЩИТЫ

Как мы уже указывали выше, физическая природа активных форм кислорода предполагает возможность кардинальных перестроек метаболизма, в основе которых лежат процессы окислительной модификации ключевых макро- и низкомолекулярных компонентов любой клетки. Среди биологических молекул, которые подвергаются модификации под влиянием активных форм кислорода, в первую очередь внимание исследователей нацелено на большую группу неполярных, гетерогенных по химическому составу и функциям соединений, объединяемых под термином липиды [17]. Мишенью для действия АФК в мембранных и плазматических липидах являются полиненасыщенные жирные кислоты, содержащие несколько изолированных двойных связей и, по определению,

чувствительных к реакциям радикального окисления [10]. Поскольку процесс окисления с участием АФК отличается от классического β -окисления жирных кислот, сопровождаясь образованием перекисных интермедиатов, его предложено называть перекисным окислением липидов (ПОЛ).

ПОЛ по целому ряду признаков является классическим свободнорадикальным цепным процессом, поскольку для него характерны те же стадии, что и у других свободнорадикальных реакций (СРР): инициация, продолжение цепи, разветвление и обрыв цепей вследствие рекомбинации радикалов, также образующихся при липопероксидации [18]. На рисунке 1 указана стадия, на которой образуются алкильные, алкоксильные и пероксильные радикалы, которые участвуют в продолжении цепных реакций ПОЛ и без которых существование этой системы было бы немыслимо.

Установлено, что перекисное окисление липидов это преимущественно неферментативный (параметаболитический), аскорбатзависимый процесс, активируемый ионами металлов переменной валентности (Fe^{2+} , Cu^{+1}).

Активные формы кислорода достаточно эффективно взаимодействуют с углеводородными цепями липидов, причем скорость реакции отрыва водорода (по соседству с двойной связью) от этих цепей близка к диффузионно-контролируемой, что сопровождается образованием неспаренного электрона и трансформацией изолированных двойных связей в конъюгированные [20]. Это приводит к повышению термодинамической стабильности сопряженных систем и объясняет появление таких структур, как сопряженные диены и триены, и других, являющихся маркерами активности липопероксидации, количественное измерение которых позволяет объективизировать интенсивность процессов ПОЛ [10].

Образование гидроперекиси ROOH при ПОЛ обеспечивается, как мы уже говорили, за счёт отрыва атома водорода от RH и восстановления радикала $\text{RO}\cdot$. Таким образом, в реакции взаимодействия углеводородного радикала с кислородом свободнорадикальный центр R

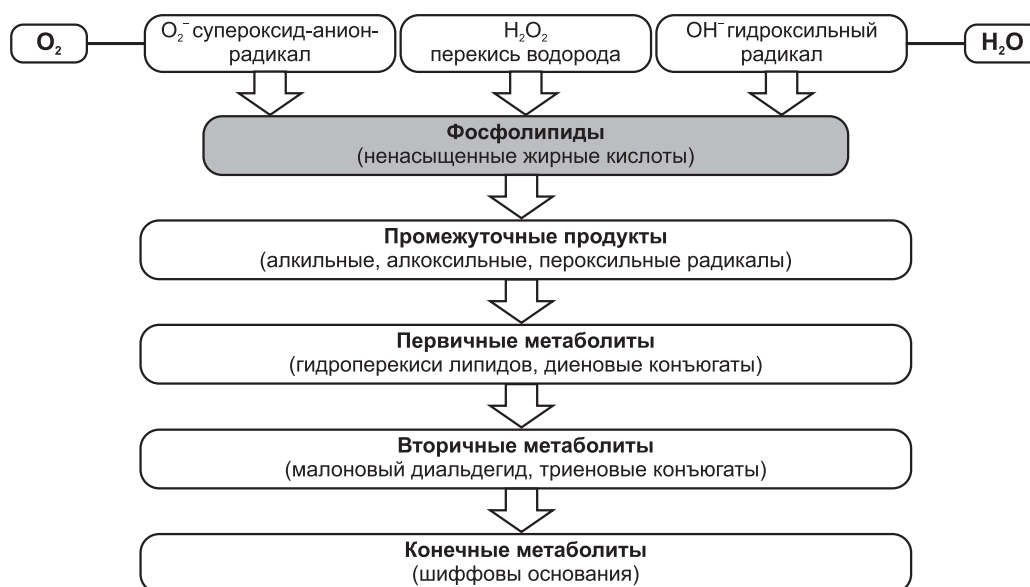


Рис. 1. Схема перекисного окисления липидов с обозначением основных интермедиатов [19]

Fig. 1. Diagram of lipid peroxidation with the designation of the main intermediates [19]

не погибает, а образуется вновь из неокисленной молекулы субстрата. Подобные реакции относятся к цепным, а число таких циклов, которое успевает совершить свободнорадикальный центр до момента его гибели, называют длиной цепи или числом оборота цепи.

ПОЛ, как один из видов свободнорадикального окисления, при низкой скорости генерации различных интермедиатов играет важную физиологическую роль в оптимизации функционирования различных клеточных и метаболических структур. Это в первую очередь касается участия ПОЛ в биосинтезе разнообразных регуляторных факторов (эйкозаноиды, гормоны), обновления мембранных структур, сигнальной функции, обеспечения апоптоза, изменения свойств таких мембранных белков, как транспортные Ca^{2+} -АТФазы, цитохромы P_{450} , b_5 , c , глюкозы-6-фосфатазы, моноаминоксидазы, фосфолипиды, родопсин и др. [20].

Таким образом, в предыдущем разделе мы показали, что в процессе эволюции за счет оттока части электронов из электронпереносящих цепей митохондрий и микросом практически всех эукариотов сформировался физиологический механизм генерации АФК, который лежит в основе свободнорадикального окисления, одним из представителей которого является перекисное окисление липидов. Учитывая определенную специфику липидов и входящих в их состав длинноцепочечных жирных кислот, содержащих несколько двойных связей, нет ничего удивительного в том, что под влиянием экзогенных (ультрафиолетовая и ионизирующая радиация, ксенобиотики, переживание классических стрессов по Г. Селье и др.) и эндогенных (ферментативных) факторов, система ПОЛ активируется, а это может приводить к различным негативным последствиям.

Современная наука и клиническая практика убедительно свидетельствуют нам о том, что одним из компонентов этиологии и патогенеза многих заболеваний у человека является чрезмерная активация процессов липопероксидации. В отдельных, относительно редких, случаях гиперактивация ПОЛ является ведущим метаболическим синдромом. К таким случаям можно отнести лучевую болезнь, отравления хлорированными углеводородами и другими ксенобиотиками. Так, по данным Меньшиковой Е.Б. с соавт., установлено, что то или иное участие активация ПОЛ принимает в этиопатогенезе более чем 200 нозологических форм, причём этот список постоянно расширяется [1]. Этот перечень включает в себя широчайший диапазон соматических, сердечно-сосудистых, неврологических, нейродегенеративных (включая болезнь Альцгеймера), психических, онкологических, инфекционных (включая ВИЧ) и многих других синдромов и нозологических форм [21, 22, 23]. Таким образом, не будет преувеличением полагать, что у всех значимых заболеваний человека и животных в качестве неспецифического метаболического синдрома можно обнаружить активацию или гиперактивацию процессов ПОЛ.

ПРОЦЕССЫ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЗАЩИТЫ У БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

Заболеемость ВИЧ-инфекцией во всём мире продолжает неуклонно расти. К концу 2017 г. с начала эпидемии заразились более 77 млн человек (оценочный диапазон – 60–100 млн) и более 35 млн человек (оце-

ночный диапазон – 25–50 млн) умерли от заболеваний, связанных с ВИЧ/СПИД [24]. По данным ЮНЭЙДС на конец 2019 г., общее количество людей, живущих с ВИЧ/СПИД, в странах мира составило 38,0 млн (оценочный диапазон – 31,6–44,5 млн). Число новых случаев заражения ВИЧ составило 1,7 млн (оценочный диапазон – 1,2–2,2 млн). По состоянию на 30 июня 2020 г. кумулятивное количество зарегистрированных случаев выявления ВИЧ-инфекции в иммунном блоте среди граждан Российской Федерации составило 1 465 102 человека [25]. По сравнению с 1990 г. распространённость ВИЧ-инфекции среди населения земного шара выросла почти в три раза [26]. Заражение ВИЧ-инфекцией и смертность от данного заболевания во всём мире сделали данную пандемию одной из самых разрушительных в истории человечества.

В настоящее время имеется ряд исследований, посвящённых изучению состояния системы перекисного окисления липидов и активности антиоксидантной защиты крови при различных заболеваниях [1, 3, 27], в том числе при ВИЧ-инфекции [4, 28, 29, 30].

Инфекция вирусом иммунодефицита человека вызывает иммунный ответ, при котором нейтрофилы продуцируют активные формы кислорода для защиты от вторжения патогенов. Следовательно, непропорционально высокие уровни АФК, по сравнению с антиоксидантами, приводят к окислительному стрессу, который играет ключевую роль в прогрессировании и патогенезе ВИЧ-инфекции. Данные многих исследований выявили метаболические маркеры, указывающие на развитие окислительного стресса при вирусе иммунодефицита [31, 32, 33]. Установлены связи между повышенным содержанием активных форм кислорода и пониженным содержанием антиоксидантов во время ВИЧ-инфекции, а также последующим применением высокоактивной антиретровирусной терапией (БААРТ). Существует тесная взаимосвязь между статусом оксидативного стресса и инфекцией/прогрессированием ВИЧ, как по отдельности, так и в присутствии комбинированной антиретровирусной терапии.

При исследовании сыворотки крови больных ВИЧ-инфекцией В.В. Костюшовым с соавт. установлено преобладание прооксидантных реакций уже на самых ранних стадиях, а также определены лабораторные признаки окислительной модификации липопротеидов [34]. Также отмечено, что особую роль в формировании окислительного стресса при ВИЧ-инфекции играет нарушение активности ферментов антиоксидантной защиты. Активация процессов перекисного окисления липидов при ВИЧ сопровождается подавлением активности ферментов антиоксидантной системы сыворотки крови (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза). В таких условиях функцию антиоксидантной защиты принимает на себя глутатионредуктаза. Глутатионредуктаза поддерживает высокую внутриклеточную концентрацию восстановленного глутатиона, катализируя обратимое NADPH-зависимое восстановление окисленного глутатиона с образованием двух молекул восстановленного. Она содержится, в основном, в цитозоле и принимает участие во многих метаболических путях, поскольку восстанавливает пул глутатиона. В связи с этим, глутатионредуктаза необходима для глутатионового редокс-цикла. Отсутствие или снижение активности глутатионредуктазы приводит к увеличению доли окисленной формы

глутатиона. Авторы отмечают, что при начальных формах СПИДа более выражено повышение концентрации малонового диальдегида (МДА), наряду с окислительной модификацией липопротеидов и нарушением активности ферментов антиоксидантной защиты крови. Обнаруженные нарушения свидетельствуют о молекулярном дисбалансе систем прооксиданты/антиоксиданты сыворотки крови больных ВИЧ-инфекцией.

Наличие сопутствующих заболеваний при ВИЧ-инфекции отягощает их течение и усиливает развитие окислительного стресса [35, 36, 37].

Так, при изучении показателей ПОЛ–АОЗ у женщин фертильного возраста с хроническими вирусными гепатитами (ХВГ), в том числе при их сочетании с ВИЧ-инфекцией [38], авторами было установлено, что у пациенток с ХВГ в сочетании с ВИЧ-инфекцией, в сравнении с пациентками с ХВГ-моноинфекцией, отмечалось более высокое содержание продуктов перекисного окисления липидов на фоне снижения уровня общей антиокислительной активности крови, активности ферментов, а также концентрации витаминов. Таким образом, наличие коинфекции (ХВГ, в сочетании с ВИЧ) характеризуется более интенсивными процессами липопероксидации и выраженной недостаточностью антиоксидантных показателей.

В исследованиях Л.И. Колесниковой [39] по определению особенностей изменений параметров липопероксидации – антиоксидантной защиты, а также состояния репродуктивной системы у женщин с моноинфекцией (ВИЧ) и коинфекцией (ВИЧ и гепатиты В и/или С) выявлено, что в группе с ВИЧ-коинфекцией, по сравнению с контрольными значениями и показателями пациенток с ВИЧ-моноинфекцией, повышаются значения первичных и вторичных продуктов ПОЛ на фоне снижения активности антиоксидантной защиты. Также установлено, что наличие коинфекции у женщин с вирусом иммунодефицита человека сопровождается недостаточностью лютеиновой фазы. Исследователями подтверждается агрессивное влияние вируса иммунодефицита человека на функциональное состояние клеток [39].

Среди условно-патогенных микроорганизмов, связанных с синдромом приобретённого иммунодефицита, *Mycobacterium tuberculosis* отличается своей относительной вирулентностью и возможностью передачи от человека к человеку. О. Awodele et al. при определении уровня окислительного стресса и гематологических параметров у пациентов с ВИЧ (ранее не инфицированных), пациентов с ВИЧ, получающих ВААРТ, и пациентов с коинфекцией «ВИЧ/туберкулёз» (ТБ) установили, что у нелеченных пациентов и пациентов с коинфекцией ВИЧ/ТБ ниже уровень антиоксидантов и определяется более высокий уровень токсичного продукта ПОЛ – малонового диальдегида, по сравнению с пациентами с ВИЧ, получающими ВААРТ, и серонегативными пациентами [40]. Таким образом, окислительный стресс тесно связан с инфицированием туберкулёзом, причём его уровень наиболее высок у пациентов с сочетанной инфекцией ВИЧ/ТБ.

При изучении состояния плаценты у ВИЧ-инфицированных беременных женщин S. Hernández et al. [41] оценивали уровень окислительного стресса с помощью спектрофотометрического количественного определения перекисного окисления липидов. Было от-

мечено значительное увеличение оксидативного стресса на $29,50 \pm 9,14$ % в плаценте ВИЧ-инфицированных женщин по сравнению с беременными женщинами, неинфицированными вирусом. Таким образом, устанавливается отягощающее действие вируса иммунодефицита на состояние плаценты. Корреляция между уровнем окислительного стресса и неблагоприятным перинатальным исходом исследователями не установлена.

Исследования различных групп учёных также указывают на интенсификацию процессов перекисного окисления липидов при наличии ВИЧ-инфекции [42, 43, 44]. Так, в работе Ж.Х. Сабанчиевой у больных ВИЧ-инфекцией в стадию вторичных проявлений установлена выраженная активация процессов ПОЛ, о чём свидетельствуют достоверное увеличение содержания конечного продукта – МДА и отмеченная тенденция к росту первичных продуктов липопероксидации – кетодиенов [42]. Высокий уровень МДА является признаком клеточных повреждений и может свидетельствовать о развитии окислительного стресса. На фоне интенсификации перекисных процессов авторами выявлены значительные изменения в системе антиоксидантной защиты крови, у пациентов с ВИЧ-инфекцией установлено достоверное снижение концентрации церулоплазмينا, активности каталазы эритроцитов [44] и уровня общей антиокислительной активности крови [42], что говорит об истощении системы антиоксидантной защиты.

В работе М.А. Даренской [45] проанализированы данные исследования параметров ПОЛ–АОЗ у ВИЧ-инфицированных женщин без и с нарушениями репродуктивной функции. У больных с ВИЧ-инфекцией с нарушением репродуктивной функции процессы пероксидации липидов характеризуются накоплением первичных и промежуточных продуктов ПОЛ (диеновых конъюгатов, кетодиенов и сопряжённых триенов) по сравнению с группой без расстройств, на фоне стабильного уровня ТБК-активных продуктов и снижения уровня α -токоферола, ретинола, активности супероксиддисмутазы и дисбаланса в системе глутатиона. У женщин с ВИЧ-инфекцией и нарушениями репродуктивной функции окислительный стресс и дефицит антиоксидантных компонентов были значительно выше, чем у женщин без нарушений. Авторами предложено включить антиоксидантные добавки в комплексную патогенетическую терапию у этих женщин.

При проведении комплексного исследования [46] показателей ПОЛ и системы антиоксидантной защиты крови больных ВИЧ-инфекцией в зависимости от стадии, глубины патологического процесса, наличия наркомании, коинфекции и при обострении сопутствующих заболеваний Ж.Х. Сабанчиевой также обнаружена активация процессов липопероксидации на фоне снижения антиоксидантной защиты организма у больных с вирусом иммунодефицита человека. Интенсивность процессов пероксидации при ВИЧ-инфекции оценивали по содержанию малонового диальдегида. Наибольшее повышение уровня МДА в сыворотке крови выявлено при сочетании различных патологий. Снижение активности супероксиддисмутазы в крови больных также было связано со стадией заболевания и зависело от наличия наркомании, что указывает на взаимное отягощающее действие наличия сопутствующих заболеваний.

По результатам исследований Б.С. Нагоева и Ж.Х. Сабанчиевой [47] установлено, что наибольшая степень накопления продуктов ПОЛ выявлена у больных с коинфекцией – ВИЧ, вирусных гепатитов В, С и при наличии наркомании. Полученные авторами результаты свидетельствуют о серьёзных нарушениях в системе ПОЛ, сопровождающихся угнетением общей антиоксидантной активности крови и каталазы, которая является одним из ключевых ферментов антиоксидантной защиты и, разлагая перекись водорода, предотвращает образование гидроксильных радикалов по реакции Фентона. Повышение активности процессов ПОЛ в организме больных ВИЧ-инфекцией, вероятно, является одним из патогенетических звеньев развития заболевания. Выявленная закономерность свидетельствует, что содержание продуктов ПОЛ существенно отражает тяжесть течения ВИЧ-инфекции. При анализе полученных результатов исследования процессов свободнорадикального окисления было установлено усиление липопероксидации у больных с ВИЧ на фоне снижения активности ферментов антиоксидантной защиты крови.

В исследованиях М.А. Шатырко с соавт. [48] по выявлению особенностей изменений иммунограммы и показателей свободнорадикального окисления плазмы крови у ВИЧ-инфицированных героиновых наркоманов определено, что окислительный стресс проявляется главным образом в усилении карбонилирования белков. Карбонилирование белков представляет собой необратимое окислительное повреждение, часто приводящее к потере их функции. Накопление таких белков наблюдается при старении организма, а также играет роль в этиологии и/или прогрессировании некоторых заболеваний человека, в том числе ВИЧ-инфекции, и является интересной темой для последующих исследований.

Несомненный интерес вызывает изучение взаимодействия между антиретровирусной терапией и окислительным стрессом у ВИЧ-инфицированных пациентов. ВИЧ-инфекция приводит к снижению количества CD4⁺ Т-клеток и, в конечном итоге, к качественным нарушениям функции CD4⁺ Т-клеток [49, 50, 51, 52]. Антиретровирусная терапия приводит к увеличению количества CD4⁺-клеток и функциональному восстановлению иммунной системы. Однако пациенты, получающие терапию, обычно испытывают побочные эффекты. Таким образом, лечение ВИЧ-инфекции становится балансирующим действием между преимуществами подавления ВИЧ и рисками токсичности лекарств с помощью высокоактивной антиретровирусной терапии. В исследованиях Ceccherini-Silberstein F. et al. было показано, что ВААРТ вызывает окислительный стресс с помощью нескольких биохимических механизмов. Однако индукция окислительного стресса с помощью ВААРТ минимальна по сравнению с индукцией окислительного стресса у носителя ВИЧ. Использование высокоактивной антиретровирусной терапии для лечения ВИЧ/СПИД остается неизбежным, рекомендуется сочетание с экзогенными антиоксидантами. Экзогенные антиоксиданты уничтожают индуцированные инфекцией активные формы кислорода, а также могут быть полезны для облегчения некоторых побочных эффектов, вызванных ВААРТ [50].

Таким образом, полученные за последние десятилетия данные позволяют по-новому взглянуть на взаимосвязь свободнорадикального окисления и ВИЧ-инфекции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рост числа людей, зараженных вирусом иммунодефицита человека, и тяжесть течения заболевания определяют чрезвычайную актуальность исследования данной проблемы. А большая распространённость и неблагоприятное течение заболевания придают большое медико-социальное значение исследованию ВИЧ-инфекции. Изучение особенностей функционирования системы ПОЛ–АОЗ при инфицировании вирусом иммунодефицита человека представляет большой научный интерес. В протекание реакций свободнорадикального окисления в клетках вовлечено большое количество различных веществ, ещё большее число компонентов клетки участвует в регуляции интенсивности свободнорадикального окисления. Поэтому изолированное изучение отдельных компонентов клетки или содержания одного-двух продуктов ПОЛ для целей исследования механизма развития и регуляции свободнорадикального окисления представляется малоцелесообразным из-за недостаточной информативности. Более того, в каждом конкретном случае выбор исследуемых звеньев свободнорадикального окисления и компонентов антиокислительной системы должен быть целенаправленным, необходимым, достаточным и адекватным поставленным задачам. Это особенно важно в клинических и патофизиологических исследованиях.

Конфликт интересов

Автор данной статьи сообщает об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зенков Н.К., Кожин П.М., Чечушков А.В., Кандалинцева Н.В., Мартинович Г.Г., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс при старении. *Успехи геронтологии*. 2020; 33(1): 10-22. doi: 10.34922/AE.2020.33.1.001
2. Костюшов В.В., Бокал И.И. Роль тиолдисульфидной системы в механизме оксидативного стресса и дистресса при ВИЧ-инфекции. *Биомедицинская химия*. 2010; 56(2): 290-298.
3. Kolesnikova LI, Kolesnikov SI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Timofeeva E, Leshchenko OYa, et al. Lipid peroxidation parameters and antioxidant defense in women with HIV-mono and HIV-coinfection. *FEBS Journal*. 2016; 283(S1): 383-384.
4. Mebrat Y, Amogne W, Mekasha A, Gleason RL, Seifu D. Lipid peroxidation and altered antioxidant profiles with pediatric HIV infection and antiretroviral therapy in Addis Ababa, Ethiopia. *J Trop Pediatr*. 2017; 63(3): 196-202. doi: 10.1093/tropej/fmw076
5. Гривенникова В.Г., Виноградов А.Д. Генерация активных форм кислорода митохондриями. *Успехи биологической химии*. 2013; 53: 245-296.
6. Розенфельд М.А., Леонова В.Б., Щеголихин А.Н., Разумовский С.Д., Константинова М.Л., Бычкова А.В. и др. Окислительная модификация фрагментов D и E фибриногена под действием озона. *Биохимия*. 2010; 75(10): 1451-1461.
7. Novo E, Busletta C, Valfre di Bonzo L, Povero D, Paternostro C, Mareschi K, et al. Intracellular reactive oxygen species are required for directional migration of resident and bone marrow-derived hepatic pro-fibrogenic cells. *J Hepatol*. 2011; 54: 964-974. doi: 10.1016/j.jhep.2010.09.0.022
8. Jiang Z, Hu Z, Zeng L, Lu W, Zhang H, Li T, et al. The role of the Golgi apparatus in oxidative stress: Is this organelle less significant than mitochondria? *Free Radic Biol Med*. 2011; 50: 907-917. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.01.011
9. Kowaltowski AJ, de Souza-Pinto NC, Castilho RF, Vercesi AE. Mitochondria and reactive oxygen species. *Free Radic Biol Med*. 2009; 47: 333-343. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.004

10. Андреев А.Ю., Кушнарева Ю.Е., Мерфи Э.Н., Старков А.А. Митохондриальный метаболизм активных форм кислорода: десять лет спустя (обзор). *Биохимия*. 2015; 80(5): 612-630.
11. Niki E. Lipid peroxidation: Physiological levels and dual biological effects. *Free Radic Biol Med*. 2009; 47: 469-484. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.0032
12. Лабас Ю.А., Гордеева А.В., Дерябина Ю.И., Дерябин А.Н., Исакова Е.П. Регуляторная роль активных форм кислорода: от бактерий до человека. *Успехи современной биологии*. 2010; 130(4): 323-335.
13. Circu ML, Aw TY. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free Radic Biol Med*. 2010; 48(6): 749-762. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.12.022
14. Rains JL, Jain SK. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radic Biol Med*. 2011; 50: 567-575. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.006
15. Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Vica J. Moderate exercise is an antioxidant: Upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Med Biol*. 2008; 44: 126-131. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.02.001
16. Miki H, Funato YJ. Regulation of intracellular signaling through cysteine oxidation by reactive oxygen species. *Biochem*. 2012; 151: 255-261. doi: 10.1093/jb/mvs006
17. Северин Е.С. *Биохимия: учебник*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2003.
18. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Колесников С.И. Свободнорадикальное окисление: взгляд патофизиолога. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16(4): 16-29. doi: 10.20538/1682-0363-2017-4-16-29
19. Оковитый С.В. Клиническая фармакология антиоксидантов. *Фарминдекс: Практик*. 2003; (5): 85-111.
20. Волькенштейн М.В. *Биофизика*. М.: Высшая школа; 2010.
21. Dumont M, Beal MF. Neuroprotective strategies involving ROS in Alzheimer disease. *Free Radic Biol Med*. 2011; 51: 1014-1026. doi: 10.1016/j.freeradbiomed. 2010.11.026
22. Agarwal A, Aponte-Mellado A, Premkumar BJ, Shaman A, Gupta S. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reprod Biol Endocrinol*. 2012; 10: 49. doi: 10.1186/1477-7827-10-49
23. Семёнова Н.В. Окислительный стресс и менопауза (Обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2014; (2): 120-125.
24. Покровская А.В., Юмагузин В.В., Киреев Д.Е., Винник М.В., Покровский В.В. Влияние миграционных процессов на ситуацию по ВИЧ-инфекции (аналитический обзор). *Вестник РАМН*. 2019; 74(2): 88-97. doi: 10.15690/vramn1106
25. *Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИДом. Справки по ВИЧ-инфекции в России*. URL: <http://www.hivrussia.info/dannye-po-vich-infektsii-v-rossii/>
26. Покровский В.В., Ладная Н.Н., Покровская А.В. ВИЧ/СПИД сокращает число россиян и продолжительность их жизни. *Демографическое обозрение*. 2017; 4(1): 65-82.
27. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Долгих В.В., Шенин В.А., Дутова С.В., Гребенкина Л.А. и др. Про- и антиоксидантный статус у подростков-тофов и европеоидов. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2010; 12(1-7): 1687-1691.
28. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Рашидова М.А., Шолохов Л.Ф., Гребенкина Л.А., Лещенко О.Я. и др. Оценка показателей оксидативного стресса у женщин с ВИЧ моно- и коинфекцией. *Инфекционные болезни*. 2016; 14(51): 138.
29. Andany N, Loutfy MR. HIV protease inhibitors in pregnancy: pharmacology and clinical use. *Drugs*. 2013; 73(3): 229-247. doi: 10.1007 / s40265-013-0017-3
30. Канестри В.Г., Кравченко А.В., Кушакова Т.Е., Чукаева И.И. Метаболические нарушения у больных ВИЧ-инфекцией, получающих антиретровирусную терапию. *Инфекционные болезни*. 2014; 12(4): 5-10.
31. Williams AA, Sitole LJ, Meyer D. HIV/HAART-associated oxidative stress is detectable by metabonomics. *Mol Biosyst*. 2017; 24; 13(11): 2202-2217. doi: 10.1039/c7mb00336f
32. Amjad SV, Davoodi P, Goodarzi MT, Abdolsamadi H, Poorolajal J, Parsa S, et al. Salivary antioxidant and oxidative stress marker levels in HIV-positive individuals. *Comb Chem High Throughput Screen*. 2019; 22(1): 59-64. doi: 10.2174/1386207322666190306144629
33. Sitole LJ, Tugizimana F, Meyer D. Multi-platform metabonomics unravel amino acids as markers of HIV/combo antiretroviral therapy-induced oxidative stress. *J Pharm Biomed Anal*. 2019; 176: 112796. doi: 10.1016/j.jpba.2019.112796
34. Костюшов В.В., Бокал И.И., Петров С.А. Изучение активности ферментов антиоксидантной системы крови при ВИЧ-инфекции. *Биомедицинская химия*. 2010; 56(5): 596-601. doi: 10.18097/pbmc20105605596
35. Беленичев И.Ф., Ясинский Р.Н., Литвиненко Е.С. Изменения маркеров окислительного статуса у больных с впервые диагностированным ВИЧ/СПИД-ассоциированным туберкулезом легких в процессе лечения. *Вестник новых медицинских технологий*. 2014; 21(3): 135-138.
36. Генич Е.В., Лещенко О.Я., Даренская М.А., Шолохов Л.Ф. Состояние нейроэндокринной регуляции и овариального резерва у ВИЧ-инфицированных женщин с репродуктивными нарушениями. *Acta biomedica scientifica*. 2018; 3(3): 116-120. doi: 10.29413/ABS.2018-3.3.18
37. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Колесников С.И., Гребенкина Л.А., Рашидова М.А., Тимофеева Е.В. и др. Оценка липопероксидных процессов у пациенток с хроническими парентеральными вирусными гепатитами и коинфекцией ВИЧ в зависимости от степени активности воспалительного процесса в печени. *Терапевтический архив*. 2018; 90(11): 37-43. doi: 10.26442/terarkh201890114
38. Колесникова Л.И., Рашидова М.А., Даренская М.А., Шолохов Л.Ф., Гребенкина Л.А., Тимофеева Е.В. и др. Активность реакций перекиса липидов у женщин с ВИЧ-инфекцией. *Журнал инфектологии*. 2016; 8(52): 56-57.
39. Колесникова Л.И., Колесников С.И., Даренская М.А., Гребенкина Л.А., Тимофеева Е.В., Лещенко О.Я. и др. Оценка про- и антиоксидантного статуса у женщин с ВИЧ и коинфекцией. *Терапевтический архив*. 2016; 88(11): 17-21. doi: 10.17116/terarkh2016881117-21
40. Awodele O, Olayemi SO, Nwite JA, Adeyemo TA. Investigation of the levels of oxidative stress parameters in HIV and HIV-TB co-infected patients. *J Infect Dev Ctries*. 2012; 6(1): 79-85. doi: 10.3855/jidc.1906
41. Hernández S, Catalán-García M, Morén C, García-Otero L, López M, Guitart-Mampel M, et al. Placental mitochondrial toxicity, oxidative stress, apoptosis, and adverse perinatal outcomes in HIV pregnancies under antiretroviral treatment containing zidovudine. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2017; 75(4): e113-e119. doi: 10.1097/QAI.0000000000001334
42. Сабанчиева Ж.Х. Общая антиокислительная активность у больных ВИЧ-инфекцией. *Успехи современного естествознания*. 2007; (7): 62-63.
43. Нагоев Б.С., Сабанчиева Ж.Х. Состояние системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у больных ВИЧ-инфекцией. *Терапевтический архив*. 2007; 79(12): 70-73.
44. Нагоев Б.С., Сабанчиева Ж.Х. Система антиоксидантной защиты у больных ВИЧ-инфекцией. *Инфекционные болезни*. 2007; 5(1): 33-35.
45. Darenkaya MA, Genich EV, Grebenkina LA, Leshenko OYa, Kolesnikova LI, Kolesnikov SI. Lipid peroxidation status in women with HIV-infection and reproductive disorders. *Free Radic Biol Med*. 2019; 139(S1): S43. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.05.021
46. Сабанчиева Ж.Х. *Клинико-прогностическое значение оценки функционально-метаболической активности лейкоцитов, средне-молекулярных пептидов, системы про-антиоксидантной защиты крови у больных ВИЧ-инфекцией: дис. ... докт. мед. наук*. М.: Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии Минздрава Российской Федерации; 2008.

47. Нароев Б.С., Сабанчиева Ж.Х. Перекисное окисление липидов и состояние антиоксидантной активности при ВИЧ-инфекции на фоне вирусного гепатита В и С. *Доклады Адыгской (Черкесской) международной академии наук*. 2005; 8(1): 118-122.

48. Шатырко М.А., Решетников И.В., Голодный С.В., Мингазов А.Х., Козочкин Д.А., Изаровский Б.В. и др. Особенности изменений иммунограммы и показателей свободнорадикального окисления плазмы крови у ВИЧ-инфицированных героинового наркоманов. *Казанский медицинский журнал*. 2015; 96(5): 772-775. doi: 10.17750/KMJ2015-772

49. Popoola TD, Awodele O. Interplay between antiretroviral therapy and oxidative stress in HIV seropositive patients. *Afr J Med Med Sci*. 2016; 45(1): 5-21.

50. Ceccherini-Silberstein F, Cozzi LA, Alteri C, Merlini E, Surdo M, Marchetti G, et al. Pre-ART HIV-1 DNA in CD4+ T cells correlates with baseline viro-immunological status and outcome in patients under first-line ART. *J Antimicrob Chemother*. 2018; 73(12): 3460-3470. doi: 10.1093/jac/dky350

51. Agosto LM, Henderson AJ. CD4(+) T cell subsets and pathways to HIV latency. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2018; 34(9): 780-789. doi: 10.1089/AID.2018.0105

52. Yuki SA, Kaiser P, Kim P, Telwate S, Joshi SK, Vu M, et al. HIV latency in isolated patient CD4(+) T cells may be due to blocks in HIV transcriptional elongation, completion, and splicing. *Sci Transl Med*. 2018; 10(430): eaap9927. doi: 10.1126/scitranslmed.aap9927

REFERENCES

1. Zenkov NK, Kozhin PM, Chechushkov AV, Kandalintseva NV, Martinovich GG, Menshchikova EB. Oxidative stress in aging. *Uspekhi gerontologii*. 2020; 33(1): 10-22. doi: 10.34922/AE.2020.33.1.001. (In Russ.)

2. Kostyushov VV, Bokal II. The role of the thiol disulfide system in the mechanism of oxidative stress and distress in HIV infection. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2010; 56(2): 290-298. (In Russ.)

3. Kolesnikova LI, Kolesnikov SI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Timofeeva E, Leshchenko OYa, et al. Lipid peroxidation parameters and antioxidant defense in women with HIV-mono and HIV-coinfection. *FEBS Journal*. 2016; 283(S1): 383-384.

4. Mebrat Y, Amogne W, Mekasha A, Gleason RL, Seifu D. Lipid peroxidation and altered antioxidant profiles with pediatric HIV infection and antiretroviral therapy in Addis Ababa, Ethiopia. *J Trop Pediatr*. 2017; 63(3): 196-202. doi: 10.1093/tropej/fmw076

5. Grivennikova VG, Vinogradov AD. Mitochondrial production of reactive oxygen species. *Biochemistry (Moscow)*. 2013; 78(13): 1490-1511. doi: 10.1134/S0006297913130087

6. Rosenfeld MA, Leonova VB, Shchegolikhin AN, Razumovskii SD, Konstantinova ML, Bychkova AV, et al. Oxidized modification of fragments D and E from fibrinogen induced by ozone. *Biochemistry (Moscow)*. 2010; 75(10): 1285-1293. doi: 10.1134/S0006297910100111

7. Novo E, Busletta C, Valfre di Bonzo L, Povero D, Paternostro C, Mareschi K, et al. Intracellular reactive oxygen species are required for directional migration of resident and bone marrow-derived hepatic pro-fibrogenic cells. *J Hepatol*. 2011; 54: 964-974. doi: 10.1016/j.jhep.2010.09.022

8. Jiang Z, Hu Z, Zeng L, Lu W, Zhang H, Li T, et al. The role of the Golgi apparatus in oxidative stress: Is this organelle less significant than mitochondria? *Free Radic Biol Med*. 2011; 50: 907-917. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.01.011

9. Kowaltowski AJ, de Souza-Pinto NC, Castilho RF, Vercesi AE. Mitochondria and reactive oxygen species. *Free Radic Biol Med*. 2009; 47: 333-343. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.004

10. Andreyev AY, Murphy AN, Kushnareva YE, Starkov AA. Mitochondrial ROS metabolism: 10 years later (review). *Biochemistry (Moscow)*. 2015; 80(5): 517-531. doi: 10.1134/S0006297915050028

11. Niki E. Lipid peroxidation: Physiological levels and dual biological effects. *Free Radic Biol Med*. 2009; 47: 469-484. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.032

12. Labas YuA, Gordeeva AV, Derjabina Yul, Derjabina AN, Isakova EP. The regulatory role of reactive oxygen species secretion:

From bacteria to man. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2010; 130(4): 323-335. (In Russ.)

13. Circu ML, Aw TY. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free Radic Biol Med*. 2010; 48(6): 749-762. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.12.022

14. Rains JL, Jain SK. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radic Biol Med*. 2011; 50: 567-575. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.006

15. Gomez-Cabrera MC, Domenech E, Vica J. Moderate exercise is an antioxidant: Upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic Med Biol*. 2008; 44: 126-131. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.02.001

16. Miki H, Funato YJ. Regulation of intracellular signaling through cysteine oxidation by reactive oxygen species. *Biochem*. 2012; 151: 255-261. doi: 10.1093/jb/mvs006

17. Severin ES. *Biochemistry*. Moscow: GEOTAR-Media; 2003. (In Russ.)

18. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Kolesnikov SI. Free radical oxidation: A pathophysiological view. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16(4): 16-29. doi: 10.20538/1682-0363-2017-4-16-29. (In Russ.)

19. Okovityi SV. Clinical pharmacology of antioxidants. *Farmindels: Praktiki*. 2003; (5): 85-111. (In Russ.)

20. Volkenshtein MV. *Biophysics*. Moscow: Vysshaya shkola; 2010. (In Russ.)

21. Dumont M, Beal MF. Neuroprotective strategies involving ROS in Alzheimer disease. *Free Radic Biol Med*. 2011; 51: 1014-1026. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.11.026

22. Agarwal A, Aponte-Mellado A, Premkumar BJ, Shaman A, Gupta S. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reprod Biol Endocrinol*. 2012; 10: 49. doi: 10.1186/1477-7827-10-49

23. Semenova NV. Oxidative stress and menopause (review of literature). *Acta biomedica scientifica*. 2014; (2): 120-125. (In Russ.)

24. Pokrovskaya AV, Yumaguzin VV, Kireev DE, Vinnik MV, Pokrovskij VV. The impact of migration on HIV infection situation (analytical review). *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2019; 74(2): 88-97. doi: 10.15690/vramn1106. (In Russ.)

25. Federal Scientific and Methodological Center for the Prevention and Control of AIDS. *Information on HIV infection in Russia*. URL: <http://www.hivruussia.info/dannye-po-vich-infektsii-v-rossii/> (In Russ.)

26. Pokrovsky VV, Ladnaia NN, Pokrovskaya AV. HIV/AIDS reduces the number of Russians and their life expectancy. *Demograficheskoe obozrenie*. 2017; 4(1): 65-82. (In Russ.)

27. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Dolgikh VV, Shenin VA, Dutova SV, Grebenkina LA, et al. Pro- and antioxidant status at teenagers – Tofs and Europoid. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk*. 2010; 12(1-7): 1687-1691. (In Russ.)

28. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Rashidova MA, Sholohov LF, Grebenkina LA, Leshchenko OYa, et al. Assessment of indicators of oxidative stress in women with HIV mono- and coinfection. *Infektsionnye bolezni*. 2016; 14(S1): 138. (In Russ.)

29. Andany N, Loutfy MR. HIV protease inhibitors in pregnancy: pharmacology and clinical use. *Drugs*. 2013; 73(3): 229-247. doi: 10.1007/s40265-013-0017-3

30. Kanestri VG, Kravchenko AV, Kushakova TE, Chukaeva II. Metabolic disorders in HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy. *Infektsionnye bolezni*. 2014; 12(4): 5-10. (In Russ.)

31. Williams AA, Sitole LJ, Meyer D. HIV/HAART-associated oxidative stress is detectable by metabolomics. *Mol Biosyst*. 2017; 24; 13(11): 2202-2217. doi: 10.1039/c7mb00336f

32. Amjad SV, Davoodi P, Goodarzi MT, Abdolsamadi H, Poorolajal J, Parsa S, et al. Salivary antioxidant and oxidative stress marker levels in HIV-positive individuals. *Comb Chem High Throughput Screen*. 2019; 22(1): 59-64. doi: 10.2174/138620732266190306144629

33. Sitole LJ, Tugizimana F, Meyer D. Multi-platform metabolomics unravel amino acids as markers of HIV/combo

antiretroviral therapy-induced oxidative stress. *J Pharm Biomed Anal.* 2019; 176: 112796. doi: 10.1016/j.jpba.2019.112796

34. Kostyushov VV, Bokal II, Petrov SA. Study of activity of enzymes of antioxidant system of blood at HIV infection. *Biomeditsinskaya khimiya.* 2010; 56(5): 596-601. doi: 10.18097/pbmc20105605596 (In Russ.)

35. Belenichev IF, Yasinskiy RN, Lytvynenko ES. The changes of oxidative status markers in patients with newly diagnosed HIV/AIDS-associated lung's tuberculosis after the course of treatment. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii.* 2014; 21(3): 135-138. (In Russ.)

36. Genich EV, Leshenko OYa, Darenskaya MA, Sholokhov LF. Neuroendocrine regulation and ovarian reserve in HIV-infected women with reproductive disorders. *Acta biomedica scientifica.* 2018; 3(3): 116-120. doi: 10.29413/ABS.2018-3.3.18 (In Russ.)

37. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Kolesnikov SI, Grebenkina LA, Rashidova MA, Timofeeva EV, et al. Evaluation of lipid peroxidation processes in patients with chronic parenteral viral hepatitis and HIV co-infection depending on degree of inflammatory process activity in the liver. *Terapevticheskii arkhiv.* 2018; 90(11): 37-43. doi: 10.26442/terarkh201890114 (In Russ.)

38. Kolesnikova LI, Rashidova MA, Darenskaya MA, Sholokhov LF, Grebenkina LA, Timofeeva EV, et al. Activity of lipid peroxidation reactions in women with HIV infection. *Zhurnal infektologii.* 2016; 8(S2): 56-57. (In Russ.)

39. Kolesnikova LI, Kolesnikov SI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Timofeeva EV, Leshenko OYa, et al. Evaluation of the pro- and antioxidant status of women with HIV or coinfection. *Terapevticheskii arkhiv.* 2016; 88(11): 17-21. doi: 10.17116/terarkh2016881117-21 (In Russ.)

40. Awodele O, Olayemi SO, Nwite JA, Adeyemo TA. Investigation of the levels of oxidative stress parameters in HIV and HIV-TB co-infected patients. *J Infect Dev Ctries.* 2012; 6(1): 79-85. doi: 10.3855/jidc.1906

41. Hernández S, Catalán-García M, Morén C, García-Otero L, López M, Guitart-Mampel M, et al. Placental mitochondrial toxicity, oxidative stress, apoptosis, and adverse perinatal outcomes in HIV pregnancies under antiretroviral treatment containing zidovudine. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2017; 75(4): e113-e119. doi: 10.1097/QAI.0000000000001334

42. Sabanchieva ZhKh. General antioxidant activity in patients with HIV infection. *Advances in current natural sciences.* 2007; (7): 62-63. (In Russ.)

43. Nagoev BS, Sabanchieva ZhKh. Lipid peroxidation and antioxidant systems in patients with HIV infection. *Terapevticheskii arkhiv.* 2007; 79(12): 70-73. (In Russ.)

44. Nagoev BS, Sabanchieva ZhKh. Lipid peroxidation and the state of antioxidant defense systems in patients with HIV-infection. *Infektsionnye bolezni.* 2007; 5(1): 33-35. (In Russ.)

45. Darenskaya MA, Genich EV, Grebenkina LA, Leshenko OYa, Kolesnikova LI, Kolesnikov SI. Lipid peroxidation status in women with HIV-infection and reproductive disorders. *Free Radical Biology and Medicine.* 2019; 139(S1): S43. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.05.021

46. Sabanchieva ZhKh. *Clinical and prognostic value of assessing the functional and metabolic activity of leukocytes, average molecular peptides, the pro-antioxidant blood defense system in patients with HIV infection.* Dissertation. Moscow: Central Research Institute of Epidemiology of the Ministry of Health of the Russian Federation; 2008. (In Russ.)

47. Nagoev BS, Sabanchieva ZhKh. Lipid peroxidation and the state of antioxidant activity in HIV infection against the background of viral hepatitis B and C. *Doklady Adygskoj (Cherkesskoj) mezhdunarodnoj akademii nauk.* 2005; 8(1): 118-122. (In Russ.)

48. Shatirko MA, Reshetniy IV, Golodnii SV, Mingazov ACh, Kozochkin DA, Izarovskiy BV, Tseilikman VE, et al. Features of changes in the immunogram and indicators of free radical oxidation of blood plasma in HIV-infected heroin addicts. *Kazanskij medicinskij zhurnal.* 2015; 96(5): 772-775. doi: 10.17750/KMJ2015-772 (In Russ.)

49. Popoola TD, Awodele O. Interplay between antiretroviral therapy and oxidative stress in HIV seropositive patients. *Afr J Med Med Sci.* 2016; 45(1): 5-21.

50. Ceccherini-Silberstein F, Cozzi LA, Alteri C, Merlini E, Surdo M, Marchetti G, et al. Pre-ART HIV-1 DNA in CD4+ T cells correlates with baseline viro-immunological status and outcome in patients under first-line ART. *J Antimicrob Chemother.* 2018; 73(12): 3460-3470. doi: 10.1093/jac/dky350

51. Agosto LM, Henderson AJ. CD4(+) T cell subsets and pathways to HIV latency. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2018; 34(9): 780-789. doi: 10.1089/AID.2018.0105

52. Yukl SA, Kaiser P, Kim P, Telwate S, Joshi SK, Vu M, et al. HIV latency in isolated patient CD4(+) T cells may be due to blocks in HIV transcriptional elongation, completion, and splicing. *Sci Transl Med.* 2018; 10(430): eaap9927. doi: 10.1126/scitranslmed.aap9927

Сведения об авторе

Никитина Ольга Андреевна – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: olga_tolpygina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1926-9694>

Information about the author

Olga A. Nikitina – Cand. Sc. (Biol.), Junior Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: olga_tolpygina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1926-9694>

Статья получена: 10.06.2020. Статья принята: 03.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 10.06.2020. Accepted: 03.11.2020. Published: 26.12.2020.

Система глутатиона при нарушениях сна (обзор литературы)*

Бричагина А.С., Семёнова Н.В., Мадаева И.М.

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

Автор, ответственный за переписку: Бричагина Анастасия Сергеевна, e-mail: tasi121212@mail.ru

Резюме

В данном обзоре рассматривается изменчивость показателей глутатионовой системы при различных патологиях сна. Современная теория сна предполагает его восстановительную функцию, в частности, наряду с глутатионовой системой, активную утилизацию потенциальных окислителей и защиту от чрезмерного окисления. В данном обзоре проведён анализ отечественной и зарубежной литературы и обобщены данные, затрагивающие аспекты функционирования глутатионовой системы при сомнологических нарушениях. При инсомнических расстройствах разными авторами установлен системный окислительный стресс за счёт снижения активности глутатионпероксидазы. Также окислительный стресс при инсомнии наблюдается в отдельных областях мозга вследствие снижения в них уровня глутатиона. Всё большую значимость приобретают исследования функционирования генов глутатионовой системы при инсомнии, полиморфизмы которых могут включать сдерживающие окисление аллели. При синдроме обструктивного апноэ сна (СОАС) наблюдается альтернативная картина изменений. На показатели глутатионовой системы оказывает влияние степень СОАС, где при лёгкой и средней тяжести патологии увеличение значений глутатионовой системы отражает адаптивный характер ответа. Также развитие окислительного стресса при СОАС, приводящее к нарушениям в работе глутатионовой системы, носит циклический характер. В результате у пациентов с СОАС не происходит достаточного восполнения компонентов системы глутатиона во время сна. Сложившаяся модификация не позволяет полноценно реагировать на усиление перекисных процессов и сдерживать активацию чрезмерного окисления.

Ключевые слова: глутатионовая система, окислительный стресс, инсомния, синдром обструктивного апноэ сна (СОАС)

Для цитирования: Бричагина А.С., Семёнова Н.В., Мадаева И.М. Система глутатиона при нарушениях сна (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 133-143. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.15.

Glutathione System in Sleep Disorders (Literature Review)

Brichagina A.S., Semenova N.V., Madaeva I.M.

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

Corresponding author: Anastasiya S. Brichagina, e-mail: tasi121212@mail.ru

Abstract

This review examines the variability of the glutathione system in sleep pathologies. Modern sleep theory assumes a restorative sleep function, including active utilization of oxidants and protection from excessive oxidation. In this review article, we conducted an analysis of domestic and foreign literature and summarized data relating aspects of the functioning of the glutathione system in somnological disorders. Various authors have established systemic oxidative stress in insomnia due to reduced activity of glutathione peroxidase. Also, oxidative stress in insomnia is observed in certain areas of the brain due to a decrease in glutathione levels in them. Studies of the functioning of the glutathione system genes in insomnia, whose polymorphisms may include alleles that inhibit oxidation, are arousing interest. An alternative pattern of changes is observed in obstructive sleep apnea syndrome. The apnea stage affects the indicators of the glutathione system. The values of the glutathione system indicators increase with mild to moderate apnea. This is an adaptive response mechanism. Also, the development of oxidative stress in apnea, which leads to disorders in the glutathione system, is cyclical. As a result, people with apnea do not have sufficient replenishment of the components of the glutathione system during sleep. The existing modification does not allow to fully respond to the intensification of peroxide processes and to restrain the activation of excessive oxidation.

Key words: glutathione system, oxidative stress, insomnia, obstructive sleep apnea syndrome (OSAS)

For citation: Brichagina A.S., Semenova N.V., Madaeva I.M. Glutathione System in Sleep Disorders (Literature Review). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 133-143. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.15.

ОБЩИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РАБОТЕ ГЛУТАТИОНОВОЙ СИСТЕМЫ

Каждый живой организм представляет собой относительно устойчивую динамическую систему. Динамический аспект живой системы заключается в непрерывно протекающих реакциях в организме,

направленных как на синтез, так и на деструкцию органических веществ. Если реакции синтеза многообразны, то реакции распада, в основном, сводятся к реакциям окисления. В нормальных условиях организм способен сохранять равновесие между этими реакциями, однако неблагоприятные условия создают риск усиления

* Статья опубликована по материалам доклада на IV Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 16 октября 2020 года).

окисления, который образует этиологический фактор патогенеза большинства заболеваний [1].

Для поддержания физиологического уровня окисления существует система антиоксидантной защиты (АОЗ), способствующая ингибированию потенциальных окислителей. Среди звеньев АОЗ одну из ключевых ролей присваивают глутатионовой системе, включающей в себя как сам глутатион, так и глутатион-зависимые ферменты: глутатионредуктазу (GR), глутатионпероксидазу (GP) и глутатион-S-трансферазу (GST). Трипептид глутатион в клетке может находиться в двух формах: восстановленной (GSH) и окисленной (GSSG). Часто, взаимоконвертируемые формы оценивают по отношению друг к другу для определения редокс-потенциала клетки. Физиологической нормой GSH/GSSG считается соотношение 100:1 [2]. Высокое значение соотношения GSH/GSSG может служить показателем неспецифической резистентности организма или интегральным показателем адаптивных возможностей индивида [3, 4]. Превалирование GSH обусловлено разнообразием его функций, реализация которых зависит непосредственно от локализации глутатиона в клетке. Несмотря на его различное местоположение, синтез трипептида происходит исключительно в цитоплазме. Часть глутатиона из цитоплазмы в дальнейшем переносится в митохондрии и другие органоиды клетки.

При участии глутатиона в организме реализуются защитные механизмы различных субстратов. Например, под воздействием факторов окружающей среды в организме активируются метаболические процессы, вследствие чего, количество агрессивных молекул с неспаренными электронами (потенциальных окислителей) увеличивается, как и образование GSSG. В этом случае GSSG вступает в реакцию с группами цистеина белка:



Образованная в результате s-глутатионилирования дисульфидная связь (белок-SSG), являясь обратимой, защищает белки от воздействия свободных радикалов. Соответственно, количество свободных SH-групп снижается. Такой механизм формируется при развитии окислительного стресса [5]. Помимо защиты белковых молекул, данный механизм снижает активность ферментных комплексов, тем самым сокращая количество активных форм кислорода (АФК) [6]. В другом случае, избыточное образование окислителей приводит к истощению АОЗ, в том числе запасов компонентов системы глутатиона, вследствие чего белки активно подвергаются окислению, образуя вторичные агрессивные продукты реакции. Череда таких реакций порождает окислительную модификацию белков [7].

Ещё одной непрямой функцией защиты белков является включение глутатиона в глиоксалазную систему. С помощью GSH осуществляется утилизация конечных продуктов гликолиза – метилглиоксала, глиоксала, при накоплении которых белки и нуклеиновые кислоты подвергаются гликированию [8]. В экспериментах на мышах показано, что при онкологической патологии в клетках накапливается не только лактоилглутатион – продукт реакции GSH с метилглиоксалем, но и сам GSH, хотя содержание GSSG не увеличивается, по сравнению со здоровыми клетками [9].

Существует предположение, что высокая концентрация GSH в крови коррелирует с длительным сроком

жизни, как у животных, так и у людей [10]. Известно, что с увеличением возраста уровень GSH снижается, а соотношение GSH/GSSG сдвигается в более окисленную сторону у клеток с большим сроком жизни [11]. В связи с этим отмечают различные физиологические нормы концентрации глутатиона в разных возрастных группах [12].

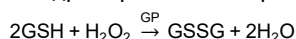
Различия в показателях глутатионовой системы были выявлены в разных популяциях мира. Американская группа исследователей в своей работе сравнивала концентрацию селена и глутатиона у людей европеоидной и негроидной рас до и после употребления добавки селена в течение 9 месяцев. Изначальные измерения выявили значительно более высокую концентрацию селена в крови у европеоидов. Через 9 месяцев, повторное измерение результатов показало увеличение концентрации селена в плазме европеоидов на 114 %, а у негроидов – на 50 %. К тому же, у европеоидов уровень глутатиона увеличился на 35 %. У негроидов концентрация глутатиона не изменилась [13]. Более низкие показатели GSH на фоне повышенного GSSG отмечают у представительниц монголоидной расы (бурятская этническая группа) в репродуктивном периоде, перименопаузе и постменопаузе по сравнению с женщинами европеоидной расы (русская этническая группа) [14]. При обследовании подростков тофов и европеоидов установлено, что у девушек-тофов относительно сверстниц-европеоидов увеличено содержание GSSG при снижении концентраций GSH. У юношей-тофов в сравнении с ровесниками европеоидами значительно ниже уровень GSH [15]. Данные результаты предполагают расовое различие генотипов, которые, вероятно, затрагивают элементы адаптационных механизмов [16].

Помимо этнической специфичности, различие в показателях глутатионовой системы отмечено у лиц разного пола [17–20]. Интересные данные получены при исследовании гендерного аспекта функционирования системы АОЗ у юношей и девушек коренного (эвенки) и пришлого населения севера Иркутской области и областного центра (европеоиды). Результаты данного исследования демонстрируют более высокий индекс GSH/GSSG у девушек-эвенков; более низкие концентрации GSH, индекса GSH/GSSG и высокий уровень GSSG у девушек пришлого населения относительно юношей соответствующих групп. Среди коренного населения значимых различий обнаружено не было [18]. Следует отметить, что с возрастом концентрация GSH в плазме у женщин снижается, а у мужчин, наоборот, увеличивается [19]. Истощение запасов глутатиона у женщин при переходе в эстрогендефицитное состояние является одной из причин нарастания коэффициента окислительного стресса. Однако есть работы, результаты которых свидетельствуют о более высоком уровне GSSG у мужчин в андропаузе по сравнению с женщинами менопаузального возраста, хотя коэффициент окислительного стресса у мужчин не свидетельствует о развитии у них дисбаланса между про- и антиоксидантами [20].

Антиоксидантная защита невозможна в полной мере без антиперекисных ферментов. Ферментативная защита клетки включает несколько последовательных стадий обезвреживания активных форм кислорода. Ферменты системы глутатиона участвуют в большинстве из них. Адаптивная активация системы глутатиона, связанная с повышением активности ферментов, происходит в от-

вет на снижение уровня GSH и интенсификацию свободнорадикальных процессов [21].

Глутатионпероксидазы (GP) – группа ферментов-катализаторов, главным свойством которых является восстановление гидроперекисей, с образованием воды:



Активность GP имеет прямую зависимость от концентрации GSH в клетке. Снижение концентрации восстановленного глутатиона лишает GP ряда восстановительных реакций, в которых ей отведена ведущая роль. В результате активность фермента падает [22]. Активность GP изучалась в онтогенезе у крыс. После отлучения крысят от груди активность фермента резко возрастает и достигает уровня взрослых особей. Во взрослом периоде активность фермента относительно стабильна. И только в глубокой старости активность фермента снижается, что авторы рассматривают как показатель физиологического старения [23]. В организме человека группа глутатионпероксидаз имеет 8 форм. Из них три (GP5, -7, -8) имеют остаток цистеина в активном центре, остальные пять (GP1, -2, -3, -4, -6) – остаток селеноцистеина. Последние формы называют селензависимыми, они представляют наибольший научный интерес. Морфологическое разнообразие форм обусловлено их различной специфичностью, функциями и локализацией [24]. Глутатионпероксидазу исследовали у людей разных национальностей. Из них активность фермента была ниже у людей восточной популяции, чем у европейцев. Кроме корреляций энзимов с национальностями, авторы полагают возможную зависимость концентрации фермента от состава и заболеваний крови. В этом случае, если активность фермента прописывается генетическим кодом, который, как известно, у различных этнических групп имеет специфичный набор, то его концентрация может изменяться вне зависимости от расовой принадлежности. А так как негенетические факторы, негативно влияющие на здоровье человека, обширны, концентрация GP условно не является стабильным показателем [25].

Глутатион-S-трансфераза (GST) – фермент, участвующий в реакциях детоксикации различных соединений, в том числе и в реакциях конъюгации с ксенобиотиками. В роли антиперекисного фермента GST преобразует гидроперекиси в спирты, используя в качестве косубстрата глутатион:

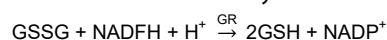


GST может находиться в клетке в составе комплексов. В частности, в стандартных физиологических условиях в клетках присутствует достаточное количество комплексов GST с TRAF2 (фактором 2, связанным с рецептором TNF-α). TRAF2, взаимодействуя с GST, выступает в качестве инактиватора активности GST. Комплекс GST с TRAF2 блокирует активность фосфотрансфераз. GST, свободный от связи с TRAF2, вступает в реакцию с фосфотрансферазами, участвуя в процессах сигналинга клетки, в том числе и сигналинга апоптоза, или с GSH, принимая участие в реакциях антиоксидантной защиты. Некоторые авторы склоняются к выводу о непосредственном участии комплекса GST с TRAF2 в регуляции клеточного цикла. Было установлено, что количество белок-белкового комплекса GST с TRAF2 снижается в клеточных фазах S, G2 и M [26]. Распад комплексов GST с TRAF2 происходит при пер-

вичном развитии окислительного стресса, в этом случае активируется пролиферация клеток. При увеличении интенсивности и продолжительности окислительного стресса происходит увеличение распада GST с TRAF2 и развивается программа апоптоза [3].

Помимо вышеперечисленных свойств GST, к ним относят контроль энергетического баланса клетки, биосинтез эйкозаноидов, гормонов и деградацию некоторых аминокислот [27].

Глутатионредуктаза (GR) является монофункциональным ферментом. Её предназначение заключается в восстановлении окисленного глутатиона:



Однако анализ многочисленных исследований предполагает участие GR в других малоизученных реакциях. Считают, что GR может выступать в качестве катализатора в других реакциях восстановления соединений с дисульфидной связью. А также незначительно проявлять трансгидрогеназную, электронтрансферазную и диафоразную активность [28].

Активность антиперекисных ферментов вносит существенный вклад в эффективность антиоксидантной защиты, при этом активность ферментов глутатионовой системы обусловлена высокой индивидуальной вариабельностью (полиморфизмом) генов, а также их экспрессией [29]. С одной стороны, это подтверждается в эксперименте на крысах, где у них показан более высокий индекс экспрессии GST в ответ на индукторы, по сравнению с другими млекопитающими (мышь, человек) [30]. С другой стороны, влияние полиморфизма генов на активность ферментов системы глутатиона было показано у азиатских женщин. Среди них функциональный GSTM1 и нефункциональный GSTT1 генотипы были связаны с более низкой антиоксидантной активностью, GP, GR и GST [31].

НАРУШЕНИЕ СНА В ПОПУЛЯЦИИ

Основой функционирования и общим свойством всех живых организмов является их способность к адаптации, в процессах которой важную роль играет сон [32]. Сон, как адаптивное состояние, определяется процессами адаптации на молекулярном уровне. Приспособительные реакции клеток сводятся к поддержанию редокс-гомеостаза, не позволяя прооксидантным молекулам количественно преобладать над своими антагонистами [33]. Постоянство параметров динамики молекулярных процессов способствует состоянию физиологической стабильности и содействует сопротивлению негативным факторам среды. Сдвиг редокс-потенциала приводит к активации адаптационных механизмов, а при значительном дисбалансе к развитию патогенетических состояний. Следовательно, сохранение нормального сна является основной составляющей здоровья человека [34].

Всемирная распространенность нарушений сна была обобщена и составила от 10 до 40 %, в зависимости от того, рассматривалась ли она как специфическое расстройство (5–10 %) или как симптом (30 %) [35]. Наиболее распространёнными сомнологическими нарушениями в современном обществе принято считать инсомнию и синдром обструктивного апноэ сна (COAC) [36]. Предполагаемая возможность распространения COAC в общей популяции

варьируется от 9 до 38 %. Нарушения сомнологических показателей, обнаруженные у пациентов с апноэ, такие как бессонница, любые жалобы на бессонницу, трудности засыпания, трудности поддержания сна и раннего утреннего пробуждения, составляли 38 %, 36 %, 18 %, 42 % и 21 % соответственно. В Европейском регионе, регионе Северной и Южной Америки и западной части Тихого океана расстройство в форме бессонницы при СОАС составило 48 %, 49 % и 28 %. В Западно-Тихоокеанском регионе у пациентов с СОАС частота трудностей с засыпанием была статистически значимо ниже, чем в других регионах. По распространённости среди взрослого населения СОАС чаще встречается у пожилых и людей с высоким ИМТ, а увеличение распространения бессонницы – у людей пожилого возраста и женщин [35]. Последние данные по распространённости сомнологических нарушений в разных странах информируют о том, что в популяции населения Японии симптомы бессонницы присутствовали у 2,5 % мужчин и 2,8 % женщин [37]. В США бессонница затрагивает до 15 % населения [38]. У коренного населения Аляски нарушение в виде недостатка сна варьируется от 15 до 40 %; бессонницы – от 25 до 33 % [39]. В России трудности засыпания испытывают 17 % населения, а трудности с поддержанием сна – 13 %, из них симптомы инсомнии у женщин встречаются в два раза чаще, чем у мужчин [32].

В настоящее время многими исследованиями получены ассоциации нарушения сна с развитием патологических состояний [40]. В экспериментах на мышах было установлено, что депривация сна усугубляет воспалительный процесс в ЖКТ, тормозит восстановление в тканях и в итоге приводит к образованию язв [41]. Во время сна изменения происходят на уровне сердечно-сосудистой системы. При засыпании начинает преобладать парасимпатическая активность сердца, при пробуждении – симпатическая. Различные нарушения сна, приводящие к сокращению времени сна (менее 5 часов), увеличивают риск возникновения артериальной гипертензии [42]. На 24 % возрастает и риск возникновения рака при бессоннице, особенно у женщин [43].

Установлено, что нарушение сна, в частности его фрагментация, приводит к нарушению метаболических процессов [34]. Некоторые авторы отмечают изменения в концентрациях грелина и лептина при сомнологических нарушениях, что может приводить к негативным изменениям в метаболизме глюкозы [44]. Также отмечаются изменения чувствительности клеток к инсулину, которая регулируется циркадными ритмами [45]. И чем сильнее тяжесть СОАС, тем выше риск метаболических нарушений [46].

Связующим звеном между нарушениями сна и сбоем в системе метаболизма может служить мелатонин. Сомнологические нарушения провоцируют изменения выработки мелатонина, часто его уменьшение. Мелатонин выступает не только как регулятор циркадного ритма, ему свойственно проявлять себя как антиоксидант. Благодаря последнему свойству, гормон вносит вклад в поддержание физиологического уровня окисления в организме. Следовательно, нарушение сна приводит к уменьшению содержания мелатонина, а тот, в свою очередь, может являться фактором развития нарушений молекулярных процессов [14].

Таким образом изменения в работе многих молекулярных механизмов, органов и систем при сомнологи-

ческих нарушениях уже не вызывают сомнений и свидетельствуют о необходимости дальнейших исследований в этом направлении.

ГЛУТАТИОНОВАЯ СИСТЕМА ПРИ ИНСОМНИИ

Сон, как неотъемлемая часть жизни, присущ всем людям и животным. Распространённость изучения сна в мире побуждает интерес учёных рассмотреть это состояние под разными углами. Среди прочего, изучаются результаты влияния сна и его нарушений не только на организм в целом (общее самочувствие, быстрота реакций и др.), но и на отдельные его компоненты: метаболические системы, содержание различных веществ и т. д.

В конце двадцатого века E. Reimund была выдвинута теория, согласно которой в состоянии сна в организме утилизируются свободные радикалы, накопившиеся в состоянии бодрствования [47]. Предполагается, что отсутствие сна приводит к интенсификации свободно-радикальных процессов, соответственно в процессе сна происходит восстановление окислительного баланса. Данная концепция является частью анаболической теории сна [48]. Это подтверждается и исследованиями L. Xie et al. [49].

Систему глутатиона при расстройствах сна рассматривают через призму окислительного стресса. Окислительный стресс – состояние, обусловленное увеличением количества прооксидантов и/или уменьшением содержания антиоксидантов [50]. Наличие окислительного стресса при инсомнии в периферической крови установили B. Liang et al. В работе авторы измеряли у пациентов уровень антиоксидантного (TAS) и оксидантного статуса (TOS) и рассчитывали индекс окислительного стресса (OSI). При таком подходе измерения подтвердилось повышение оксидативного звена и индекса ОС при инсомнических расстройствах, на фоне снижения антиоксидантного статуса. Но гендерное разделение по группам учтено не было [51].

Существует мнение о двунаправленной взаимосвязи между окислительным стрессом и сном. Гипотеза находит подтверждение в исследовании на мухах дрозофилах. У мух наличие ОС устанавливали по экспрессии генов GSTS1 и GSTO1. Известно, что экспрессия этих генов активируется при повышении АФК, а высокое содержание АФК служит предиктором развития ОС. В результате исследователи пришли к выводу, что снижение окислительного стресса в нейронах мух дикого типа уменьшает время их сна. Полученные данные позволяют предположить, что не только сон способен регулировать окислительный стресс, но и окислительный стресс способен регулировать сон [52].

Одной из первых работ по измерению активности GP вместе с концентрацией глутатиона при инсомнии в периферической крови была работа M. Gulec et al. Они обнаружили снижение активности фермента у группы пациентов с первичной бессонницей, хотя уровень глутатиона у испытуемых не различался [53]. Так как GP катализирует реакции распада гидроперекисей – первичных продуктов окисления, снижение её активности, вероятно, произошло при активации перекисных процессов. Либо, по трактовке некоторых авторов, снижение активности GP оценивается как проявление минимизации адаптивных процессов организма в условиях окислительного стресса [54]. Стоит отметить, что авторами не были учтены

гендерные различия испытуемых, но, как известно, существует разница в показателях глутатионовой системы у лиц разного пола [17].

При изучении показателей в гомогенате целого мозга, у крыс не было обнаружено развитие ОС при длительной депривации сна (96 часов). Активность СОД, GP, каталазы и МДА не имели различий в сравнении с контролем. Но уровень GSH всё-таки был ниже у крыс с депривацией [55]. В экспериментах на коре мозга крыс предположение об окислительном повреждении в результате длительного бодрствования не было доказано [56]. В исследовании на крысах в коре мозга не обнаружено конечных продуктов окисления липидов и белков. Но увеличение окислительных молекул было обнаружено при кратковременном недосыпании крыс, в то время как при длительном недосыпании таких различий обнаружено не было. По мнению авторов, это может быть связано с активацией системы антиоксидантной защиты и своевременным удалением образовавшихся окислителей [57]. Продолжая исследования коры мозга крыс, был поставлен эксперимент по измерению уровня экспрессии антиоксидантных ферментов в префронтальной коре на 33-й и 90-й постнатальный день при депривации сна. На 33-й постнатальный день экспрессия GP-1 была увеличена у крыс с депривацией сна по сравнению с контрольными крысами. Тем не менее, на 90-й постнатальный день экспрессия GP-1 у крыс депривацией и контролем были сопоставимы [58]. В другой работе группа исследователей во главе с D'Almeida провели эксперимент на крысах, дифференцируя мозг по областям. При моделировании депривации сна, они обнаружили снижение концентрации глутатиона в гипоталамусе и таламусе, хотя снижения системного глутатиона в крови людей с бессонницей тоже не выявлено [59]. Также изменения в концентрации глутатиона были обнаружены в гиппокампе мышей, лишённых сна. Там же был констатирован локальный ОС, участвующий в прогрессировании дефицита памяти [60].

Результаты недавних исследований продемонстрировали, что у менопаузальных женщин с нефункциональной GSTM1 и инсомнией выше активность GR и GST и ниже активность GP, уровни GSH и GSSG по сравнению с группой без инсомнии с тем же генотипом. А также, у женщин с инсомнией и функциональным генотипом GSTM1 уровень активности GST ниже по сравнению с пациентами с нефункциональным генотипом [61]. Также было обнаружено влияние полиморфизма гена Clock 3111T/C на уровень антиоксидантной активности у женщин в период менопаузы с бессонницей. Сравнительный анализ параметров у женщин в менопаузе основной (с инсомнией) и контрольной (без инсомнии) групп показал пониженные уровни GSH и активности GR у женщин с носителями бессонницы TT-генотипа. Носители минорного аллеля CC с инсомнией имели более низкую активность GP по сравнению с контролем. Данные изменения в глутатионовой системе при инсомнии авторы связывают со снижением уровня мелатонина, который выполняет функцию активатора GR [62]. Кроме того, показано, что антиоксидантные ферменты следуют циркадному типу экспрессии. Следовательно, нарушение сна может привести к снижению антиоксидантной защиты, а также к увеличению окислительных реакций [63].

Подводя итоги вышесказанного можно сделать вывод, что при инсомнии окислительный стресс наблюдается в периферической крови, за счёт снижения активности GP. Также при инсомнии развитие окислительного стресса происходит в мозге, за счёт снижения уровня GSH как в целом мозге, так и в отдельных его областях. При этом уровень общего глутатиона в организме остаётся неизменным. При первичной бессоннице изменения в глутатионовой системе наблюдаются в увеличении GP в коре и периферической крови. В функционировании глутатионовой системы при инсомнии ключевую роль отводят генотипам полиморфизмов генов системы антиоксидантной защиты.

ГЛУТАТИОНОВАЯ СИСТЕМА ПРИ СОАС

Роль глутатионовой системы неоспоримо важна и заключается в защите организма от различных видов стресса, спровоцированного, в том числе, высокой концентрацией активных форм кислорода (АФК). Увеличение АФК присуще людям с патологией СОАС, ведь известно, что при СОАС происходит обструкция дыхательных путей, которая сопровождается повторными циклами гипоксии во время сна [64]. Такие циклические изменения в насыщении артериальной крови кислородом могут увеличивать выработку реактивных продуктов метаболита кислорода [65]. Как следствие, высокий уровень АФК у людей с СОАС способен привести к развитию окислительного стресса и повреждению ДНК. [66].

В числе исследований свободнорадикальных процессов при СОАС встречаются такие, где процессы окисления изучали только путём оценки маркеров липопероксидации [67]. Более обширно развитие ОС решили рассмотреть M. Ntalapascha et al. В своей работе помимо показателей перекисного окисления липидов (8-изопростана и ТБК-АП), они изучали показатели антиоксидантной защиты (GSH, GSSG, активность каталазы, Cu/Zn-зависимую СОД и общую АОА) и продукты окисления белков (карбонильные группы белков). В показателях перекисного окисления липидов различий, как и в предыдущих исследованиях, обнаружено не было. Среди антиоксидантных показателей были выявлены различия в концентрациях GSH и отношения GSH/GSSG. У контрольных испытуемых уровень GSH повышался в период сна, у испытуемых с СОАС – не изменялся, что говорит о возможном нарушении анаболической функции сна. Авторы предполагают, что обструктивное апноэ во сне, возможно, протекает через путь GSH/GSSG. Показатели продуктов окисления белков и активность каталазы тоже не отличались от контрольной группы, но у группы с СОАС наблюдалась тенденция к увеличению этих показателей [68]. В другой работе было выявлено увеличение уровня окислителей и индекса окислительного стресса у людей с СОАС. Уровень общего антиоксидантного статуса и -SH групп были значительно ниже по сравнению с контрольной группой, что указывает на активацию свободнорадикальных процессов [69].

Другие исследователи определяли развитие ОС при СОАС через оценку антиоксидантных показателей. Среди антиоксидантных ферментов, участвующих в обезвреживании продуктов окисления липидов (СОД, каталаза, ферменты глутатионовой системы), не выявлено значительных различий между группой с СОАС и контролем [70]. Однако у беременных женщин активность GP зна-

чительно ниже при СОАС [71]. Не исключено, что данный результат был связан с перестройками и модифицированием путей метаболизма в организме при беременности. При исследовании системного уровня глутатиона выяснилось значительно более низкое его значение у лиц с индексом апноэ > 15. Данный показатель не зависел от состояния питания и состава тела. В связи с этим, авторы данной работы делают выводы, что степень десатурации во время сна значительно влияет на системный окислительный стресс у пациентов с СОАС независимо от состояния питания и состава тела [72].

Окислительный стресс при СОАС отличается своей периодичностью и проявляется только в периоды сна. Некоторые авторы утверждают, что ОС образуется только при тяжёлых формах СОАС по причине больших сдвигов гипоксии-реоксигенации [73]. Также известно, что состояние ОС увеличивается пропорционально тяжести СОАС [74]. Как факт, между группой с тяжёлой формой СОАС и контролем не было значимой разницы в концентрации GSH. Однако концентрации GSH в группах с лёгкой и умеренной тяжестью СОАС были статистически значимо выше, чем в контрольной группе. Аналогичные результаты были получены при измерении уровня гомоцистеина [75]. Полученные результаты демонстрируют адекватный адаптационный ответ данных показателей при повышении АФК и дальнейшее ослабление адаптационных возможностей организма с увеличением тяжести СОАС. Эти результаты согласуются с другим исследованием, в котором у группы с СОАС уровень гомоцистеина был статистически значимо выше по сравнению с группой без СОАС. Стоит отметить, что в последнем исследуемые группы не были разделены по тяжести патологии [76]. В следующей работе различия были не только в концентрациях GSH, но и в уровнях СОД. В контрольной группе, группе СОАС и в группе СОАС в сочетании с гипертензией показатели снижались со статистической значимостью и имели обратные корреляции с индексом апноэ/гипноэ и самым низким насыщением крови кислородом [77].

В эксперименте моделирования апноэ у людей при временном недостатке кислорода увеличивались активность GP и концентрация глутатиона в периферической крови. Авторы отмечают, что GP-3 и GSH представляют собой наиболее легко мобилизуемые антиоксиданты, которые могут быть использованы в качестве инструментов для установления окислительного стресса во время гипоксии [78].

Моделирование прерывистой или устойчивой хронической гипоксии у крыс показало повышенную активность GR в варолиевом мосту и мозжечке. Так же в варолиевом мосту наблюдалось снижение общего уровня GSH после воздействия прерывистой гипоксии [79]. Антиоксидантное звено при гипоксии исследовали также в сочетании с инсомнией. В условиях 6-часовой депривации сна был повышен уровень GSH в неокортексе, стволе мозга и мозжечке. В гиппокампе процессы окисления липидов были снижены. Авторы склоняются к выводу, что кратковременная бессонница при гипоксии может служить адаптивным ответом для предотвращения ОС [80].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Механизмы развития сомнологических патологий различны, как и их влияние на антиоксидантную защиту,

включая глутатионовую систему. Представленные в научном обзоре результаты многолетних исследований системы глутатиона при нарушениях сна демонстрируют высокую чувствительность показателей глутатионовой системы к дестабилизации в окислительно-восстановительном равновесии и своевременное реагирование на активацию окислительных процессов при нарушениях сна. Картина показателей варьируется в зависимости от тяжести, длительности и вида сомнологической патологии. Истощение элементов глутатионовой системы может быть причиной развития ОС при нарушениях сна на фоне интенсификации окислительных реакций.

Конфликт интересов

Авторы статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тюзиков И.А., Калинин С.Ю., Ворслов Л.О., Тишова Ю.А. Роль окислительного стресса в патогенезе андрологических заболеваний. Тиоктовая (альфа-липоевая) кислотановые грани фармакотерапевтических опций в современной андрологической практике. *Эффективная фармакотерапия*. 2018; (9): 20-37.
2. Калинина Е.В., Чернов Н.Н., Новичкова М.Д. Роль глутатиона, глутатионтрансферазы и глутаредоксина в регуляции редокс-зависимых процессов. *Успехи биологической химии*. 2014; 54: 299-348.
3. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Dolgikh MI, Semenova NV. Adaptive reactions of lipid metabolism in indigenous and non-indigenous female individuals of tofalarian population living under extreme environmental conditions. *J Evol Biochem Physiol*. 2014; 50(5): 392-398. doi: 10.1134/S0022093014050032
4. Kolesnikova LI, Prokhorova ZV, Vlasov BY, Polyakov VM. Redox status as a metabolic stage, integrating emotional pattern and blood pressure in adolescents. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2014; 158(1): 9-12. doi: 10.1007/s10517-014-2679-6
5. Орлов Д.С., Степовая Е.А., Рязанцева Н.В., Носарева О.Л., Иванов В.В., Шахристова Е.В. Глутатионилирование белков в опухолевых клетках линии P19 при моделировании гипоксии in vitro. *Международный журнал экспериментального образования*. 2015; (8-1): 130.
6. Gibson GE, Park LC, Sheu KF, Blass JP, Calingasan NY. The alpha-ketoglutarate dehydrogenase complex in neurodegeneration. *Neurochem Int*. 2000; 36(2): 97-112. doi: 10.1016/s0197-0186(99)00114-x
7. Степовая Е.А., Шахристова Е.В., Рязанцева Н.В., Носарева О.Л., Якушина В.Д., Носова А.И., и др. Окислительная модификация белков и система глутатиона при модуляции редокс-статуса клеток эпителия молочной железы. *Биомедицинская химия*. 2016; 62(1): 64-68. doi: 10.18097/PBMC20166201064
8. Nikonov VV, Kursov SV, Biletskiy OV. Dicarbonyl stress: the hypothesis of cell damage in conditions of hypoxia. The trigger mechanism for the development of multiorgan dysfunction. *Emerg Med*. 2017; 4(83): 78-85. doi: 10.22141/2224-0586.4.83.2017.107428
9. Luengo A, Abbott KL, Davidson SM, Hosios AM, Faubert B, Chan SH, et al. Reactive metabolite production is a targetable liability of glycolytic metabolism in lung cancer. *Nat Commun*. 2019; 10(1): 5604. doi: 10.1038/s41467-019-13419-4
10. Lang CA, Mills BJ, Mastropaolo W, Liu MC. Blood glutathione decreases in chronic diseases. *J Lab Clin Med*. 2000; 135: 402-532. doi: 10.1067/mlc.2000.105977
11. Павлинова Е.Б., Киршина И.А., Курмашева Е.И., Влащенко Н.Ю., Мингаирова А.Г., Савченко О.А., и др. Влияние полиморфизма гена GCLC на состояние антиоксидантной защиты у здоровых детей, проживающих в Омской области. *Пермский медицинский журнал*. 2019; 36(4): 33-38. doi: 10.17816/pmj36433-38

12. Zheng Y, Ritzenthaler JD, Burke TJ, Otero J, Roman J, Watson WH. Age-dependent oxidation of extracellular cysteine/cystine redox state (Eh (Cys/CySS)) in mouse lung fibroblasts is mediated by a decline in Slc7a11 expression. *Free Radic Biol Med*. 2018; 118: 13-22. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.02.026
13. Richie Jr JP, Muscat JE, Ellison I, Calcagnotto A, Kleinman W, El-Bayoumy K. Association of selenium status and blood glutathione concentrations in blacks and whites. *Nutr Cancer*. 2011; 63(3): 367-375. doi: 10.1080/01635581.2011.535967
14. Колесникова Л.И., Колесников С.И., Мадаева И.М., Семенова Н.В. *Этногенетические и молекулярно-метаболические аспекты нарушений сна в климактерическом периоде*. М.: РАН; 2019.
15. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Долгих В.В., Шенин В.А., Осипова Е.В., Гребенкина Л.А., и др. Особенности процессов перекисного окисления липидов – антиоксидантной защиты в различных этнических группах восточной Сибири. *Экология человека*. 2010; (2): 26-29.
16. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Гребенкина Л.А., Лабыгина А.В., Долгих М.И., Натяганова Л.В. и др. Проблемы этноса в медицинских исследованиях (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2013; (4): 153-159.
17. Щеглова Е.Л., Высокогорский В.Е., Степанова И.П. Гендерные особенности свободнорадикальных процессов в эритроцитах подростков, злоупотреблявших алкоголем. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; (5): 53.
18. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Dolgikh MI, Astakhova TA, Semenova NV. Gender differences in parameters of lipid metabolism and of level of antioxidants in groups of juveniles – the Evenki and the Europeans. *J Evol Biochem Physiol*. 2014; 50: 34-41. doi: 10.1134/S0022093014010058
19. Flagg EW, Coates RJ, Jones DP, Eley JW, Gunter EW, Jackson B, et al. Plasma total glutathione in humans and its association with demographic and health-related factors. *Br J Nutr*. 1993; 70(3): 797-808. doi: 10.1079/BJN19930175
20. Колесникова Л.И., Мадаева И.М., Семёнова Н.В., Осипова Е.В., Даренская М.А. Гендерные особенности процессов свободно-радикального окисления липидов при возрастных гормонально-дефицитных состояниях. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2016; 71(3): 248-254. doi: 10.15690/vramn629
21. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Гребенкина Л.А., Осипова Е.В., Долгих М.И., Болотова Ц.Ц. Изучение состояния процесса липопероксидации у женщин различных этнических групп с угрозой прерывания беременности. *Acta biomedica scientifica*. 2010; (6-2): 31-33.
22. Толпыгина О.А. Роль глутатиона в системе антиоксидантной защиты (обзор). *Acta biomedica scientifica*. 2012; (2-2): 178-180.
23. Разыграев А.В., Петросян М.А., Тимасова З.Н., Таборская К.И., Полянских Л.С., Базиян Е.В. и др. Изменение активности глутатионпероксидазы в плазме и сыворотке крови крыс при постнатальном развитии и старении. *Успехи геронтологии*. 2019; 32(1-2): 38-44.
24. Разыграев А.В., Матросова М.О., Титович И.А. Роль глутатионпероксидазы в ткани эндометрия: факты, гипотезы, перспективы изучения. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2017; 66(2): 104-111. doi: 10.17816/JOWD662104-111
25. Beutler E, Matsumoto F. Ethnic variation in red cell glutathione peroxidase activity. *Blood*. 1975; 46(1): 103-110. doi: 10.1182/blood.v46.1.103.103
26. De Luca A, Mei G, Rosato N, Nicolai E, Federici L, Palumbo C, et al. The fine-tuning of TRAF2-GSTP1-1 interaction: effect of ligand binding and in situ detection of the complex. *Cell Death Dis*. 2014; 5(1): 1015. doi: 10.1038/cddis.2013.529
27. Колесов С.А., Рахманов Р.С., Блинова Т.В., Страхова Л.А. Новые данные о диагностических возможностях глутатион S-трансфераз. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2016; (3-4): 577-580.
28. Колесникова Л.И., Даренская М.А., Колесников С.И. Свободнорадикальное окисление: взгляд патофизиолога. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16(4): 16-29. doi: 10.20538/1682-0363-2017-4-16-29
29. Колесникова Л.И., Баирова Т.А., Первушина О.А. Гены ферментов антиоксидантной системы. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2013; 68(12): 83-88. doi: 10.15690/vramn.v68i12.865
30. Зенков Н.К., Меньщикова Е.Б. Некоторые принципы и механизмы редокс-регуляции. *Кислород и антиоксиданты*. 2009; (1): 3-64.
31. Semenova N, Madaeva I, Darenskaya M, Bairova T, Ileva K, Kolesnikova L. Antioxidant system activity in Asian menopausal women depending on the glutathione S-transferase M1 and T1 genotypes. *Free Radic Biol Med*. 2019; 139(Suppl 1): 39-40.
32. Бочкарев М.В., Коростовцева Л.С., Коломейчук С.Н., Петрашова Д.А., Шаламова Е.Ю., Рагозин О.Н., и др. Роль сна и изменений ритма сна-бодрствования в адаптации к условиям Арктики. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2019; 16(2): 86-95. doi: 10.22138/2500-0918-2019-16-2-86-95
33. Черенкевич С.Н., Мартинович Г.Г., Мартинович И.В., Голубева Е.Н. Редокс-гомеостаз биологических систем: теория и эксперимент. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2009; (2(26)): 9-11.
34. Кузнецов В.В., Шевченко Л.А. Особенности сна и циркадных ритмов при старении. *Журнал неврологии им. Б.М. Маньковского (Украина)*. 2019; 7(3-4): 47-56.
35. Zhang Y, Ren R, Lei F, Zhou J, Zhang J, Wing YK, et al. Worldwide and regional prevalence rates of co-occurrence of insomnia and insomnia symptoms with obstructive sleep apnea: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Med Rev*. 2019; 45: 1-17. doi: 10.1016/j.smrv.2019.01.004
36. Полуэктов М.Г. (ред.) *Сомнология и медицина сна*: нац. рук. памяти А.М. Вейна и Я.И. Левина. М.: Изд-во Медфорум; 2016.
37. Kawata Y, Maeda M, Sato T, Maruyama K, Wada H, Ikeda A, et al. Association between marital status and insomnia-related symptoms: findings from a population-based survey in Japan. *Eur J Public Health*. 2020; 30(1): 144-149. doi: 10.1093/eurpub/ckz119
38. Boland E, Goldschmied J, Kayser MS, Gehrman PR. Precision Medicine for Insomnia. *Sleep Med Clin*. 2019; 14(3): 291-299. doi: 10.1016/j.jsmc.2019.04.001
39. Lombardero A, Hansen CD, Richie AE, Campbell DG, Joyce AW. A narrative review of the literature on insufficient sleep, insomnia, and health correlates in American Indian/Alaska native populations. *J Environ Public Health*. 2019; 2019: 14. doi: 10.1155/2019/4306463
40. Пигарев И.Н., Пигарева М.Л. Сон и контроль висцеральных функций. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2011; 97(4): 374-387.
41. Guo JS, Chau JFL, Cho CH, Koo MWL. Partial sleep deprivation compromises gastric mucosal integrity in rats. *Life Sci*. 2005; 77(2): 220-229. doi: 10.1016/j.lfs.2004.12.027
42. Gangwisch JL, Heymsfield S.B, Boden-Albala B, Buijs RM, Kreier F, Pickering TG, et al. Short sleep duration as a risk factor for hypertension: analyses of the first National Health and Nutrition Examination Survey. *Hypertension*. 2006; 47(5): 833-839. doi: 10.1161/01.HYP.0000217362.34748.e0
43. Shi T, Min M, Sun C, Zhang Y, Liang M, Sun Y. Does insomnia predict a high risk of cancer? A systematic review and meta-analysis of cohort studies. *J Sleep Res*. 2020; 29(1): 12876. doi: 10.1111/jsr.12876
44. Monjan AA. Perspective on sleep and aging. *Front Neurol*. 2010; 1: 124. doi: 10.3389/fneur.2010.00124
45. Цветкова Е.С., Романцова Т.И., Рунова Г.Е., Беляев Н.С., Гольдшмид А.Е. Влияние сменного графика работы на показатели метаболического здоровья. *Ожирение и метаболизм*. 2019; 16(3): 11-19. doi: 10.14341/omet10015
46. Дербенева С.А., Богданов А.Р. Особенности метаболического статуса пациентов с ожирением и синдромом обструктивного апноэ сна. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2019; 18(S1): 61-62.

47. Reimund E. The free radical flux theory of sleep. *Med Hypotheses*. 1994; 43(4): 231-233. doi: 10.1016/0306-9877(94)90071-X
48. Чечик Н., Рушкевич Ю., Абельская И., Лихачев С. Физиологические аспекты сна. *Наука и инновации*. 2017; 12(178): 4-8.
49. Xie L, Kang H, Xu Q, Chen MJ, Liao Y, Thiyagarajan M, et al. Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science*. 2013; 342(6156): 373-377. doi: 10.1126/science.1241224
50. Asker S, Asker M, Sarikaya E, Sunnetcioglu A, Aslan M, Demir H. Oxidative stress parameters and their correlation with clinical, metabolic and polysomnographic parameters in severe obstructive sleep apnea syndrome. *Int J Clin Exp Med*. 2015; 8(7): 11449-11455.
51. Liang B, Li YH, Kong H. Serum paraoxonase, arylesterase activities and oxidative status in patients with insomnia. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013; 17(18): 2517-2522.
52. Hill VM, O'Connor RM, Sissoko GB, Irobunda IS, Leong S, Canman JC, et al. A bidirectional relationship between sleep and oxidative stress in *Drosophila*. *PLoS Biology*. 2018; 16(7): 1-22. doi: 10.1371/journal.pbio.2005206
53. Gulec M, Ozkol H, Selvi Y, Tuluze Y, Aydin A, Besiroglu L, et al. Oxidative stress in patients with primary insomnia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2012; 37(2): 247-251. doi: 10.1016/j.pnpb.2012.02.011
54. Колесникова Л.И., Рычкова Л.В., Даренская М.А., Гребенкина Л.А., Гаврилова О.А., Жданова Л.В., и др. Показатели редокс-статуса у подростков-монголоидов при развитии экзогенно-конституционального ожирения и жирового гепатоза. *Вопросы питания*. 2018; 87(5): 13-19. doi: 10.24411/0042-8833-2018-10048
55. D'Almeida V, Hipólido DC, Azzalis LA, Lobo LL, Junqueira VB, Tufik S. Absence of oxidative stress following paradoxical sleep deprivation in rats. *Neurosci Lett*. 1997; 235(1-2): 25-28. doi: 10.1016/S0304-3940(97)00706-4
56. Cirelli C, Shaw PJ, Rechtschaffen A, Tononi G. No evidence of brain cell degeneration after long-term sleep deprivation in rats. *Brain Res*. 1999; 840(1-2): 184-193. doi: 10.1016/S0006-8993(99)01768-0
57. Gopalakrishnan A, Ji LL, Cirelli C. Sleep deprivation and cellular responses to oxidative stress. *Sleep*. 2004; 27(1): 27-35. doi: 10.1093/sleep/27.1.27
58. Atrooz F, Liu H, Kochi C, Salim S. Early life sleep deprivation: role of oxido-inflammatory processes. *Neuroscience*. 2019; 406: 22-37. doi: 10.1016/j.neuroscience.2019.02.021
59. D'Almeida V, Lobo LL, Hipólido DC, de Oliveira AC, Nobrega JN, Tufik S. Sleep deprivation induces brain region-specific decreases in glutathione levels. *Neuroreport*. 1998; 9(12): 2853-2856. doi: 10.1097/00001756-199808240-00031
60. Silva RH, Abilio VC, Takatsu AL, Kameda SR, Grassl C, Chehin AB, et al. Role of hippocampal oxidative stress in memory deficits induced by sleep deprivation in mice. *Neuropharmacology*. 2004; 46(6): 895-903. doi: 10.1016/j.neuropharm.2003.11.032
61. Semenova N, Madaeva I, Bairova T, Kolesnikova L. Association lipid peroxidation and antioxidant system activity with glutathione s-transferase M1 genotype in menopausal women with insomnia. *Maturitas*. 2019; 124: 163-164. doi: 10.1016/j.maturitas.2019.04.146
62. Semenova N, Madaeva I, Bairova T, Kolesnikov S, Kolesnikova L. Lipid peroxidation depends on the clock 3111T/C gene polymorphism in menopausal women with Insomnia. *Chronobiol Int*. 2019; 36(10): 1399-1408. doi: 10.1080/07420528.2019.1647436
63. Cudney LE, Sassi RB, Behr GA, Streiner DL, Minuzzi L, Moreira JC, et al. Alterations in circadian rhythms are associated with increased lipid peroxidation in females with bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2014; 17(5): 715-722. doi: 10.1017/S1461145713001740
64. Passali D, Corallo G, Yaremchuk S, Longini M, Proietti F, Passali GC, et al. Oxidative stress in patients with obstructive sleep apnoea syndrome. *Acta Otorhinolaryngol Ital*. 2015; 35(6): 420-425. doi: 10.14639/0392-100X-895
65. Celec P, Hodossy J, Behuliak M, Palffy R, Gardlik R, Halcak L, et al. Oxidative and carbonyl stress in patients with obstructive sleep apnea treated with continuous positive airway pressure. *Sleep Breath*. 2012; 16: 393-398. doi: 10.1007/s11325-011-0510-4
66. Christou K, Markoulis N, Moulas AN, Pastaka C, Gourgoulis K. Reactive oxygen metabolites (ROMS) as an index of oxidative stress in obstructive sleep apnea patients. *Sleep Breath*. 2003; 7(03): 105-110. doi: 10.1055/s-2003-43071
67. Svatikova A, Wolk R, Lerman LO, Juncos LA, Greene EL, McConnell JP, et al. Oxidative stress in obstructive sleep apnoea. *Eur Heart J*. 2005; 26(22): 2435-2439. doi: 10.1093/eurheartj/ehi440
68. Ntalapascha M, Makris D, Kyparos A, Tsilioni I, Kostikas K, Gourgoulis K, et al. Oxidative stress in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep Breath*. 2013; 17(2): 549-555. doi: 10.1007/s11325-012-0718-y
69. Baysal E, Taysi S, Aksoy N, Uyar M, Celenk F, Karatas ZA, et al. Serum paraoxonase, arylesterase activity and oxidative status in patients with obstructive sleep apnea syndrome (OSAS). *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2012; 16(6): 770-774.
70. Lee SD, Ju G, Choi JA, Kim JW, Yoon IY. The association of oxidative stress with central obesity in obstructive sleep apnea. *Sleep Breath*. 2012; 16(2): 511-517. doi: 10.1007/s11325-011-0536-7
71. Köken G, Kir Sahin F, Cosar E, Saylan F, Yilmaz N, Altuntas I, et al. Oxidative stress markers in pregnant women who snore and fetal outcome: a case control study. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2007; 86(11): 1317-1321. doi: 10.1080/00016340701662183
72. Čekerevac I, Jakovljević V, Živković V, Petrović M, Čupurdija V, Novković L. Impact of severity of obstructive sleep apnea (OSA) and body composition on redox status in OSA patients. *Vojnosanitetski pregled*. 2018; 75(11): 1089-1093. doi: 10.2298/VSP161030041C
73. Papanikolaou J, Ntalapascha M, Makris D, Koukoubani T, Tzolaki V, Zakyntinos G, et al. Diastolic dysfunction in men with severe obstructive sleep apnea syndrome but without cardiovascular or oxidative stress-related comorbidities. *Ther Adv Respir Dis*. 2019; 13: 1-15. doi: 10.1177/1753466619880076
74. Мадаева И.М., Колесникова Л.И., Петрова В.А., Шевырталова О.Н., Шолохов Л.Ф. Изменения процессов перекисного окисления липидов и системы антиокислительной защиты у пациентов с синдромом обструктивного апноэ сна. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2009; 3: 24-27.
75. Li J, Wang L, Jiang M, Mao Y, Pan X. Relationship between serum homocysteine level and oxidative stress in patients with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. *Zhonghua yi xue za zhi*. 2014; 94(32): 2510-2513. doi: 10.3760/cma.j.isn.0376-2491.2014.32.007
76. Sales LV, de Bruin VMS, D'Almeida V, Pompeia S, Bueno OFA, Tufik S, et al. Cognition and biomarkers of oxidative stress in obstructive sleep apnea. *Clinics*. 2013; 68(4): 449-455. doi: 10.6061/clinics/2013(04)03 77. Wang P, Li J, Cao H, Shen Y. The effect of oxidative stress on obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome combined with hypertension. *J Clin Otorhinolaryngol Head Neck Surg*. 2014; 28(9): 604-606.
78. Rousseau AS, Richer C, Richard MJ, Favier A, Margaritis I. Plasma glutathione peroxidase activity as a potential indicator of hypoxic stress in breath-hold diving. *Aviat Space Environ Med*. 2006; 77(5): 551-555.
79. Ramanathan L, Gozal D, Siegel JM. Antioxidant responses to chronic hypoxia in the rat cerebellum and pons. *J Neurochem*. 2005; 93(1): 47-52. doi: 10.1111/j.1471-4159.2004.02988.x
80. Ramanathan L, Siegel JM. Sleep deprivation under sustained hypoxia protects against oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 2011; 51(10): 1842-1848. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.08.016

REFERENCES

1. Tyuzikov IA, Kalinchenko SYu, Vorslov LO, Tishova YuA. Role of oxidative stress in the pathogenesis of andrological diseases. Thioctic (alpha-lipoic) acid (espa-lipon) – new edges of pharmacotherapeutic options in modern andrological practice. *Effektivnaya farmakoterapiya*. 2018; (9): 20-37. (In Russ.)

2. Kalinina EV, Chernov NN, Novichkova MD. The role of glutathione, glutathione transferase and glutaredoxin in the regulation of redox-dependent processes. *Uspekhi biologicheskoy khimii*. 2014; 54: 299-348. (In Russ.)
3. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Dolgikh MI, Semenova NV. Adaptive reactions of lipid metabolism in indigenous and non-indigenous female individuals of tofalarian population living under extreme environmental conditions. *J Evol Biochem Physiol*. 2014; 50(5): 392-398. doi: 10.1134/S0022093014050032
4. Kolesnikova LI, Prokhorova ZV, Vlasov BY, Polyakov VM. Redox status as a metabolic stage, integrating emotional pattern and blood pressure in adolescents. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2014; 158(1): 9-12. doi: 10.1007/s10517-014-2679-6
5. Orlov DS, Stepovaya EA, Ryazanceva NV, Nosareva OL, Ivanov VV, Shakhristova EV. Protein glutathionylation in P19 tumor cells in *in vitro* modeling of hypoxia. *International Journal of Experimental Education*. 2015; (8-1): 130. (In Russ.)
6. Gibson GE, Park LC, Sheu KF, Blass JP, Calingasan NY. The alpha-ketoglutarate dehydrogenase complex in neurodegeneration. *Neurochem Int*. 2000; 36(2): 97-112. doi: 10.1016/S0197-0186(99)00114-X
7. Stepovaya EA, Shakhristova EV, Ryazantseva NV, Nosareva OL, Yakushina VD, Nosova AI, et al. The role of oxidative protein modification and the glutathione system in modulation of the redox status of breast epithelial cells. *Biomeditsinskaya khimiya*. 2016; 62(1): 64-68. doi: 10.18097/PBMC20166201064 (In Russ.)
8. Nikonov VV, Kursov SV, Biletskiy OV. Dicarbonyl stress: the hypothesis of cell damage in conditions of hypoxia. The trigger mechanism for the development of multiorgan dysfunction. *Emerg Med*. 2017; 4(83): 78-85. doi: 10.22141/2224-0586.4.83.2017.107428
9. Luengo A, Abbott KL, Davidson SM, Hosios AM, Faubert B, Chan SH, et al. Reactive metabolite production is a targetable liability of glycolytic metabolism in lung cancer. *Nat Commun*. 2019; 10(1): 5604. doi: 10.1038/s41467-019-13419-4
10. Lang CA, Mills BJ, Mastropaolo W, Liu MC. Blood glutathione decreases in chronic diseases. *J Lab Clin Med*. 2000; 135: 402-532. doi: 10.1067/mlc.2000.105977
11. Pavlinova EB, Kirshina IA, Kurmasheva EI, Vlasenko NYU, Mingairova AG, Savchenko OA, et al. Influence of polymorphism of the gene GCLC on antioxidant defense status in healthy children of Omsk region. *Permskij medicinskij zhurnal*. 2019; 36(4): 33-38. doi: 10.17816/pmj36433-38 (In Russ.)
12. Zheng Y, Ritzenthaler JD, Burke TJ, Otero J, Roman J, Watson WH. Age-dependent oxidation of extracellular cysteine/cystine redox state (Eh (Cys/CySS)) in mouse lung fibroblasts is mediated by a decline in Slc7a11 expression. *Free Radic Biol Med*. 2018; 118: 13-22. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.02.026
13. Richie Jr JP, Muscat JE, Ellison I, Calcagnotto A, Kleinman W, El-Bayoumy K. Association of selenium status and blood glutathione concentrations in blacks and whites. *Nutr Cancer*. 2011; 63(3): 367-375. doi: 10.1080/01635581.2011.535967
14. Kolesnikova LI, Kolesnikov SI, Madaeva IM, Semenova NV. *Ethnogenetic and molecular-metabolic aspects of sleep disturbances in the menopause*. M.: Russian Academy of Sciences; 2019. (In Russ.)
15. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Dolgikh VV, Shenin VA, Osipova EV, Grebenkina LA, et al. Specific features of the processes of lipid peroxidation – antioxidant protection in various ethnic groups of East Siberia. *Ekologiya cheloveka*. 2010; (2): 26-29. (In Russ.)
16. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Labygina AV, Dolgikh MI, Natyaganova LV, et al. The ethnoses in medical researches (literature review). *Acta Biomedica Scientifica*. 2013; (4): 153-159. (In Russ.)
17. Scheglova EL, Vysokogorsky VE, Stepanova IP. Gender features of free radical processes in red blood cells of adolescents who abuse alcohol. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2015; (5): 53. (In Russ.)
18. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Dolgikh MI, Astakhova TA, Semenova NV. Gender differences in parameters of lipid metabolism and of level of antioxidants in groups of juveniles – the Evenki and the Europeans. *J Evol Biochem Physiol*. 2014; 50: 34-41. doi: 10.1134/S0022093014010058
19. Flagg EW, Coates RJ, Jones DP, Eley JW, Gunter EW, Jackson B, et al. Plasma total glutathione in humans and its association with demographic and health-related factors. *Br J Nutr*. 1993; 70(3): 797-808. doi: 10.1079/BJN19930175
20. Kolesnikova LI, Madaeva IM, Semenova NV, Osipova EV, Darenskaya MA. Gender features of radical oxidation of lipids in menopausal women and men in andropause. *Vestnik Rossijskoj akademii medicinskih nauk*. 2016; 71(3): 248-254. doi: 10.15690/vramn629 (In Russ.)
21. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Osipova EV, Dolgikh MI, Bolotova CC. Study of lipid peroxidation process at various ethnic groups of women with threatened miscarriage. *Acta Biomedica Scientifica*. 2010; (6-2): 31-33. (In Russ.)
22. Tolpygina OA. Role of glutathione in the antioxidant defense system (review). *Acta Biomedica Scientifica*. 2012; (2-2): 178-180. (In Russ.)
23. Razygraev AV, Petrosyan MA, Tumasova ZN, Taborskaya KI, Polyanskikh LS, Baziian EV, et al. Activity of glutathione peroxidase in rat blood plasma and serum: postnatal and aging-associated alterations. *Uspekhi gerontologii*. 2019; 32(1-2): 38-44. (In Russ.)
24. Razygraev AV, Matrosova MO, Titovich IA. Significance of glutathione peroxidases in endometrium function facts, hypotheses and research perspectives. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh boleznej*. 2017; 66(2): 104-111. doi: 10.17816/JOWD662104-111 (In Russ.)
25. Beutler E, Matsumoto F. Ethnic variation in red cell glutathione peroxidase activity. *Blood*. 1975; 46(1): 103-110. doi: 10.1182/blood.v46.1.103.103
26. De Luca A, Mei G, Rosato N, Nicolai E, Federici L, Palumbo C, et al. The fine-tuning of TRAF2-GSTP1-1 interaction: effect of ligand binding and *in situ* detection of the complex. *Cell Death Dis*. 2014; 5(1): 1015. doi: 10.1038/cddis.2013.529
27. Kolesov SA, Rakhmanov RS, Blinova TV, Strakhova LA. New data on diagnostic capabilities of cytosolic glutathione S-transferases. *Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamentalnyh issledovanij*. 2016; (3-4): 577-580. (In Russ.)
28. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Kolesnikov SI. Free radical oxidation: a pathophysiological view. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16(4): 16-29. doi: 10.20538/1682-0363-2017-4-16-29 (In Russ.)
29. Kolesnikova LI, Bairova TA, Pervushina OA. Genes of antioxidant enzymes. *Vestnik Rossijskoj akademii meditsinskikh nauk*. 2013; 68(12): 83-88. doi: 10.15690/vramn.v68i12.865 (In Russ.)
30. Zenkov NK, Menshchikova EB. Some principles and mechanisms of redox regulation. *Kislород i antioxidanty*. 2009; (1): 3-64. (In Russ.)
31. Semenova N, Madaeva I, Darenskaya M, Bairova T, Ileva K, Kolesnikova L. Antioxidant system activity in Asian menopausal women depending on the glutathione S-transferase M1 and T1 genotypes. *Free Radic Biol Med*. 2019; 139(Suppl 1): 39-40.
32. Bochkarev MV, Korostovtseva LS, Kolomeyichuk SN, Petrashova DA, Shalamova EY, Ragozin ON, et al. The role of sleep and sleep-wake rhythm changes in the arctic adaptation. *Vestnik Ural'skoi Meditsinskoi Akademicheskoi Nauki*. 2019; 16(2): 86-95. doi: 10.22138/2500-0918-2019-16-2-86-95 (In Russ.)
33. Cherenkevich SN, Martinovich GG, Martinovich IV, Golubeva EN. Redox homeostasis of biological systems: theory and practice. *Journal of the Grodno State Med University*. 2009; (2(26)): 9-11. (In Russ.)
34. Kusnetsov VV, Schevchenko LA. Special features of sleep and circadian rhythms in aging. *The Journal of Neuroscience of B.M. Mankovskyi*. 2019; 7(3-4): 47-56. (In Russ.)
35. Zhang Y, Ren R, Lei F, Zhou J, Zhang J, Wing YK, et al. Worldwide and regional prevalence rates of co-occurrence of insomnia and insomnia symptoms with obstructive sleep apnea: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Med Rev*. 2019; 45: 1-17. doi: 10.1016/j.smrv.2019.01.004

36. Poluektov MG (ed.) *Somnology and sleep medicine. National manual in memory of A.M. Vein and Ya.I. Levin*. M.: Medforum; 2016. (In Russ.)
37. Kawata Y, Maeda M, Sato T, Maruyama K, Wada H, Ikeda A, et al. Association between marital status and insomnia-related symptoms: findings from a population-based survey in Japan. *Eur J Public Health*. 2020; 30(1): 144-149. doi: 10.1093/eurpub/ckz119
38. Boland E, Goldschmied J, Kayser MS, Gehrman PR. Precision Medicine for Insomnia. *Sleep Med Clin*. 2019; 14(3): 291-299. doi: 10.1016/j.jsmc.2019.04.001
39. Lombardero A, Hansen CD, Richie AE, Campbell DG, Joyce AW. A narrative review of the literature on insufficient sleep, insomnia, and health correlates in American Indian/Alaska native populations. *J Environ Public Health*. 2019; 2019: 14. doi: 10.1155/2019/4306463
40. Pigarev IN, Pigareva ML. The sleep and the visceral function control. *Russian journal of physiology*. 2011; 97(4): 374-387. (In Russ.)
41. Guo JS, Chau JFL, Cho CH, Koo MWL. Partial sleep deprivation compromises gastric mucosal integrity in rats. *Life Sci*. 2005; 77(2): 220-229. doi: 10.1016/j.lfs.2004.12.027
42. Gangwisch JL, Heymsfield S.B, Boden-Albala B, Buys RM, Kreier F, Pickering TG, et al. Short sleep duration as a risk factor for hypertension: analyses of the first National Health and Nutrition Examination Survey. *Hypertension*. 2006; 47(5): 833-839. doi: 10.1161/01.HYP.0000217362.34748.e0
43. Shi T, Min M, Sun C, Zhang Y, Liang M, Sun Y. Does insomnia predict a high risk of cancer? A systematic review and meta-analysis of cohort studies. *J Sleep Res*. 2020; 29(1): 12876. doi: 10.1111/jsr.12876
44. Monjan AA. Perspective on sleep and aging. *Front Neurol*. 2010; 1: 124. doi: 10.3389/fneur.2010.00124
45. Tsvetkova ES, Romantsova TI, Runova GE, Beliaev NS, Goldshmid AE. The influence of shift work on metabolic health. *Journal obesity and metabolism*. 2019; 16(3): 11-19. doi: 10.14341/omet10015 (In Russ.)
46. Derbeneva SA, Bogdanov AR. Features of the metabolic status of patients with obesity and obstructive sleep apnea syndrome. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika*. 2019; 18(S1): 61-62. (In Russ.)
47. Reimund E. The free radical flux theory of sleep. *Med Hypotheses*. 1994; 43(4): 231-233. doi: 10.1016/0306-9877(94)90071-X
48. Chechuk N, Rushkevich Y, Abelskaya I, Likhachev S. Physiological aspects of sleep. *Nauka i innovacii*. 2017; 12(178): 4-8. (In Russ.)
49. Xie L, Kang H, Xu Q, Chen MJ, Liao Y, Thiyagarajan M, et al. Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science*. 2013; 342(6156): 373-377. doi: 10.1126/science.1241224
50. Asker S, Asker M, Sarikaya E, Sunnetcioglu A, Aslan M, Demir H. Oxidative stress parameters and their correlation with clinical, metabolic and polysomnographic parameters in severe obstructive sleep apnea syndrome. *Int J Clin Exp Med*. 2015; 8(7): 11449-11455.
51. Liang B, Li YH, Kong H. Serum paraoxonase, arylesterase activities and oxidative status in patients with insomnia. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2013; 17(18): 2517-2522.
52. Hill VM, O'Connor RM, Sissoko GB, Irobunda IS, Leong S, Canman JC, et al. A bidirectional relationship between sleep and oxidative stress in *Drosophila*. *PLoS Biology*. 2018; 16(7): 1-22. doi: 10.1371/journal.pbio.2005206
53. Gulec M, Ozkol H, Selvi Y, Tuluce Y, Aydin A, Besiroglu L, et al. Oxidative stress in patients with primary insomnia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2012; 37(2): 247-251. doi: 10.1016/j.pnpbp.2012.02.011
54. Kolesnikova LI, Rychkova LV, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Gavrilova OA, Zhdanova LV, et al. Redox status parameters in adolescent mongoloids with exogenously constitutional obesity and fatty hepatosis. *Voprosy pitaniya*. 2018; 87(5): 13-19. doi: 10.24411/0042-8833-2018-10048 (In Russ.)
55. D'Almeida V, Hipólido DC, Azzalis LA, Lobo LL, Junqueira VB, Tufik S. Absence of oxidative stress following paradoxical sleep deprivation in rats. *Neurosci Lett*. 1997; 235(1-2): 25-28. doi: 10.1016/S0304-3940(97)00706-4
56. Cirelli C, Shaw PJ, Rechtschaffen A, Tononi G. No evidence of brain cell degeneration after long-term sleep deprivation in rats. *Brain Res*. 1999; 840(1-2): 184-193. doi: 10.1016/S0006-8993(99)01768-0
57. Gopalakrishnan A, Ji LL, Cirelli C. Sleep deprivation and cellular responses to oxidative stress. *Sleep*. 2004; 27(1): 27-35. doi: 10.1093/sleep/27.1.27
58. Atrooz F, Liu H, Kochi C, Salim S. Early life sleep deprivation: role of oxido-inflammatory processes. *Neuroscience*. 2019; 406: 22-37. doi: 10.1016/j.neuroscience.2019.02.021
59. D'Almeida V, Lobo LL, Hipólido DC, de Oliveira AC, Nobrega JN, Tufik S. Sleep deprivation induces brain region-specific decreases in glutathione levels. *Neuroreport*. 1998; 9(12): 2853-2856. doi: 10.1097/00001756-199808240-00031
60. Silva RH, Abilio VC, Takatsu AL, Kameda SR, Grassl C, Chehin AB, et al. Role of hippocampal oxidative stress in memory deficits induced by sleep deprivation in mice. *Neuropharmacology*. 2004; 46(6): 895-903. doi: 10.1016/j.neuropharm.2003.11.032
61. Semenova N, Madaeva I, Bairova T, Kolesnikova L. Association lipid peroxidation and antioxidant system activity with glutathione s-transferase M1 genotype in menopausal women with insomnia. *Maturitas*. 2019; 124: 163-164. doi: 10.1016/j.maturitas.2019.04.146
62. Semenova N, Madaeva I, Bairova T, Kolesnikov S, Kolesnikova L. Lipid peroxidation depends on the clock 311T/C gene polymorphism in menopausal women with Insomnia. *Chronobiol Int*. 2019; 36(10): 1399-1408. doi: 10.1080/07420528.2019.1647436
63. Cudney LE, Sassi RB, Behr GA, Streiner DL, Minuzzi L, Moreira JC, et al. Alterations in circadian rhythms are associated with increased lipid peroxidation in females with bipolar disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2014; 17(5): 715-722. doi: 10.1017/S1461145713001740
64. Passali D, Corallo G, Yaremchuk S, Longini M, Proietti F, Passali GC, et al. Oxidative stress in patients with obstructive sleep apnoea syndrome. *Acta Otorhinolaryngol Ital*. 2015; 35(6): 420-425. doi: 10.14639/0392-100X-895
65. Celec P, Hodossy J, Behuliak M, Palffy R, Gardlik R, Halcak L, et al. Oxidative and carbonyl stress in patients with obstructive sleep apnea treated with continuous positive airway pressure. *Sleep Breath*. 2012; 16: 393-398. doi: 10.1007/s11325-011-0510-4
66. Christou K, Markoulis N, Moulas AN, Pastaka C, Gourgoulis KI. Reactive oxygen metabolites (ROMS) as an index of oxidative stress in obstructive sleep apnea patients. *Sleep Breath*. 2003; 7(03): 105-110. doi: 10.1055/s-2003-43071
67. Svatikova A, Wolk R, Lerman LO, Juncos LA, Greene EL, McConnell JP, et al. Oxidative stress in obstructive sleep apnoea. *Eur Heart J*. 2005; 26(22): 2435-2439. doi: 10.1093/eurheartj/ehi440
68. Ntalapascha M, Makris D, Kyparos A, Tsiloni I, Kostikas K, Gourgoulis K, et al. Oxidative stress in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep Breath*. 2013; 17(2): 549-555. doi: 10.1007/s11325-012-0718-y
69. Baysal E, Taysi S, Aksoy N, Uyar M, Celenk F, Karatas ZA, et al. Serum paraoxonase, arylesterase activity and oxidative status in patients with obstructive sleep apnea syndrome (OSAS). *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2012; 16(6): 770-774.
70. Lee SD, Ju G, Choi JA, Kim JW, Yoon IY. The association of oxidative stress with central obesity in obstructive sleep apnea. *Sleep Breath*. 2012; 16(2): 511-517. doi: 10.1007/s11325-011-0536-7
71. Köken G, Kir Sahin F, Cosar E, Saylan F, Yilmaz N, Altuntas I, et al. Oxidative stress markers in pregnant women who snore and fetal outcome: a case control study. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2007; 86(11): 1317-1321. doi: 10.1080/00016340701662183
72. Čekerevac I, Jakovljević V, Živković V, Petrović M, Čupurdija V, Novković L. Impact of severity of obstructive sleep apnea (OSA) and body composition on redox status in OSA patients. *Vojnosanitetski pregled*. 2018; 75(11): 1089-1093. doi: 10.2298/VSP161030041C

73. Papanikolaou J, Ntalapascha M, Makris D, Koukoubani T, Tsolaki V, Zakyntinos G, et al. Diastolic dysfunction in men with severe obstructive sleep apnea syndrome but without cardiovascular or oxidative stress-related comorbidities. *Ther Adv Resp Dis*. 2019; 13: 1-15. doi: 10.1177/1753466619880076
74. Madayeva IM, Kolesnikova LI, Petrova VA, Shevyrta-lova ON, Sholokhov LF. Changes in the processes of the lipid peroxidation and antioxidant defense system in patients with obstructive sleep apnoea syndrome. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya*. 2009; 3: 24-27. (In Russ.)
75. Li J, Wang L, Jiang M, Mao Y, Pan X. Relationship between serum homocysteine level and oxidative stress in patients with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. *Zhonghua yi xue za zhi*. 2014; 94(32): 2510-2513. doi: 10.3760/cma.j.is.n.0376-2491.2014.32.007
76. Sales LV, de Bruin VMS, D'Almeida V, Pompeia S, Bueno OFA, Tufik S, et al. Cognition and biomarkers of oxidative stress in obstructive sleep apnea. *Clinics*. 2013; 68(4): 449-455. doi: 10.6061/clinics/2013(04)03
77. Wang P, Li J, Cao H, Shen Y. The effect of oxidative stress on obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome combined with hypertension. *J Clin Otorhinolaryngol Head Neck Surg*. 2014; 28(9): 604-606.
78. Rousseau AS, Richer C, Richard MJ, Favier A, Margaritis I. Plasma glutathione peroxidase activity as a potential indicator of hypoxic stress in breath-hold diving. *Aviat Space Environ Med*. 2006; 77(5): 551-555.
79. Ramanathan L, Gozal D, Siegel JM. Antioxidant responses to chronic hypoxia in the rat cerebellum and pons. *J Neurochem*. 2005; 93(1): 47-52. doi: 10.1111/j.1471-4159.2004.02988.x
80. Ramanathan L, Siegel JM. Sleep deprivation under sustained hypoxia protects against oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 2011; 51(10): 1842-1848. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.08.016

Сведения об авторах

Бричагина Анастасия Сергеевна – аспирант, лаборант-исследователь лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: tasi1212@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1055-4608>

Семёнова Наталья Викторовна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: natkor_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6512-1335>

Мадаева Ирина Михайловна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патофизиологии, руководитель Сомнологического центра, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nightchild@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3423-7260>

Information about the authors

Anastasiya S. Brichagina – Postgraduate, Research Assistant at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: tasi1212@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1055-4608>

Natalya V. Semenova – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: natkor_84@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6512-1335>

Irina M. Madaeva – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Director of Somnological Centre, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nightchild@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3423-7260>

Статья получена: 10.06.2020. Статья принята: 03.09.2020. Статья опубликована: 26.10.2020.

Received: 10.06.2020. Accepted: 03.09.2020. Published: 26.10.2020.

НЕВРОЛОГИЯ И НЕЙРОХИРУРГИЯ NEUROLOGY AND NEUROSURGERY

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.16

Исследование интраоперационных биоптатов *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала методом полимеразной цепной реакции

Родионова Л.В.^{1,2}, Самойлова Л.Г.¹, Богородская С.Л.¹, Горохова В.Г.¹, Сорокинов В.А.^{1,2}

¹ ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия);

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

Автор, ответственный за переписку: Родионова Любовь Викторовна, e-mail: greidmacho@yandex.ru

Резюме

Ligamentum flavum участвует в развитии стенозирующего процесса позвоночного канала и дурального мешка, но механизмы, лежащие в основе дегенеративно-дистрофических изменений, изучены ещё недостаточно.

Цель работы. Исследовать экспрессию генов-кандидатов, принимающих участие в метаболизме соединительной ткани в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка поясничного отдела позвоночника.

Материалы и методы. Из интраоперационных биоптатов *Ligamentum flavum* 33 человек (16 мужчин и 17 женщин) со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка поясничного отдела позвоночника выделяли РНК, проводили обратную транскрипцию и ставили real-time ПЦР (CFX96, Biorad) со специфическими праймерами.

Результаты. Приведены характеристики экспрессии генов-кандидатов, активных в *Ligamentum flavum* обследованного контингента пациентов: генов ацетилтрансфераз NAT1 и NAT2; генов, определяющих интенсивность локального метаболизма (Dio1, Dio2 и Dio3); генов-рецепторов к эстрадиолу ESR1 и ESR2; генов, кодирующих рецепторы к факторам роста и паратиреоидному гормону. Во всех образцах *Ligamentum flavum* обнаружена активность генов AANAT, ESR2, FGFR1, FGFR3, NAA20, PTH1R и PTH2R. В подавляющем большинстве образцов (93,9–97,0%) были активны гены PDGFA, ESR1, CALCR, PDGFB. В 21,2–39,4 % образцов было выявлено «молчание» генов Dio1, Dio2, Dio3, NAT2 и GDF5, и только в 39,4 % образцов выявлены транскрипты гена NAT1. Наибольшая гетерогенность содержания транскриптов наблюдалась для генов Dio1, NAT2 и Dio2. Наиболее стабильной экспрессией в ткани *Ligamentum flavum* с узким диапазоном колебаний отличались гены с высоким уровнем активности AANAT, ESR2, NAA20 и гены со средним уровнем активности FGFR1, FGFR3, PTH1R и PTH2R.

Заключение. *Ligamentum flavum* является перспективным малоизученным субстратом для молекулярно-генетических исследований. Выявленные особенности локальной экспрессии генов в очаге патологии дают новую информацию о патогенезе стенозирующих процессов позвоночного канала и дурального мешка поясничного отдела позвоночника.

Ключевые слова: стеноз позвоночного канала, дегенеративно-дистрофические заболевания позвоночника, *Ligamentum flavum*, экспрессия генов, real-time ПЦР

Для цитирования: Родионова Л.В., Самойлова Л.Г., Богородская С.Л., Горохова В.Г., Сорокинов В.А. Исследование интраоперационных биоптатов *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала методом полимеразной цепной реакции. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 144-150. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.16

Molecular Genetic Studies of Intraoperative *Ligamentum Flavum* Biopsies of Patients with Spinal Canal Stenosis

Rodionova L.V.^{1,2}, Samoilova L.G.¹, Bogorodskaya S.L.¹, Gorokhova V.G.¹, Sorokovikov V.A.^{1,2}

¹ Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation);

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

Corresponding author: Lyubov V. Rodionova, e-mail: greidmacho@yandex.ru

Abstract

Background. *Ligamentum flavum* is involved in the development of stenosis of the spinal canal and dural sac, but the mechanisms underlying degenerative-dystrophic changes have not yet been sufficiently studied.

Aim. To study the expression of candidate genes potentially involved in connective tissue metabolism in intraoperative samples of *Ligamentum flavum* of patients with stenosis processes of spinal canal and dural sac on the lumbar spine. **Materials and methods.** During the surgical treatment, *Ligamentum flavum* biopsies were collected from 33 people with stenosis processes of spinal canal and dural sac on the lumbar spine (16 men, 17 women). RNA was isolated, then reverse transcription was performed. After that, real time PCR was performed (CFX96, Biorad) with the specific primers (RealTimePrimers.com).

Results. The characteristics of the expression of candidate genes that are active in the *Ligamentum flavum* of the examined patient population are given: NAT1 and NAT2 acetyltransferase genes; genes that determine the intensity of local metabolism (Dio1, Dio2 and Dio3); estradiol receptor genes ESR1 and ESR2; genes encoding receptors for growth factors and parathyroid hormone. All *Ligamentum flavum* samples showed activity of the NAT, ESR 2, FGFR1, FGFR3, NAA20, PTH1R, and PTH2R genes. In the vast majority of samples (93.9–97.0 %), the following genes were active: PDGFA, ESR1, CALCR, and PDGFB. In 21.2–39.4 % of samples, “silence” of the Dio1, Dio2, Dio3, NAT2 and GDF5 genes was detected, and only 39.4 % of samples revealed NAT1 transcripts. The highest heterogeneity of transcript content was observed for Dio1, NAT2, and Dio2. The most stable expression in *Ligamentum flavum* tissue and a narrow range of fluctuations were characterized by genes with a high level of activity AANAT, ESR2, NAA20 and genes with an average level of activity FGFR1, FGFR3, PTH1R and PTH2R.

Conclusions. *Ligamentum flavum* is a promising little-studied substrate for molecular genetic research. The revealed features of gene expression provide new information about pathogenesis, and the new fundamental knowledge obtained can provide a basis for developing methods for preventing the development of epidural fibrosis.

Key words: stenosis of the spinal canal, degenerative spine disorders, *Ligamentum flavum*, gene expression, real time PCR

For citation: Rodionova L.V., Samoilova L.G., Bogorodskaya S.L., Gorokhova V.G., Sorokovikov V.A. Molecular Genetic Studies of Intraoperative *Ligamentum Flavum* Biopsies of Patients with Spinal Canal Stenosis. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 144-150. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.16

ВВЕДЕНИЕ

Недостаточная изученность закономерностей и механизмов, приводящих к развитию дегенеративно-дистрофической патологии позвоночника, не позволяет предложить патогенетически обоснованную коррекцию, направленную на профилактику или замедление развития заболевания [1, 2].

Жёлтая связка (*Ligamentum flavum*) является важным компонентом в патологическом механизме формирования стеноза позвоночного канала и дурального мешка [3]. Обсуждается значение гипертрофии жёлтой связки и её оксификации в данном процессе [4, 5]. Несмотря на значимость проблемы, молекулярные механизмы, лежащие в основе дегенеративно-дистрофических изменений *Ligamentum flavum*, ещё только начинают изучаться.

При оперативном лечении стенозирующих процессов позвоночного канала возможен отбор образцов *Ligamentum flavum* с последующим изучением в биопсийном материале профиля экспрессии ключевых генов, задающих векторы метаболических процессов. Подобные исследования, в частности, могут прояснить, с экспрессией каких генов связаны изменение активности и баланса анаболических и катаболических процессов в ткани связки, снижение доли эластина и развитие фиброза. Это поможет выявить критические механизмы, связанные с формированием дизадаптации, а также дать ценную информацию для анализа молекулярных механизмов патогенеза при стенозировании позвоночного канала.

Локальное или системное воздействие на данные процессы может оказаться эффективным для предотвращения прогрессирования болезни.

При анализе литературы выявлено, что экспрессия генов в *Ligamentum flavum* с недавнего времени вызывает интерес исследователей, но к нынешнему моменту достигнуты лишь некоторые успехи: выявлена ассоциация гипертрофии жёлтой связки у пациентов с люмбальным стенозом с повышенной экспрессией фактора роста соединительной ткани CTGF [6] и тромбоцитарного фактора роста PDGF-BB [7]. Несколько работ посвящены экспрессии фактора роста и дифференцировки GDF5, проявляющего остеогенные эффекты на культуре

клеток [8]. Выявлено участие рецептора фактора роста фибробластов (FGFR3) в оксификации с помощью митоген-активируемого протеин-киназного (МАРК) пути [9]. Обнаружено дозозависимое влияние эстрогенов на регуляцию клеточной пролиферации и деградации коллагена [10].

Однако, несмотря на интерес исследователей, пока остаются недостаточно изученными клеточные механизмы, лежащие в основе фиброзного разрастания и оксификации жёлтой связки, ведущие к стенозированию позвоночного канала. Предполагаем, что исследование нового перспективного субстрата для молекулярно-генетических исследований экспрессии ключевых генов, определяющих метаболизм соединительной ткани *Ligamentum flavum*, позволит выявить молекулярно-генетические особенности течения дегенеративно-дистрофической патологии позвоночника.

В соответствии с вышеперечисленным была поставлена **цель:** исследовать экспрессию генов-кандидатов, потенциально принимающих участие в метаболизме соединительной ткани в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозами позвоночного канала и дурального мешка поясничного отдела позвоночника.

МЕТОДЫ

Исследование жёлтой связки проведено в группе пациентов со стенозами позвоночного канала и дурального мешка, локализованными в поясничном отделе, – 33 человека, из которых 17 женщин и 16 мужчин. Больные включались в исследование методом сплошной выборки. Биоптаты *Ligamentum flavum*, собранные интраоперационно, замораживали в жидком азоте, гомогенизировали и экстрагировали из них РНК с использованием колоночных наборов реагентов «RNeasy® Fibrous Tissue Mini Kit» (Qiagen, Германия). После проведения обратной транскрипции с применением реагентов Promega (США) с кДНК ставили полимеразную цепную реакцию на термочиклере CFX96 (Biorad, США) со специфичными праймерами RealTimePrimers.com. Расшифровка аббревиатур, обозначающих гены, приведена в таблице 1.

Таблица 1

Перечень референтных последовательностей и праймеров генов-кандидатов

Table 1

List of reference sequences and primers of candidate genes

RefSeq accession Gene Bank	Обозначение гена	Кодируемый белок	Прямой праймер	Обратный праймер
NM_001088	AANAT	Арилалкил N-ацетилтрансфераза	CTCTCCACAGTCCAGGTGCTG	GAGGCAGCGAACTCACTGG
NM_001742	CALCR	Рецептор кальцитонина	CTTCCCGGGTTGGAGAAGTG	GAAGCAAAGGGTGTTCGCAG
NM_000792.5	Dio1	DIO1 йодтиронин дейодиназа I типа	AGTCAAGCGGAACATCCTGG	CGGACCTTCAAGACGAACCA
NM_000793.6	Dio2	DIO2 йодтиронин дейодиназа II типа	TAACAACTCGGATGGGTGCT	GACGCCTTGGGAGGTATGAG
NM_001362.3	Dio3	DIO3 йодтиронин дейодиназа III типа	GTGATGTCGTGGATGGGGAG	AAGCAGACACCCCACTTCC
NM_000125.4	ESR1	Рецептор к эстрагену 1-го типа	TTCGTCTGGGACTGCACTT	CAGGGCAGAAGGCTCAGAAA
NM_001437.3	ESR2	Рецептор к эстрагену 2-го типа (ER beta)	CCTCGAGTGGGCAGTATCAG	CTTTTGTCTTGTGTCCCGCC
NM_015850.4	FGFR1	Рецептор 1 к фактору роста фибробластов	ATTCTGCCTTGGCCCTACC	CTAGCGCAGTCTTTGGGAA
NM_000142.5	FGFR3	Рецептор 3 к фактору роста фибробластов	AGGAGCTCTTCAAGCTGCTG	AGGTCCAGGTACTCGTCGG
NM_000557.5	GDF5	Фактор 5 роста и дифференцировки	GTCCACGAGAAAGCCCTGTT	GCTGGCTGAACAGGTACTCA
NM_016100.5	NAA20	N(alpha)-acetyltransferase 20, NatB catalytic subunit	CCCTGGGCAGTGGTTCTTAG	TCCTTCTGACCTAGCTGCCT
NM_000662.8	NAT1	N-ацетилтрансфераза 1-го типа	GACCTTGGATGTGGGAGGAT	ACAGCTCGGATCTGGTGTG
NM_000015.3	NAT2	N-ацетилтрансфераза 2-го типа	TTACAGACCTTGAAGCAAGAGG	GGTTCTCAAAGGGAACAGCC
NM_002607.6	PDGFA	Тромбоцитарный фактор роста, альфа-полипептид	GGTCGCTCCTGAAGCCAG	GGAGGAGAAACAGGGAGTGC
NM_002608.4	PDGFB	Тромбоцитарный фактор роста, бета-полипептид	CCAGCGCCCATTTTTTCATTCC	CCGGTTTTCTCTTGCAGCG
NM_000316.3	PTH1R	Рецептор 1 к паратиреоидному гормону	GGCCAACTTGAGTCTGCTCT	AGTTTCTCATCTGCAGCCC
NM_005048.3	PTH2R	Рецептор 2 к паратиреоидному гормону	CGTCGTTACTGGCCACAAGT	ATTAGCCAACCCAGACGTG
NM_003255	ACTB	Актин-бета	CTCGCCTTTGCCGATCC	GGGGTACTTCAGGGTGAGGA
NM_004048.4	B2M	Бета-2-микроглобулин	ACACTGAATTCACCCCCCACT	TGCGGCATCTTCAAACCTCC
NM_001270491.2	RPL13A	Рибосомальный белок 13a	GCCATCGTGGCTAAACAGTG	TGCCGTCAAACACCTTGAGA
NM_002046.7	GAPDH	Глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназа	GACAGTCAGCCGCATCTTCT	GCGCCCAATACGACCAAATC

Контроль специфичности синтеза проводили с использованием кривых плавления ампликонов. В качестве генов «домашнего хозяйства» применяли ACTB, кодирующий (β)-актин; GAPDH, кодирующий глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу; RPL13A, ответственный за 60S рибосомальный белок L13a; B2M, кодирующий 2-микроглобулин. Подробная технология подготовки образцов и методики исследования детально описаны в ранее опубликованных работах [11]. Исследование одобрено локальным этическим комитетом, всеми пациентами было подписано добровольное информированное согласие.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проблема оптимального выбора морфологического субстрата для молекулярно-генетических исследований

процессов, протекающих в зоне патологии при стенозах позвоночного канала, обуславливается тем, что необходимо получить достаточное количество гистологически однородного материала за как можно более короткое время, чтобы оперирующий хирург не отвлекался на тонкую препаровку материала и имел возможность быстрой его консервации.

В каждом виде биологической ткани имеется уникальный профиль экспрессии генов, характерный именно для этого вида биологического субстрата. Поэтому для молекулярно-генетических исследований важно иметь возможность изолировать достаточное количество только одной структуры без примеси других тканей, которые даже в малом объеме могут «смазать» картину экспрессии

и увеличить межиндивидуальную ошибку определения, что будет маскировать истинно протекающие процессы в исследуемом субстрате. Жёлтая связка, по нашему мнению, является перспективным и малоисследованным материалом, который находится непосредственно в патологическом очаге и может быть получен во время операции по декомпрессии и реконструкции позвоночного канала с интеграцией системы транспедикулярной фиксации.

В качестве критериев выбора генов-кандидатов нами определены: недостаточная изученность механизмов влияния на развитие дегенеративно-дистрофических процессов соединительной ткани; доказанное и/или потенциальное участие в метаболизме соединительной ткани; участие в регуляции активности локального метаболизма посредством периферической конверсии йодтиронинов; влияние на процессы оссификации и пролиферации (рис. 1).

С использованием вышеприведённой схемы проведена серия работ [11, 12, 13], в результате которых определены группы генов, экспрессирующихся в *Ligamentum flavum* обследованного контингента пациентов: гены, кодирующие ацетилтрансферазы (NAT1 и NAT2); гены, определяющие интенсивность локального метаболизма (Dio1, Dio2 и Dio3); гены, кодирующие рецепторы к эстрадиолу (ESR1 и ESR2); гены, кодирующие рецепторы к факторам роста и паратиреоидному гормону (рис. 1). Более подробный анализ экспрессии генов, ответственных за реакции ацетилирования, экспрессию рецепторов к половым стероидам и к основным факторам конверсии йодтиронинов, приведён в ранее опубликованных работах [11, 12, 13].

Обнаруженная активная экспрессия генов ESR1 и ESR2 в жёлтой связке обсуждена в нашей работе [12] и согласуется с результатами исследований, проведенных М.-Н. Chen et al. [10] с использованием других методов. Мы считаем, что данный факт, очевидно, свидетельствует о наличии, востребованности и активном синтезе рецепторов к эстрогенам ESR1 и ESR2 в *Ligamentum flavum* больных со стенозами позвоночного канала [12]. Выраженность экспрессии генов, кодирующих рецепторы к эстрадиолу, может быть одним из факторов, определяющих половозрастные различия в течении дегенеративно-дистрофической патологии позвоночника, а также указывает на участие половых гормонов в интенсифика-

ции синтеза соединений, необходимых при активации метаболических процессов и разрастании тканей [12].

С использованием современных молекулярно-генетических методов нами впервые установлено, что в *Ligamentum flavum* больных с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями позвоночника выражена экспрессия генов ацетилтрансфераз: NAT1, NAT2, AANAT, NAA20. Это может свидетельствовать о ранее неизвестной роли процессов ацетилирования в метаболизме соединительной ткани [11]. Часть выявленных вариантов экспрессии ацетилтрансфераз может быть охарактеризована как фактор склонности к развитию оссификации *Ligamentum flavum* [11].

При рассмотрении индивидуальных паттернов экспрессии генов, отражающих периферическую конверсию йодтиронинов в ткани *Ligamentum flavum*, была отмечена их многовариантность, что свидетельствует о гетерогенности локального метаболизма, возможно, вызванной различиями клинических вариантов течения дегенеративно-дистрофической патологии позвоночника [13].

В качестве критерия степени активности использовали деление всего диапазона выявления экспрессии на три одинаковых отрезка. Те гены, пороговый цикл (Ct) которых находился на первой трети всего диапазона изменений, считали высокоактивными; гены с пороговым циклом, расположенным в средней трети диапазона, – генами со средней активностью; гены с Ct в последней трети диапазона – низкоактивными. Таким образом, по возрастанию интенсивности экспрессии гены-кандидаты были оценены следующим образом: 1) как высокоактивные – ESR1, AANAT, ESR2, NAA20; 2) как гены со средней активностью – PDGFA, PTH1R, PTH2R, PDGFB, CALCR, FGFR1, FGFR3, Dio1, Dio2; 3) как гены со слабой активностью – NAT2, GDF5, Dio3, NAT1 (рис. 2).

Характеристики активности генов-кандидатов в ткани *Ligamentum flavum* приведены в таблице 2.

Абсолютно во всех образцах (100 %) *Ligamentum flavum* была обнаружена активность генов AANAT, ESR2, FGFR1, FGFR3, NAA20, PTH1R, PTH2R и генов «домашнего хозяйства» ACTB, GADP, RPL13A. В подавляющем большинстве образцов (93,9–97,0 %) были активны гены PDGFA, ESR1, CALCR, PDGFB. В 21,2–39,4 % образцов было выявлено «молчание» генов Dio1, Dio2, Dio3, NAT2 и GDF5. Только в 39,4 % образцов выявлены транскрипты NAT1 (см. табл. 1).

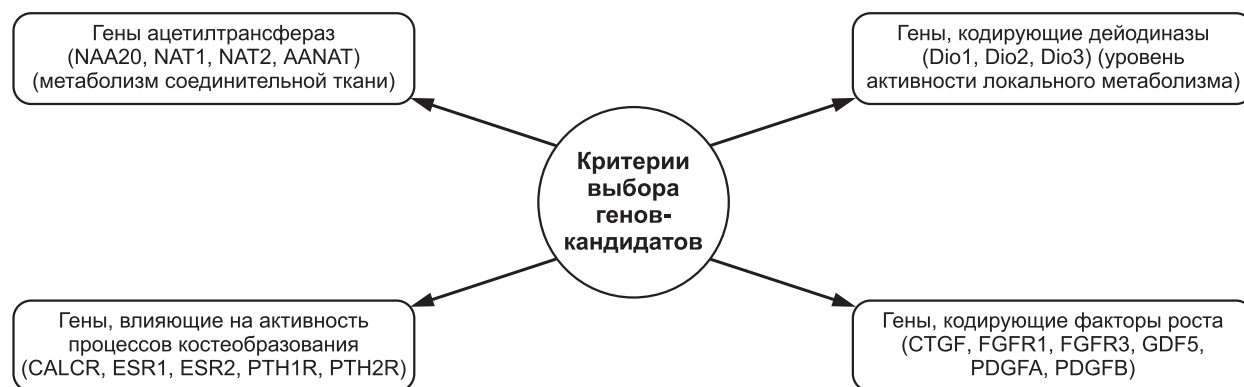


Рис. 1. Критерии выбора генов-кандидатов

Fig. 1. Criteria of selection of the candidate genes

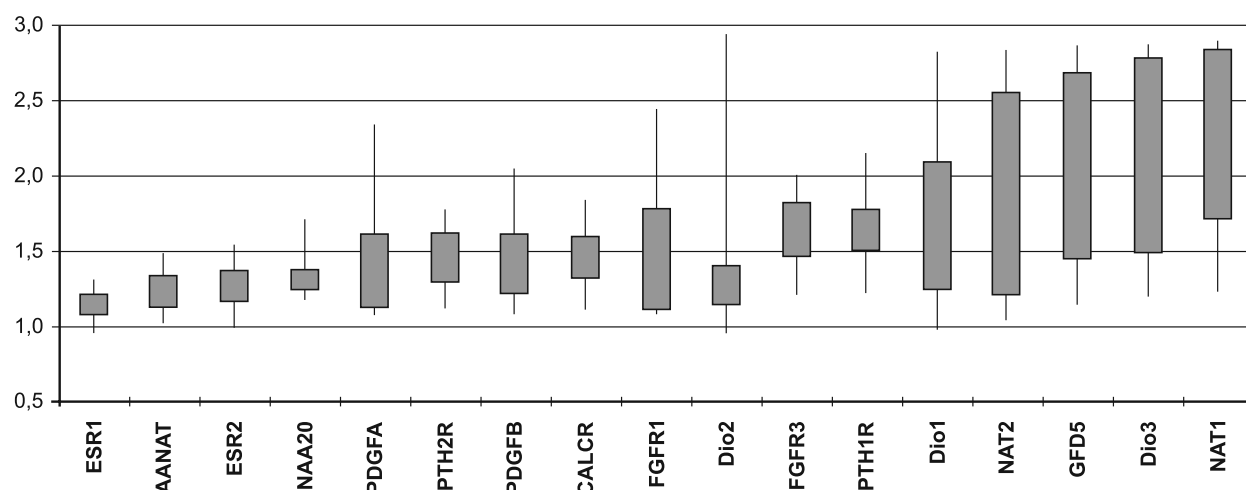


Рис. 2. Экспрессия генов-кандидатов в интраоперационных биоптатах *Ligamentum flavum*, ранжированная по степени активности (по оси ординат – пороговый цикл Ct: чем активнее экспрессия, тем меньше Ct)

Fig. 2. Expression of candidate genes in *Ligamentum flavum* intraoperative biopsy samples ranked according to the degree of activity (ordinate axis is Ct threshold cycle: the more active the expression, the less Ct)

Таблица 2
Характеристики выявленной экспрессии генов-кандидатов в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum*

Table 2
Characteristics of the expression of candidate genes in *Ligamentum flavum* intraoperative samples

Обозначение гена	Количество наблюдений (n)	Среднее арифметическое значение порогового цикла (Ct ср.) после стандартизации	Стандартное отклонение	Ошибка среднего арифметического, выраженная в процентах от среднего арифметического значения	Процент выявления от численности исследуемой совокупности биоптатов
AANAT	33	1,246	0,159	12,79	100
CALCR	32	1,460	0,237	16,27	97
Dio1	23	1,684	0,608	36,08	69,7
Dio2	22	1,487	0,774	52,06	66,7
Dio3	20	2,072	0,682	32,93	60,6
ESR1	32	1,141	0,110	9,63	97
ESR2	33	1,282	0,175	13,63	100
FGFR1	33	1,460	0,493	33,80	100
FGFR3	33	1,645	0,257	15,61	100
GDF5	26	2,015	0,654	32,47	78,8
NAA20	33	1,360	0,172	12,66	100
NAT1	13	2,196	0,661	30,11	39,4
NAT2	24	1,913	0,714	37,32	72,7
PDGFA	31	1,429	0,467	32,67	93,9
PDGFB	32	1,453	0,322	22,16	97
PTH1R	33	1,658	0,255	15,38	100
PTH2R	33	1,441	0,212	14,73	100
ACTB*	33	1	0	0,00	100
GADP	33	1,070	0,082	7,68	100
RPL13A	33	0,974	0,104	10,70	100

Примечание. * – выбран для стандартизации данных как наименее вариабельный.

Из таблицы 1 (предпоследний столбец) видно, что наибольшая гетерогенность содержания транскриптов наблюдалась для Dio1, NAT2 и Dio2. Как описано нами ранее [11, 12, 13], эти показатели могут отражать клинические особенности течения дегенеративно-дис-

трофических процессов в соединительной ткани. Таким образом, наиболее стабильной экспрессией в ткани *Ligamentum flavum* и узким диапазоном колебаний отличались гены с высоким (AANAT, ESR2, NAA20) и средним (FGFR1, FGFR3, PTH1R и PTH2R) уровнями активности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенной нами серии работ по исследованию экспрессии генов-кандидатов в *Ligamentum flavum* показано, что жёлтая связка является новым перспективным субстратом для молекулярно-генетических исследований. Впервые выявленные особенности экспрессии генов в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum* больных со стенозированием позвоночного канала и сужением дурального мешка дают новую информацию о патогенезе заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Животенко А.П., Кошкарёва З.В., Сороковиков В.А. Профилактика послеоперационного рубцово-спаечного эпидурита: современное состояние вопроса. *Хирургия позвоночника*. 2019; 16(3): 74-81. doi: 10.14531/ss2019.3.74-81
2. Кириенко А.Н., Сороковиков В.А., Поздеева Н.А. Дегенеративно-дистрофические поражения шейного отдела позвоночника. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2015; 7: 21-25.
3. Lan X, Gao J, Xu JZ, Liu XM. Treatment of ossification of ligamentum flavum complicated with lumbar spinal stenosis. *Zhongguo Gu Shang*. 2017; 30(2): 175-178. doi: 10.3969/j.issn.1003-0034.2017.02.016
4. Haig AJ, Adewole A, Yamakawa KSJ, Kelemen B, Aagesen AL. The *Ligamentum flavum* at L4-5: Relationship with anthropomorphic factors and clinical findings in older persons with and without spinal disorders. *PMR*. 2012; 4(1): 23-29.
5. Rahimizadeh A, Soufiani H, Amirzadeh M, Rahimizadeh Sh. Ossification of the Ligamentum Flavum of the Lumbar Spine in Caucasians: Case Series. *J Spine Neurosurg*. 2017. 6(5). doi: 10.4172/2325-9701.1000283
6. Zhong ZM, Zha DS, Xiao WD, Wu SH, Wu Q, Zhang Y, et al. Hypertrophy of *Ligamentum flavum* in lumbar spine stenosis associated with the increased expression of connective tissue growth factor. *J Orthop Res*. 2011; 29(10): 1592-1597. doi: 10.1002/jor.21431
7. Zhang Y, Xu XM, Wu SP, Xia XZ, Li CT, Dedg CL, et al. Overexpression of platelet-derived growth factor-BB in degenerative hypertrophied *Ligamentum flavum*. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2011; 31(7): 1268-1272.
8. Zhong ZM, Chen JT, Zhang Y, Zha DS, Lin ZS, Zhao CY, et al. Growth/differentiation factor-5 induces osteogenic differentiation of human *Ligamentum flavum* cells through activation of ERK1/2 and p38 MAPK. *Cell Physiol Biochem*. 2010; 26(2): 179-186. doi: 10.1159/000320526
9. Matsushita T, Wilcox WR, Chan YY, Kawanami A, Bükülmez H, Balmes G, et al. FGFR3 promotes synchondrosis closure and fusion of ossification centers through the MAPK pathway. *Hum Mol Genet*. 2009; 18(2): 227-240.
10. Chen MH, Hu CK, Chen PR, Chen YS, Sun JS, Chen MH. Dose-dependent regulation of cell proliferation and collagen degradation by estradiol on ligamentum flavum. *BMC Musculoskelet Disord*. 2014; 15: 238. doi: 10.1186/1471-2474-15-238
11. Родионова Л.В., Самойлова Л.Г., Шурыгина И.А., Склярёнок О.В., Животенко А.П., Кошкарёва З.В., и др. Особенности реакций ацетилирования у больных со стенозирующим процессом позвоночного канала и дурального мешка поясничного отдела позвоночника в зависимости от выраженности оксификации *Ligamentum flavum*. *Патогенез*. 2020; 13(3): 45-52. doi: 10.25557/2310-0435.2020.03.45-52
12. Родионова Л.В., Сороковиков В.А., Самойлова Л.Г., Негреева М.Б., Склярёнок О.В., Кошкарёва З.В. Исследование факторов, определяющих половозрастные различия в течении дегенеративно-дистрофической патологии позвоночника, осложненной стенозом позвоночного канала. *Современные проблемы науки и образования*. 2016; 6: 200. URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=25829>.

13. Родионова Л.В., Самойлова Л.Г., Небезина А.В., Шурыгина И.А. Экспрессия генов дейодиназ в интраоперационных образцах *Ligamentum flavum* пациентов со стенозирующими процессами позвоночного канала и дурального мешка на поясничном отделе позвоночника. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(6): 20-25. doi: 10.29413/ABS.2019-4.6.3

REFERENCES

1. Zhivotenko AP, Koshkareva ZV, Sorokovikov VA. Prevention of postoperative epidural fibrosis: current state of the issue. *Spine Surgery*. 2019; 16(3): 74-81. doi: 10.14531/ss2019.3.74-81. (In Russ.)
2. Kirienko AN, Sorokovikov VA, Pozdeeva NA. Degenerative-dystrophic cervical spine disorders (review of literature). *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*. 2015; 7: 21-25. (In Russ.)
3. Lan X, Gao J, Xu JZ, Liu XM. Treatment of ossification of Ligamentum flavum complicated with lumbar spinal stenosis. *Zhongguo Gu Shang*. 2017; 30(2): 175-178. doi: 10.3969/j.issn.1003-0034.2017.02.016
4. Haig AJ, Adewole A, Yamakawa KSJ, Kelemen B, Aagesen AL. The *Ligamentum flavum* at L4-5: Relationship with anthropomorphic factors and clinical findings in older persons with and without spinal disorders. *PMR*. 2012; 4(1): 23-29.
5. Rahimizadeh A, Soufiani H, Amirzadeh M, Rahimizadeh Sh. Ossification of the Ligamentum Flavum of the Lumbar Spine in Caucasians: Case Series. *J Spine Neurosurg*. 2017. 6(5). doi: 10.4172/2325-9701.1000283
6. Zhong ZM, Zha DS, Xiao WD, Wu SH, Wu Q, Zhang Y, et al. Hypertrophy of *Ligamentum flavum* in lumbar spine stenosis associated with the increased expression of connective tissue growth factor. *J Orthop Res*. 2011; 29(10): 1592-1597. doi: 10.1002/jor.21431
7. Zhang Y, Xu XM, Wu SP, Xia XZ, Li CT, Dedg CL, et al. Overexpression of platelet-derived growth factor-BB in degenerative hypertrophied *Ligamentum flavum*. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2011; 31(7): 1268-1272.
8. Zhong ZM, Chen JT, Zhang Y, Zha DS, Lin ZS, Zhao CY, et al. Growth/differentiation factor-5 induces osteogenic differentiation of human *Ligamentum flavum* cells through activation of ERK1/2 and p38 MAPK. *Cell Physiol Biochem*. 2010; 26(2): 179-186. doi: 10.1159/000320526
9. Matsushita T, Wilcox WR, Chan YY, Kawanami A, Bükülmez H, Balmes G, et al. FGFR3 promotes synchondrosis closure and fusion of ossification centers through the MAPK pathway. *Hum Mol Genet*. 2009; 18(2): 227-240.
10. Chen MH, Hu CK, Chen PR, Chen YS, Sun JS, Chen MH. Dose-dependent regulation of cell proliferation and collagen degradation by estradiol on ligamentum flavum. *BMC Musculoskelet Disord*. 2014; 15: 238. doi: 10.1186/1471-2474-15-238
11. Rodionova LV, Samoylova LG, Shurygina IA, Sklyarenko OV, Zhivotenko AP, Koshkareva ZV, et al. Features of acetylation reactions in patients with stenosing process of the spinal canal and dural sac of the lumbar spine, depending on the severity of ossification of the *Ligamentum flavum*. *Pathogenesis*. 2020. 13(3): 45-52. doi: 10.25557/2310-0435.2020.03.45-52. (In Russ.)
12. Rodionova LV, Sorokovikov VA, Samoylova LG, Negreva MB, Sklyarenko OV, Koshkareva ZV. Investigation of the factors that determine age and sex differences in the course of degenerative-dystrophic pathology of the spine, complicated by spinal stenosis. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*. 2016. 6: 200. URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=25829>. (In Russ.)
13. Rodionova LV, Samoylova LG, Nevezhina AV, Shurygina IA. Expression of deiodinase genes in intraoperative samples of *Ligamentum flavum* in patients with stenotic processes of the spinal canal and dural sac on the lumbar spine. *Acta biomedica scientifica*. 2019. 4(6): 20-25. doi: 10.29413/ABS.2019-4.6.3. (In Russ.)

Сведения об авторах

Родионова Любовь Викторовна – кандидат биологических наук, заведующая лабораторией клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: greidmacho@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5080-9225>

Самойлова Лилия Григорьевна – младший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: popovalg@mail.ru

Богородская Светлана Леонидовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: sbogorodskaya@mail.ru

Горохова Виктория Григорьевна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: iscst@mail.ru

Сороковиков Владимир Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, директор, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и нейрохирургии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: vasorokovikov@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9008-6383>

Information about the authors

Lyubov V. Rodionova – Cand. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Teaching Assistant at the Department of Clinical Laboratory Medicine, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: greidmacho@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-5080-9225>

Liliya G. Samoilova – Junior Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: popovalg@mail.ru

Svetlana L. Bogorodskaya – Cand. Sc. (Biol.), Senior Researcher at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: sbogorodskaya@mail.ru

Viktoria G. Gorokhova – Cand. Sc. (Chem.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: iscst@mail.ru

Vladimir A. Sorokovikov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Head of the Department of Traumatology, Orthopedy and Neurosurgery, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: vasorokovikov@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9008-6383>

Статья получена: 02.11.2020. Статья принята: 10.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.
Received: 02.11.2020. Accepted: 10.11.2020. Published: 26.12.2020.

Мультиспиральная компьютерная томография в оценке сроков формирования острых травматических внутричерепных гематом

Семенов А.В.^{1,2,3}, Крылов В.В.⁴, Сорокинов В.А.^{1,2}, Галеева О.П.⁵

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 ФБГНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия); ³ ОГБУЗ «Иркутская городская клиническая больница № 3» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 31, Россия); ⁴ ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава России (127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20, Россия); ⁵ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Семенов Александр Валерьевич, e-mail: 7enov2001@mail.ru

Резюме

Обоснование. Точные знания о сроках формирования острых травматических внутричерепных гематом (ОТВГ) необходимы для лучшего понимания патофизиологии первичного и вторичного повреждений головного мозга. Вариативность черепно-мозговой травмы (ЧМТ) и индивидуальные анатомические особенности пострадавших определяют сложность вопроса, а также актуальность исследований, приближающих к его решению.

Цель исследования. Оценить возможность использования мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) для определения средних сроков формирования острых эпидуральных (ОЭГ) и субдуральных (ОСГ) гематом.

Методы. Ретроспективно измерены объёмы ОТВГ в мл на 84 МСКТ-исследованиях головного мозга (2018–2019 гг.) у 55 пациентов с ОТВГ (15 пациентов с ОЭГ, 40 – с ОСГ) и изучена их корреляция со сроком выявления ЧМТ. Проведено сравнение средних объёмов ОТВГ среди пациентов, распределённых по группам в соответствии со сроками проведения первичной МСКТ после травмы. Оценена динамика ОТВГ малых объёмов (до 40 мл) у 21 пациента, оставленного для наблюдения.

Результаты. Объём ОЭГ и время их обнаружения не имели прямой корреляции после травмы ($p = 0,05$). Статистически значимого различия средних объёмов ОЭГ по часам диагностики не выявлено; показатель составил в общем $54,1 \pm 19,7$ мл. Прямая корреляция объёма ОСГ и срока ЧМТ выявлена в периоды 1–2 ч ($p = 0,02$) и 1–3 ч ($p = 0,002$; $t = 3,77$) после травмы; обнаружено статистически значимое различие их среднего объёма в сроки 1 ч и 2 ч после травмы ($52 \pm 20,2$ мл и $106,4 \pm 14$ мл соответственно). Увеличение малых ОТВГ обнаружено у 14,3 % пациентов, оставленных для наблюдения.

Заключение. МСКТ можно использовать для определения средних сроков формирования ОТВГ для пострадавших с ЧМТ, поступающих в стационар. Средняя скорость накопления ОТВГ – около 50 мл/ч, а прямая корреляция их объёма и времени диагностики статистически значима только для ОСГ в первые 2–3 ч после травмы.

Ключевые слова: внутричерепная гематома, эпидуральная гематома, субдуральная гематома, срок образования внутричерепных гематом

Для цитирования: Семенов А.В., Крылов В.В., Сорокинов В.А., Галеева О.П. Мультиспиральная компьютерная томография в оценке сроков формирования острых травматических внутричерепных гематом. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 151–156. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.17.

Multispiral Computed Tomography in the Assessment of the Timing of Acute Traumatic Intracranial Hematoma

Semenov A.V.^{1,2,3}, Krylov V.V.⁴, Sorokovikov V.A.^{1,2}, Galeeva O.P.⁵

¹ Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation); ² Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation); ³ Irkutsk City Clinical Hospital N 3 (Timiryazeva str. 31, Irkutsk 664003, Russian Federation); ⁴ A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry (Delegatskaya str. 20, Moscow 127473, Russian Federation); ⁵ Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Aleksandr V. Semenov, e-mail: 7enov2001@mail.ru

Abstract

Background. Exact notion about the timing of acute traumatic intracranial hematomas (ATIH) generation is very important to gain a better understanding of the primary and secondary traumatic brain injury (TBI) pathophysiology. The variety of TBI and individual anatomical features of the victims determine the complexity of the issue, as well as the relevance of studies that bring it closer to its solution.

Aim of the study was to assess the possibility of using multispiral computed tomography (MSCT) to determine the average timing of the formation of epidural and subdural ATIH.

Materials and methods. It is a retrospective study of 84 MSCT investigations of 55 patients with ATIH (epidural – 15, subdural – 40) in Irkutsk City Clinical Hospital N 3 (2018–2019). The ATIH volume calculated by the MSCT. The cor-

relation of ATIH volumes with the period of trauma was studied, as well as a comparison of average volumes of ATIH among patients distributed in groups in line with the hour of primary MSCT after injury. The dynamics of ATIH of small volumes (up to 40 ml) were assessed in 21 patients left under observation.

Results. The volume of epidural ATIH and the time of their detection had no a direct correlation in the period 1 to 4 hours after the injury ($p = 0.05$). There was no reliable difference in their average volumes per hour of diagnosis, amounting to a total of 54.1 ± 19.7 ml. A direct correlation between the volume of subdural ATIH and the duration of trauma was identified during periods of 1–2 hours ($p = 0.02$) and 1–3 hours ($p = 0.002$; $t = 3.77$) after injury; a true difference in their average volume of 1 and 2 hours after the injury (52 ± 20.2 ml and 106.4 ± 14 ml, respectively). Increase in small ATIH found in 14.3 % of patients left under observation.

Conclusions. The MSCT allows us to estimate the average timing of the formation of the main volume of ATIH when hospitalized victims with TBI. The average rate of accumulation of ATIH is about 50 ml per hour, and the direct correlation of their volume and time of diagnosis is reliable the first 2–3 hours after the injury for subdural ATIH only.

Key words: cranial epidural hematoma; acute subdural hematoma; hemorrhages, cranial extradural

For citation: Semenov A.V., Krylov V.V., Sorokovikov V.A., Galeeva O.P. Multispiral Computed Tomography in the Assessment of the Timing of Acute Traumatic Intracranial Hematoma. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 151–156. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.17.

ОБОСНОВАНИЕ

Термин «темп развития гематомы», объясняющий существование подострых и хронических гематом спустя 1–3 недели после травмы, не согласуется с представлениями о сроке их образования. Одни авторы считают, что большинство острых травматических внутричерепных гематом (ОТВГ) свой основной объём набирают в первые минуты, реже – часы после травмы [1], другие указывают на риск дополнительного увеличения ОТВГ спустя 6 часов после травмы [2, 3]. Длительность бессимптомного периода ОТВГ и «светлого промежутка» в неврологическом статусе у пострадавшего может зависеть от скорости формирования ОТВГ, объёма резервных пространств в полости черепа или от сочетания этих и других факторов. Необходимость своевременного хирургического удаления ОТВГ исключает возможность «наблюдения» за ростом клинически значимых гематом у одного и того же больного в динамике, а скорость накопления ОТВГ у погибших на догоспитальном этапе и среди пациентов, госпитализированных в стационар, может существенно отличаться. Сроки формирования ОТВГ зависят от множества причин, таких как источник кровотечения (артерия, вена или венозный синус), диаметр повреждённого сосуда, сила прикрепления ТМО (для ОЭГ), положение головы в пространстве, внутричерепное давление, артериальное давление, сопутствующая патология, состояние свёртывающей системы и пр. Например, известно, что прочность сращения ТМО с костью меняется с возрастом человека и может достигать в области свода черепа $100\text{--}150$ г/см², а в области костных швов – до $800\text{--}950$ г/см² [4]. Анатомия ветвей средней оболочечной артерии и костного канала также имеет существенные индивидуальные различия [5], что может быть причиной образования посттравматических аневризм на её стенке и отсроченного кровоизлияния [6].

Таким образом, срок формирования основного объёма ОТВГ у конкретного пострадавшего мало предсказуем, его сложно определить и нельзя экстраполировать на всех пациентов, а набор инструментов для изучения этой проблемы ограничен. Улучшить её понимание может установление средней скорости накопления ОТВГ у разных пациентов и корреляции объёмов ОТВГ со временем их обнаружения при большом количестве наблюдений. Такая информация актуальна не только для практики, но и для изучения патофизиологии первичного и вторичного повреждения мозга, а также механизмов повышения внутричерепного давления [7].

Мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) позволяет точно измерять объём ОТВГ и сопоставлять его со сроком травмы. В случае статистически значимой корреляции между объёмами ОТВГ и их сроками в большом количестве наблюдений можно вычислить средние сроки формирования ОТВГ. В исследовании N. Kreitzer et al. из 323 пострадавших с клинически лёгкой ЧМТ (оценка по Шкале комы Глазго при поступлении – 14–15 баллов) с обнаруженными на первичной МСКТ травматическими внутричерепными кровоизлияниями (ОЭГ, острые субдуральные гематомы (ОСГ), субарахноидальные кровоизлияния (САК), ушибы головного мозга (УГМ)) в первые 12 ч после травмы нейрохирургическое лечение потребовалось после контрольной МСКТ, через 6–12 часов только 3 (0,9 %) больным, что свидетельствовало о быстром формировании основных объёмов слабо проявляющихся клинически кровоизлияний и отсутствии их существенной динамики в первые 12 часов у большинства пострадавших [8]. Цель нашего исследования – оценить возможность использования МСКТ для определения средних сроков формирования клинически значимых эпидуральных и субдуральных острых травматических внутричерепных гематом.

МЕТОДЫ

Исследование выполнено на базе травматологического центра 2-го уровня ОГБУЗ ИГКБ № 3 (г. Иркутск) в 2018–2019 гг. Проведён ретроспективный анализ 84 МСКТ-исследований головного мозга 55 пациентов с черепно-мозговой травмой (ЧМТ), сопровождающейся ОТВГ (15 пациентов с эпидуральными, 40 – с субдуральными гематомами). Критерии включения в исследование: соответствие диагноза пострадавшего Российской классификации ЧМТ; возраст пациентов старше 18 лет; чёткое МСКТ-изображение головного мозга с признаками ОТВГ при достоверном анамнезе ЧМТ с точной фиксацией времени травмы (часы и минуты) из заслуживающих доверия источников (данные бригад СМП, очевидцев или родственников). Критерии исключения: детский возраст; МСКТ без признаков ОТВГ; отсутствие достоверного анамнеза; нечёткость изображений. МСКТ проводилась на компьютерном томографе GE Bright Speed 16 (General Electric, США) с первичной коллимацией $16 \times 0,625$ мм, толщиной реформированных срезов 1,25 мм, с последующим трёхмерным анализом изображений в MPR-реконструкциях. Объём ОТВГ подсчитывался методом окрашивания на 3D-реконструкции в программе Volume Measurement, а также ABC-методом по Kothari [9]. Изме-

Таблица 1

Оценка силы корреляционной связи (по Спирмену) объёмов ОТВГ и сроков травмы

Table 1

Assessment of the correlation strength (according to Spearman) between the volume of acute traumatic intracranial hematomas and time of trauma

Подгруппа	n	r объёма ОТВГ и часа обнаружения	r минимальный		t
			p = 0,05	p = 0,01	
ОЭГ ₁₋₂	6	0,243	0,886	1,0	0,5
ОЭГ ₁₋₃	10	0,482	0,648	0,794	1,55
ОЭГ ₁₋₄	11	0,611	0,618	0,755	2,3
ОЭГ ₁₋₄₈	15	0,331	0,521	0,654	1,27
ОСГ ₁₋₂	19	0,569	0,46	0,584	2,85
ОСГ ₁₋₃	22	0,645	0,425	0,544	3,77
ОСГ ₁₋₄	26	0,283	0,39	0,501	1,44
ОСГ ₁₋₆₅	40	-0,187	0,313	0,405	-0,138

Примечание. n – число наблюдений; r – коэффициент ранговой корреляции Спирмена; t – доверительный коэффициент ранговой корреляции Спирмена (≥ 3 при вероятности 99 %); статистически значимая корреляция выделена полужирным.

рялись объёмы первично выявленных ОТВГ у 55 пациентов: 15 из них – с острыми эпидуральными гематомами (группа ОЭГ), 40 – с острыми субдуральными гематомами (группа ОСГ). Размер выборок предварительно не рассчитывался.

Для изучения корреляции объёмов ОТВГ с временем их обнаружения после травмы группы ОЭГ и ОСГ разделены на подгруппы: например, пациенты с ОЭГ, выявленными в первые 2 ч после травмы, составили подгруппу ОЭГ₁₋₂; с ОЭГ, выявленными в первые 3 ч, – подгруппу ОЭГ₁₋₃; пациенты с ОСГ, выявленными в течение первых 4 ч после травмы, – подгруппу ОСГ₁₋₄, и т. д. Корреляция оценивалась через коэффициент ранговой корреляции Спирмена [10].

Расчёт среднего объёма ОТВГ ($V_{\text{ср.}}$) проводился в подгруппах пациентов, распределённых соответственно часу обнаружения: в первый час – подгруппы ОЭГ₁ и ОСГ₁, во второй – ОЭГ₂ и ОСГ₂ и т. д., – с определением статистической значимости различий между подгруппами внутри групп ОЭГ и ОСГ по t-критерию Манна – Уитни или U-критерию Уилкоксона в зависимости от возможности их применения, исходя из объёмов выборок. Рассчитывалось среднеквадратическое отклонение (σ) для характеристики разнообразия объёмов ОТВГ с последующим вычислением средней ошибки (m) [10].

Дополнительно на повторных МСКТ оценена динамика ОТВГ малых объёмов (до 40 мл) у 21 (38,2 %) пациента, подвергшегося консервативному лечению. Работа соответствовала этическим стандартам Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека». В связи с тем, что исследование являлось ретроспективным и не требовало публикации личных данных пациентов, информированное согласие на их участие и заключение комитета по этике не требовались.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В группе ОЭГ статистически значимой корреляции между объёмом ОТВГ и временем, прошедшим после травмы до обнаружения гематомы, не обнаружено во всех подгруппах, но максимальное приближение к $p \approx 0,05$ имело место в подгруппе ОЭГ₁₋₄. В группе ОСГ

корреляция была статистически значима в подгруппе ОСГ₁₋₂ при $p = 0,05$, а в ОСГ₁₋₃ коэффициент ранговой корреляции $r = 0,645$, т. е. превысил критические значения даже для $p = 0,002$ [10] (табл. 1).

В этой связи расчёт $V_{\text{ср.}}$ ОТВГ в зависимости от часа их обнаружения в подгруппах и определение статистической значимости различий между ними проводился для ОТВГ, выявленных в первые 4 ч после травмы (табл. 2).

Таблица 2

Средний объём острых травматических внутричерепных гематом на МСКТ в подгруппах, выделенных в зависимости от часа их обнаружения после травмы

Table 2

Mean volume of acute traumatic intracranial hematomas in MCST images in subgroups according to the time of hematoma detection

Подгруппа	n	$V_{\text{ср.}}$ (мл)	$\pm\sigma$	$\pm m$
ОЭГ ₁	4	37,5	53,4	30,8
ОЭГ ₂	2	12,5	–	–
ОЭГ ₃	4	55,0	52,4	30,3
ОЭГ ₄	1	200,0	–	–
ОСГ ₁	8	52,0	53,3	20,2
ОСГ ₂	11	106,4	44,2	14,0
ОСГ ₃	3	186,7	132,7	93,9
ОСГ ₄	4	45,0	34,0	19,6

Примечание. n – число наблюдений; $V_{\text{ср.}}$ – средний объём гематомы в подгруппе; σ – среднее квадратическое отклонение; m – ошибка средней; статистически значимая корреляция выделена полужирным.

Учитывая количество наблюдений в группе ОЭГ, сравнить $V_{\text{ср.}}$ эпидуральных ОТВГ было возможно только в подгруппах ОЭГ₁ и ОЭГ₃. В результате статистически значимых отличий не обнаружено ни по t-критерию Манна – Уитни, ни по U-критерию Уилкоксона. Впервые выявленные ОЭГ в течение первых 3 ч после травмы не имели статистически значимой разницы в своём объёме (ОЭГ₁ $\approx$ ОЭГ₃), и $V_{\text{ср.}}$ суммарно для ОЭГ₁ и ОЭГ₃ ($n = 8$) составил $46,25 \pm 15,6$ мл с большим разнообразием величин ($\sigma = \pm 41,4$), а с учётом 3 случаев ОЭГ, выявленных во второй и четвёртый часы (суммарно $n = 11$), – $54,1 \pm 19,7$ мл ($\sigma = \pm 62,5$).

Для ОSG количество наблюдений позволяло сравнивать $V_{ср.}$ во всех соседних по часам обнаружения подгруппах между собой с использованием непараметрических критериев. В результате установлено, что, несмотря на большое среднее квадратическое отклонение, $V_{ср.}$ в подгруппе $ОСГ_1$ статистически значимо отличался по обоим критериям от $V_{ср.}$ в подгруппе $ОСГ_2$ ($ОСГ_1 < ОСГ_2$), $V_{ср.}$ в $ОСГ_2$ не отличается от $V_{ср.}$ в $ОСГ_3$ ($ОСГ_2 \approx ОСГ_3$), $V_{ср.}$ $ОСГ_3$ статистически значимо отличался от $V_{ср.}$ в $ОСГ_4$ по t -критерию Манна – Уитни ($ОСГ_3 > ОСГ_4$). Кроме того, не обнаружено статистически значимого различия $V_{ср.}$ в $ОСГ_1$ от $V_{ср.}$ в $ОСГ_4$ ($ОСГ_1 \approx ОСГ_4$). Полученные данные позволили в не отличающихся по $V_{ср.}$ соседних подгруппах вывести общий $V_{ср.}$ (табл. 3).

Для дополнительной оценки динамики изменения объёма ОТВГ проведён анализ 2–3-кратных МСКТ-исследований при динамическом наблюдении 21 пациента с ОТВГ (с ОЭГ – 7 пациентов, с ОСГ – 14 пациентов). Первоначальный объём выявленных ОТВГ не превышал 40 мл, из них гематомы объёмом 30–40 мл выявлены у 5 пациентов (в группе ОЭГ – 1 случай, в группе ОСГ – 4 случая) (рис. 1).

Увеличение объёма ОТВГ зафиксировано в 3 ($14,3 \pm 7,8$ %) случаях (с ОЭГ – 2 пациента, с ОСГ – 1).

У остальных пациентов объём ОТВГ либо остался неизменным – у 14 ($66,7 \pm 10,5$ %) (с ОЭГ – 4 пациента, с ОСГ – 10), либо уменьшился – у 4 ($19 \pm 8,8$ %) (с ОЭГ – 1 пациент, с ОСГ – 3). Таким образом, увеличение ОТВГ с диагностированным при поступлении объёмом до 40 мл произошло при ОЭГ в $28,6 \pm 18,4$ %, а при ОСГ – в $7,1 \pm 7$ % случаев, т. е. при ОЭГ объём гематомы увеличивался в 4 раза чаще, чем при ОСГ.

Таблица 3
Средний объём острых травматических внутричерепных гематом на МСКТ, в том числе в соседних подгруппах, объединённых в связи с отсутствием различий между ними

Таблица 3
Mean volume of acute traumatic intracranial hematomas in MCST images, including adjoined subgroups combined due to the lack of differences among them

Подгруппы	n	$V_{ср.}$	$\pm m$	$\pm \sigma$
ОЭГ ₁₋₄	11	54,1	19,7	62,5
ОСГ ₁	8	52,0	20,2	53,3
ОСГ ₂₋₃	14	123,6	19,6	70,4

Примечание. n – число наблюдений; $V_{ср.}$ – средний объём гематомы; σ – среднее квадратическое отклонение; m – ошибка средней; ОЭГ₁₋₄ – подгруппа пациентов с острыми эпидуральными гематомами, обнаруженными в течение первых 4 ч после травмы, ОСГ₂₋₃ – подгруппа пациентов с острыми субдуральными гематомами, обнаруженными в течение 2-го и 2-го часов после травмы.

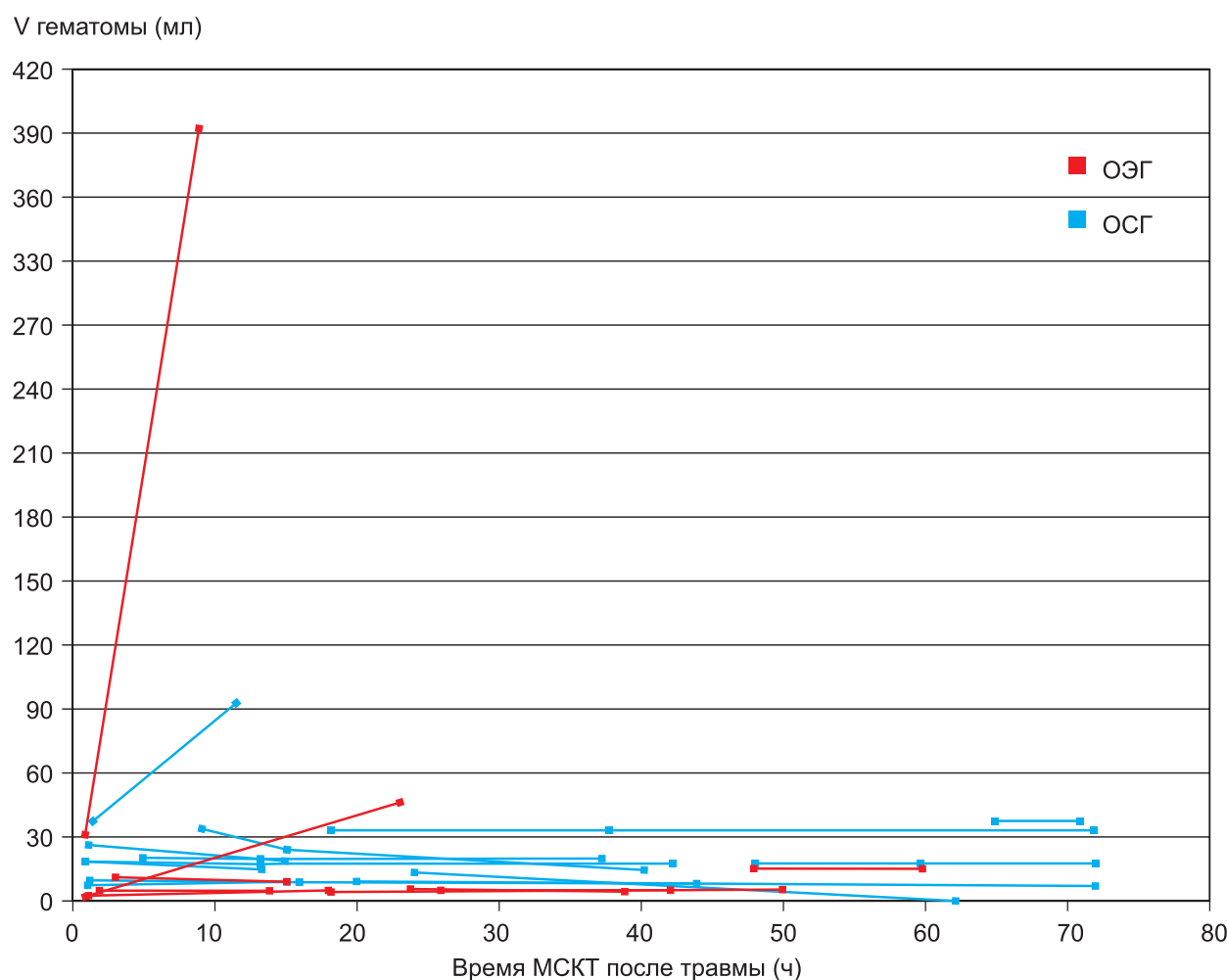


Рис. 1. Результаты контрольных измерений объёма травматических ОЭГ и ОСГ у 21 пациента ОГБУЗ ИГКБ № 3 с учётом времени после травмы: линии соединяют результаты измерений у одного и того же пациента; 1, 2, 3 – пациенты с увеличением объёма ОТВГ на контрольных исследованиях

Fig. 1. The dynamic volume changing of acute traumatic epidural and subdural hematomas in 21 patients of Irkutsk City Clinical Hospital N 3 (2018–2019): 1, 2, 3 – the patients with hematomas volume increasing

ОБСУЖДЕНИЕ

Положительная корреляция высокой статистической значимости между объемами ОТВГ и сроком травмы гипотетически возможна только при формировании гематом на протяжении всего этого срока с почти одинаковой скоростью у разных пациентов, что должно приводить и к статистически значимому отличию $V_{ср.}$ выявленных ОТВГ в разные его периоды. При этом необходимо учитывать особенности анатомических условий образования ОЭГ и ОСГ.

Статистически значимой корреляции объемов ОЭГ со временем их диагностики не обнаружено. Статистически значимого различия $V_{ср.}$ в подгруппах ОЭГ₁ и ОЭГ₃ также не выявлено, а значения среднего квадратического отклонения свидетельствовали о большом разнообразии этого признака. В случае остановки формирования ОЭГ, образующейся с одинаковой скоростью у всех пациентов в первые минуты после травмы, такое разнообразие мало ожидаемо, и любые эпидуральные ОТВГ должны быть примерно одинакового объема. Однако в реальности их объем неодинаковый, что мы и видим в подгруппе ОЭГ₄. Таким образом, в нашем исследовании в группе ОЭГ мы наблюдали либо раннюю остановку формирующихся ОЭГ с разной скоростью, либо продолжающиеся накопления ОЭГ с разной скоростью, останавливающиеся в разное время. Оба варианта возможны, однако анатомические особенности ОЭГ и, как правило, артериальный источник кровотечения, а также отсутствие роста их объема на контрольных исследованиях в большинстве наблюдений определяют большую вероятность первого варианта. Дополнительное увеличение ОЭГ спустя несколько часов возможно и по механизму отсроченных кровоизлияний [6].

Положительную корреляцию между объемом гематомы и временем диагностики в первые 3 часа после травмы продемонстрировали ОСГ со статистически значимым отличием $V_{ср.}$ в подгруппах с выявленными гематомами в 1-й и 2-й часы после травмы, что было возможно только при близкой скорости их формирования у разных пациентов в этом промежутке времени. Статистически значимое двукратное превалирование $V_{ср.}$ ОСГ обнаруженных во 2-й и 3-й часы после ЧМТ ($123,6 \pm 19,6$ мл) по сравнению с ОСГ, диагностированными в 1-й час ($52,0 \pm 20,2$ мл), свидетельствовало об их увеличении со средней скоростью около 50 мл/ч в первые 1–2 ч после травмы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

МКСТ клинического стационара имеет ограничения для изучения средних сроков формирования ОТВГ, так как не позволяет проводить всеобъемлющую оценку этого показателя среди всех пострадавших, включая умерших на месте происшествия и лиц с относительно легкой ЧМТ, не обратившихся за медицинской помощью. Тем не менее, наши наблюдения свидетельствовали о ранних сроках формирования ОТВГ среди госпитализированных в стационар: так, выявлено, что ОЭГ формировалась в 1-й час после травмы, ОСГ – в течение 1–3 часов. Скорость формирования ОТВГ была разнообразна и мало предсказуема у каждого пациента, но в среднем составила около 50 мл/ч. Таким образом, у неоперированных пациентов с ОТВГ, попавших в стационар через 3–4 ч после травмы, высокая вероятность резко замедлившегося или остановившегося внутримозгового кровотечения, и чем позже диагностируется ОТВГ после ЧМТ, тем выше эта вероятность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лебедев В.В., Крылов В.В. *Неотложная нейрохирургия* (руководство для врачей). М.: Медицина; 2000.
2. Bezircioğlu H, Erşahin Y, Demirçivi F, Yurt I, Dönertaş K, Tektaş S. Nonoperative treatment of acute extradural hematomas: analysis of 80 cases. *J Trauma*. 1996; Oct, 41(4): 696-698. doi: 10.1097/00005373-199610000-00016
3. Young HJ, Ji WO, Sungmin C. Clinical outcome of acute epidural hematoma in Korea: preliminary report of 285 cases registered in the Korean trauma data bank system. *Korean J Neurotrauma*. 2016; 12(2): 47-54.
4. Мурзин В.Е., Горюнов В.Н. Исследование прочности фиксации твердой мозговой оболочки к костям черепа. *Вопросы нейрохирургии*. 1979; (4): 43-47.
5. Thittamaranahalli MH, Vineeth D, Ashwini K. Morphometry of organization of middle meningeal artery through the analysis of bony canal in human's skull: A clinico-anatomical and embryological insight. *J Craniovertebr Junction Spine*. 2019; Apr-Jun, 10(2): 127-130. doi: 10.4103/jcvjs.JCVJS 45 19
6. Marvin E, Hilken LL, Raymond JC. Ruptured pseudoaneurysm of the middle meningeal artery presenting with a temporal lobe hematoma and a contralateral subdural hematoma. *Surg Neurol Int*. 2016; 7(Suppl 2): 23-27. doi: 10.4103/2152-7806.173564
7. Крылов В.В., Талыпов А.Э., Левченко О.В. *Хирургия тяжелой черепно-мозговой травмы*. М.: АБВ-пресс; 2019.
8. Kreitzer N, Lyons MS, Kim H, Lindsell CJ, Chung S, Yick A, et al. Repeat neuroimaging of mild traumatic brain-injured patients with acute traumatic intracranial hemorrhage: clinical outcomes and radiographic features. *Acad Emerg Med*. 2014; Oct, 21(10): 1083-1091. doi: 10.1111/acem.12479
9. Kothari RU, Brott T, Broderick JP, Barsan WG, Sauerbeck LR, Zuccarello M, et al. The ABCs of measuring intracerebral hemorrhage volumes. *Stroke*. 1996; Aug, 27(8): 1304-1305.
10. Гланц С. *Медико-биологическая статистика*. М.: Практика; 1999.

REFERENCES

1. Lebedev VV, Krylov VV. *Emergency neurosurgery (guidelines for physicians)*. Moscow: Meditsina; 2000. (In Russ.)
2. Bezircioğlu H, Erşahin Y, Demirçivi F, Yurt I, Dönertaş K, Tektaş S. Nonoperative treatment of acute extradural hematomas: analysis of 80 cases. *J Trauma*. 1996; Oct, 41(4): 696-698. doi: 10.1097/00005373-199610000-00016
3. Young HJ, Ji WO, Sungmin C. Clinical outcome of acute epidural hematoma in Korea: preliminary report of 285 cases registered in the Korean trauma data bank system. *Korean J Neurotrauma*. 2016; 12(2): 47-54.
4. Murzin VE, Goryunov VN. Study of the fixation strength of the dura mater to the skulls. *Burdenko's journal of neurosurgery*. 1979; (4): 43-47. (In Russ.)
5. Thittamaranahalli MH, Vineeth D, Ashwini K. Morphometry of organization of middle meningeal artery through the analysis of bony canal in human's skull: A clinico-anatomical and embryological insight. *J Craniovertebr Junction Spine*. 2019; Apr-Jun, 10(2): 127-130. doi: 10.4103/jcvjs.JCVJS 45 19
6. Marvin E, Hilken LL, Raymond JC. Ruptured pseudoaneurysm of the middle meningeal artery presenting with a temporal lobe hematoma and a contralateral subdural hematoma. *Surg Neurol Int*. 2016; 7(Suppl 2): 23-27. doi: 10.4103/2152-7806.173564
7. Krylov VV, Talypov AE, Levchenko OV. *Surgery of severe brain injury*. Moscow: ABV-press; 2019. (In Russ.)
8. Kreitzer N, Lyons MS, Kim H, Lindsell CJ, Chung S, Yick A, et al. Repeat neuroimaging of mild traumatic brain-injured patients with acute traumatic intracranial hemorrhage: clinical outcomes and radiographic features. *Acad Emerg Med*. 2014; Oct, 21(10): 1083-1091. doi: 10.1111/acem.12479
9. Kothari RU, Brott T, Broderick JP, Barsan WG, Sauerbeck LR, Zuccarello M, et al. The ABCs of measuring intracerebral hemorrhage volumes. *Stroke*. 1996; Aug, 27(8): 1304-1305.
10. Glantz S. *Medical and biological statistics*. Moscow: Praktika; 1999. (In Russ.)

Сведения об авторах

Семенов Александр Валерьевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры травматологии, ортопедии и нейрохирургии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; старший научный сотрудник научно-клинического отдела нейрохирургии, ФБГНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; заведующий нейрохирургическим отделением, ОГБУЗ «Иркутская городская клиническая больница № 3», e-mail: 7enov2001@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2547-7812>

Крылов Владимир Викторович – доктор медицинских наук, профессор, академик Российской академии наук, директор Клинического медицинского центра, заведующий кафедрой нейрохирургии и нейрореанимации, ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава России; главный научный сотрудник отделения нейрохирургии, ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи имени Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения Москвы»; главный внештатный нейрохирург Министерства здравоохранения Российской Федерации, e-mail: manuscript@inbox.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7206-8926>

Сороковиков Владимир Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, директор, ФБГНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и нейрохирургии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: vasorokovikov@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9008-6383>

Галеева Ольга Павловна – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры анатомии человека, оперативной хирургии и судебной медицины, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: Olenkagaleeva1951@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5153-2566>

Information about the authors

Aleksandr V. Semenov – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Senior Research Officer at the Clinical Research Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Head of the Neurosurgical Unit, Irkutsk City Clinical Hospital N 3, e-mail: 7enov2001@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-2547-7812>

Vladimir V. Krylov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of Clinical Medical Center, Head of the Department of Neurosurgery and Neurologic Reanimation, A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry; Chief Research Officer at the Department of Neurosurgery, Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine; Chief External Neurosurgeon of the Ministry of Health of the Russian Federation, e-mail: manuscript@inbox.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7206-8926>

Vladimir A. Sorokovikov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Head of the Department of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: vasorokovikov@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9008-6383>

Olga P. Galeeva – Cand. Sc. (Med.), Docent, Associate Professor at the Department of Human Anatomy, Operative Surgery and Forensic Medicine, Irkutsk State Medical University, e-mail: Olenkagaleeva1951@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5153-2566>

Статья получена: 10.11.2020. Статья принята: 30.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 10.11.2020. Accepted: 30.11.2020. Published: 26.12.2020.

Одномоментное тотальное удаление шванномы спинного мозга типа «песочные часы» с распространением в грудную клетку из заднего паравертебрального доступа без вскрытия плевральной полости (клиническое наблюдение)

Васильев И.А., Пендюрин И.В., Бузунов А.В., Цветовский С.Б., Ступак Е.В., Ступак В.В.

ФГБУ «Новосибирский Научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна»
Минздрава России (630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Васильев Игорь Анатольевич, e-mail: vasilevigor500@gmail.com

Резюме

Описано лечение 20-летней пациентки, у которой была диагностирована шваннома (невринома) спинного мозга по типу «песочные часы» в грудном отделе позвоночника, растущая из правого Th3 спинномозгового корешка с распространением в грудную полость, компримируя верхушку правого лёгкого. Во введении представлена частота встречаемости данных новообразований среди всех опухолей спинного мозга. Описаны жалобы, неврологическая симптоматика, методы диагностики новообразования, клиничко-лучевые проявления. Представлены этапы и техника тотального хирургического удаления новообразования из заднего паравертебрального малоинвазивного доступа без вскрытия плевральной полости с использованием нейрофизиологического мониторинга функции спинного мозга, выполненного в отделении нейрохирургии Научно-исследовательского института травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна (г. Новосибирск). Представлены данные гистологического исследования, МРТ-контроля в раннем послеоперационном периоде. Катамнез прослежен в сроки 6 и 12 месяцев после проведённого хирургического лечения. Проведён анализ публикаций, описывающих хирургическое лечение паравертебральных опухолей при различных доступах, техника их удаления, возможные осложнения и методы их профилактики, представлена классификация по Eden (1941), характеризующая тип роста опухоли. Выделены ключевые моменты, которые побудили авторов статьи к данной публикации.

Ключевые слова: экстремедуллярная опухоль спинного мозга, шваннома, невринома «песочные часы», грудной отдел позвоночника, плевральная полость, интраоперационный нейрофизиологический мониторинг

Для цитирования: Васильев И.А., Пендюрин И.В., Бузунов А.В., Цветовский С.Б., Ступак Е.В., Ступак В.В. Одномоментное тотальное удаление шванномы спинного мозга типа «песочные часы» с распространением в грудную клетку из заднего паравертебрального доступа без вскрытия плевральной полости (клиническое наблюдение). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 157-164. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.18

An Hourglass-Type Spinal Schwannoma Spreading to the Chest Treated with One-Stage Total Removal through Posterior Paravertebral Approach without Opening the Pleural Cavity (Clinical Observation)

Vasilyev I.A., Pendyurin I.V., Buzunov A.V., Tsvetovsky S.B., Stupak E.V., Stupak V.V.

Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics named after Ya.L. Tsivyan
(Frunze str. 17, Novosibirsk 630091, Russian Federation)

Corresponding author: Igor A. Vasilev, e-mail: vasilevigor500@gmail.com

Abstract

The article describes the treatment of a 20-year-old patient with a spinal hourglass schwannoma (neurinoma) in the thoracic spine, growing from the right Th3 spinal root, spreading into the thoracic cavity and compressing the apex of the right lung. The introduction presents the frequency of occurrence of such neoplasms among all spinal cord tumors. Complaints, neurological symptoms, neoplasm diagnosis methods and its clinical and radiological manifestations are presented. The article describes stages and techniques of total surgical removal of the spinal hourglass schwannoma through the posterior paravertebral minimally invasive approach without opening the pleural cavity and with using neurophysiological monitoring of spinal cord function performed at the Neurosurgical Clinic of the Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics named after Ya.L. Tsivyan. The data of histological examination and MRI control in the early postoperative period are presented. The follow-up was carried out at 6 and 12 months after surgical treatment. The publications describing the surgical treatment of paravertebral tumors through different approaches, the technique of their removal, possible complications and methods of their prevention are analyzed, and the classification according to Eden (1941), which characterizes the type of tumor growth, is presented.

Key words: extramedullary tumor of the spinal cord, schwannoma, hourglass neurinoma, thoracic spine, pleural cavity, intraoperative neurophysiological monitoring

For citation: Vasilev I.A., Pendyurin I.V., Buzunov A.V., Tsvetovsky S.B., Stupak E.V., Stupak V.V. An Hourglass-Type Spinal Schwannoma Spreading to the Chest Treated with One-Stage Total Removal through Posterior Paravertebral Approach without Opening the Pleural Cavity (Clinical Observation). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 157-164. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.18.

По эпидемиологическим данным, первичные опухоли спинного мозга, несмотря на схожесть по гистоструктуре с опухолями головного мозга, встречаются в 10 раз реже последних [1]. Шванномы (невриномы) являются наиболее частыми первичными опухолями позвоночника с частотой встречаемости 0,3–0,5 случая на 100 000 человек в год. Они относятся к доброкачественным опухолям округлой формы, которые хорошо разграничены с окружающими прилежащими структурами и инкапсулированы. Данные образования встречаются в равном проценте случаев как у мужчин, так и у женщин и, как правило, диагностируются у лиц старше 40 лет [2].

Объёмные образования с экстра-интравертебральным типом роста, имеющие между собой промежуточный компонент (перешеек) в проекции межпозвонкового отверстия, носят название «песочные часы» или «гантели» [3]. Они впервые были описаны G.J. Heuer в 1929 г. как образования с распространением в канал позвоночника, паравертебрально проникающие через узкое межпозвонковое отверстие [4]. В англоязычной литературе принят термин «dumbbell tumor», что в дословном переводе значит «опухоль в форме гантели», в то время как в отечественной литературе предпочтение отдаётся термину «опухоль типа «песочные часы»». При этом внутриканальная часть опухоли может иметь экстрадуральное и интраэкстрадуральное расположение. Опухоли в форме «песочные часы» встречаются редко, с частотой 0,3–10 случаев на 100 000 человек и составляют 6–15 % от всех новообразований позвоночника [5, 6]. Такой характер роста характерен для доброкачественных опухолей, в первую очередь шванном, редко – менингиом, ганглионевром. Кроме этого, он может встречаться и у редких злокачественных образований, таких как нейробластомы [6, 7]. Лидирующую позицию среди всех опухолей позвоночного канала типа «песочные часы» занимают шванномы, которые диагностируются в 90 % случаев [8]. Однако данный тип роста в грудном отделе позвоночника встречается относительно редко [9]. В большинстве случаев подобные опухоли локализуются в шейном и пояснично-крестцовом отделах позвоночника. Распространение новообразования в паравертебральное пространство, в том числе средостение, плевральную, брюшную полости, а также распространение с деструкцией костных структур создают значительные трудности для их хирургического лечения. Поэтому хирургия опухолей с интра-экстраканальным ростом, получивших название «песочные часы», остаётся одной из актуальных проблем нейрохирургии.

Хирургическое лечение опухолей данной локализации в середине XX века часто ограничивалось резекцией только внутриканальной части опухоли, что впоследствии приводило к её рецидивам. В некоторых случаях проводилось поэтапное удаление опухоли: сначала внутриканальной, а затем паравертебральной части. Внедрение микрохирургической техники, разработка новых хирургических доступов создали условия для проведения одноэтапных операций [10].

Целью данной работы является демонстрация редкого клинического случая больной с экстрамедуллярной опухолью (шванномой) типа «песочные часы», растущей из корешка Th₃ с распространением в грудную полость, со сдавлением верхушки правого лёгкого, которая была удалена тотально, одномоментно, из малотравматичного

паравертебрального доступа без вскрытия плевральной полости.

Пациентка С., 1990 года рождения, поступила в нейрохирургическое отделение Научно-исследовательского института травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна (г. Новосибирск) в июне 2019 г. с жалобами на периодически возникающие простреливающие боли в верхне-грудном отделе позвоночника справа, усиливающиеся при глубоком вдохе.

Анамнез заболевания: считает себя больной с февраля 2019 г. Во время прохождения ежегодного медицинского осмотра по данным флюорографии была выявлена тень в области верхушки правого лёгкого. С целью уточнения диагноза выполнены нейровизуализационные исследования (МСКТ и МРТ лёгких и позвоночника), выявившие опухоль спинного мозга на уровне позвонков Th_{III}–Th_{IV} справа с ростом в плевральную полость.

Неврологический статус: со стороны черепно-мозговых нервов – без патологии. Сила в верхних и нижних конечностях соответствовала 5 баллам (по шкале оценки мышечной силы MRC (Medical Research Council Weakness Scale), разработанной Советом по медицинским исследованиям Великобритании). Сухожильные рефлексы с конечностей средней живости S = D. Нарушений чувствительности выявлено не было. Пальпация и перкуссия остистых отростков в области позвонков Th_{III}–Th_{IV} сопровождалась «простреливающими» болями в область грудной клетки с иррадиацией в область правой молочной железы.

МРТ грудного отдела позвоночника и грудной клетки с контрастным усилением выявила контрастируемое экстрамедуллярное новообразование, исходящее из правого межпозвонкового отверстия на уровне позвонков Th_{III}–Th_{IV} с ростом в плевральную полость, вызывающее компрессию верхушки правого лёгкого. Размеры образования (поперечный, передне-задний и кранио-каудальный) составляли, соответственно, 4,8 × 2,9 × 2,3 см (рис. 1).

Проведённое клинично-неврологическое обследование и данные нейровизуализации (рис. 1) свидетельствовали о наличии экстрамедуллярной экстрадуральной опухоли типа «песочные часы», растущей из межпозвонкового отверстия на уровне позвонков Th_{III}–Th_{IV} справа с распространением в плевральную полость. Принимая во внимание клинические и нейровизуализационные данные, больной было показано оперативное лечение, направленное на удаление опухоли.

Учитывая анатомические особенности локализации опухоли: экстрадуральное расположение, рост из межпозвонкового отверстия, отсутствие интраканального компонента, интимную связь новообразования с лёгочной тканью, – было решено провести микрохирургическое удаление новообразования из заднего малоинвазивного паравертебрального правостороннего доступа.

С целью исключения нежелательного травматического воздействия на проводниковую функцию спинного мозга во время резекции опухоли, осуществлялся интраоперационный нейрофизиологический мониторинг с регистрацией вызываемых транскраниальной электро-стимуляцией моторных вызванных потенциалов (ТсМЕР). Тестируемыми мышцами выбраны *m. tibialis anterior* и *m. abductor hallucis* с обеих сторон. Наряду с мониторингом моторных ответов на каждом из этапов операции осуществляли регистрацию соматосенсорных вызванных потенциалов (SSEP) при стимуляции большеберцового нерва на правой нижней конечности.

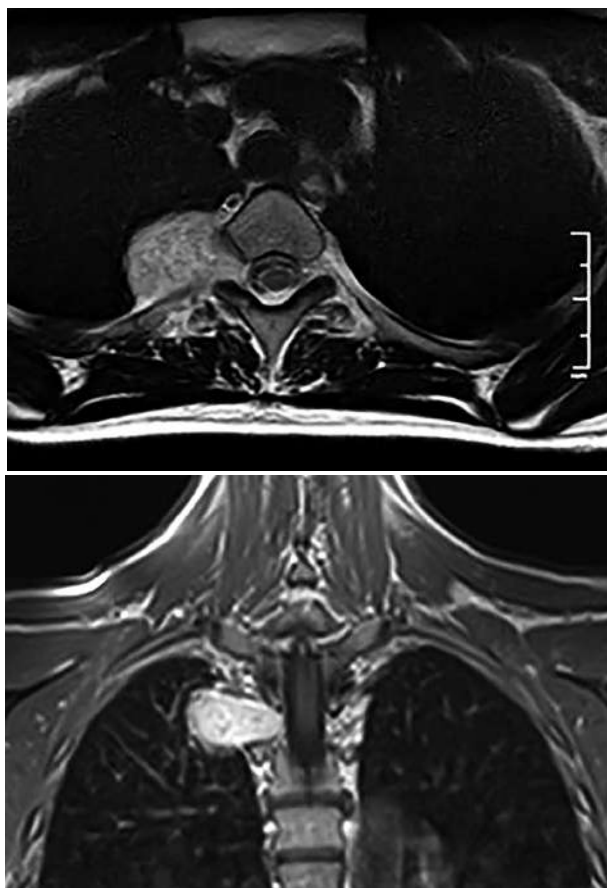


Рис. 1. Пациентка С., предоперационные МРТ-граммы с контрастным усилением грудного отдела позвоночника, в 2 проекциях. Экстрамедуллярное объемное образование спинного мозга типа «песочные часы» на уровне позвонков Th_{III}–Th_{IV} справа, с ростом в плевральную полость с компрессией верхушки правого лёгкого

Fig. 1. Patient S., preoperative MRI scans with contrast enhancement of the thoracic spine, 2 projections. Extramedullary dumbbell mass lesion of the spinal cord at the level of the Th_{III}–Th_{IV} vertebrae on the right, with growth into the pleural cavity and compression of the right lung apex

Операция проводилась под тотальной внутривенной анестезией с поддержкой искусственной вентиляцией лёгких, введением пропалола и фентанила. В положении

больной на животе с головой, фиксированной скобой трёхточечной фиксации Mayfield-Kiss (Integra LifeSciences Corporation, США), выполнен линейный парамедианный разрез мягких тканей справа на 1,5 см латеральнее средней линии проекции остистых отростков от Th_{III} до Th_V позвонков. Скелетированы рёберно-позвоночные сочленения и полудужки на уровне позвонков Th_{III}–Th_{IV} справа. С помощью костных кусачек Керрисона выполнена гемиламинэктомия позвонка Th_{IV} справа с частичной резекцией нижнего края полудужки позвонка Th_{III}. Используя силовую установку фирмы Aescular (B. Braun, Германия), при помощи режущего и алмазного боров шаровидной формы выполнена частичная резекция рёберно-позвоночного сустава на уровне позвонка Th_{III} справа и частичная резекция нижнего края головки 3-го ребра. В области расширенного межпозвоночного отверстия визуализирована значительно увеличенная в объёме твёрдая мозговая оболочка (ТМО), покрывающая спинномозговой корешок. Патологически расширенное межпозвоночное отверстие на уровне Th_{III}–Th_{IV} справа дополнительно расширено шаровидным бором. При помощи микрохирургического инструментария, операционного микроскопа под увеличением до $\times 20,0$ твёрдая мозговая оболочка рассечена вдоль корешка. В расширенном межпозвоночном отверстии под ТМО обнаружена опухоль с хорошо выраженной капсулой серо-жёлтого цвета плотно-эластической консистенции, визуальное напоминающая шванному, диаметром примерно 1,5 см, растущая из корешка спинного мозга. Произведена лёгкая тракция опухоли, после чего она «вывихнулась» из межпозвоночного отверстия так, что был визуализирован интактный спинномозговой корешок. В этой зоне произведены коагуляция корешка и его отсечение от опухоли. Дополнительно рассечена ТМО в паравертебральной зоне вдоль опухоли. Отсечённая от спинномозгового корешка опухоль распространяется в плевральную полость и имеет вид узла. При помощи микрохирургического инструментария, операционного микроскопа под увеличением до $\times 20,0$ продолжены выделение (рис. 2а), рассечение капсулы (рис. 2б) и внутренняя декомпрессия опухоли с использованием ультразвукового аспиратора. После внутренней декомпрессии произведено тотальное удаление новообразования вместе с капсулой. При этом отмечено, что последняя интимно

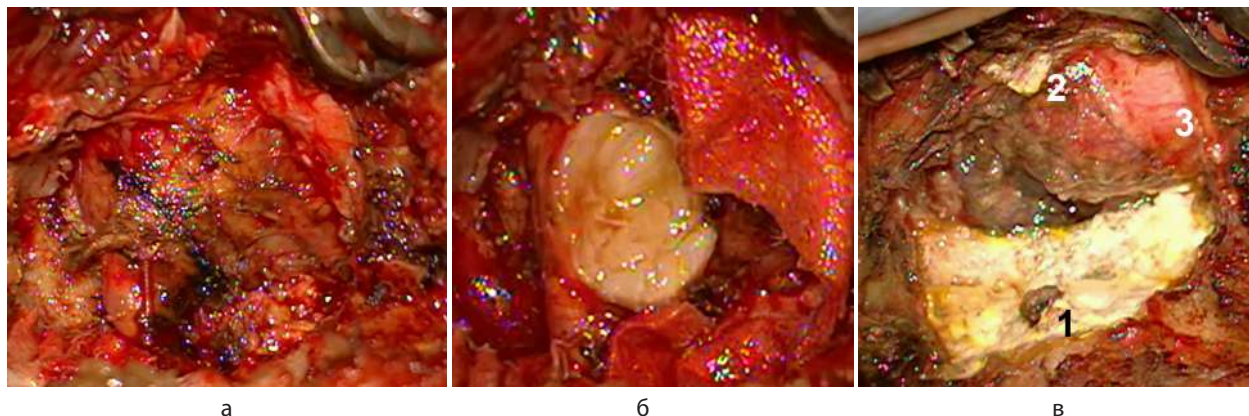


Рис. 2. Пациентка С., интраоперационные фото: а – шваннома в капсуле; б – вскрытие и частичная декомпрессия шванномы; в – ложе удалённой опухоли; 1 – резецированный корешок; 2 – анатомическая целостность пристеночной плевральной оболочки сохранена; 3 – ткань лёгкого

Fig. 2. Patient S., intraoperative photos: а – schwannoma in a capsule; б – opening and partial decompression of the schwannoma; в – the bed of the removed tumor; 1 – resected root; 2 – the anatomical integrity of the parietal pleural membrane is preserved; 3 – lung tissue

спаяна с плеврой верхушки правого лёгкого. Целостность пристеночной плевральной оболочки, ткани лёгкого была не нарушена из-за выраженных спаек висцеральной с париетальной плеврой в месте роста опухоли, поэтому разгерметизации плевральной полости не произошло (рис. 2в). ТМО, покрывающая спинномозговой корешок, из которого росла опухоль, перевязана в области манжеты с целью профилактики развития ликвореи. Гемостаз осуществлён с использованием препарата «Тахокомб» и фибрин-тромбинового клея «Ивисел». Послойно наложены швы на рану. Кровопотеря составила 150 мл, длительность операции – 120 минут.

Интраоперационно при транскраниальной электро-стимуляции прецентральных извилин в начале операции до кожного разреза серией из 5 импульсов силой 220 мА с межимпульсными интервалами 0,1 мс получены моторные ответы со всех периферических мышц-мишеней. Параметры М-ответов, зарегистрированных в начале операции, принимались в качестве базовых. Исходные значения ТсМЕР для оценки динамики при наблюдениях в ходе дальнейших этапов операции регистрировались после формирования хирургического доступа. На этапе удаления объёмного образования амплитуды моторных ответов со всех тестируемых мышц-мишеней значимо не изменялись, по сравнению с исходными. Латентность моторных ответов также значимо не менялась. После удаления объёмного образования амплитуды моторных ответов с мышц-мишеней нижних конечностей и их ла-

тентности также соответствовали исходным значениям и не менялись вплоть до конечного гемостаза и ушивания раны. Кортиковые ответы на стимуляцию правого *n. tibialis* с момента начала операции и до её завершения регистрировались стабильно, амплитудо-временные показатели Р40 существенно не менялись в течение всей операции и соответствовали базовым. Таким образом, в ходе оперативного вмешательства не было отмечено отрицательной динамики электрофизиологических показателей проводниковой функции спинного мозга.

В послеоперационном периоде в неврологическом статусе возникла гипестезия в зоне иннервации правого спинномозгового нерва Th₃, которая более выражено проявлялась в области ареолы и соска правой молочной железы. Аускультативно дыхание в лёгких прослушивалось по всем полям с двух сторон. Данных, свидетельствующих о пневмотораксе, не было.

Через сутки после операции был выполнен МРТ-контроль с контрастным усилением (рис. 3), по результатам которого подтверждено тотальное удаление новообразования. Спустя 3 суток после операции проведена МСКТ органов грудной клетки (рис. 4) с целью визуализации костных структур позвоночника и состояния плевральной полости. По данным МСКТ диагностированы частично резецированная по нижнему краю головка третьего ребра справа и образованный гемиламинэктомический дефект дужки позвонка Th_{IV} справа. Данных, свидетельствующих о наличии пневмоторакса, выявлено не было.

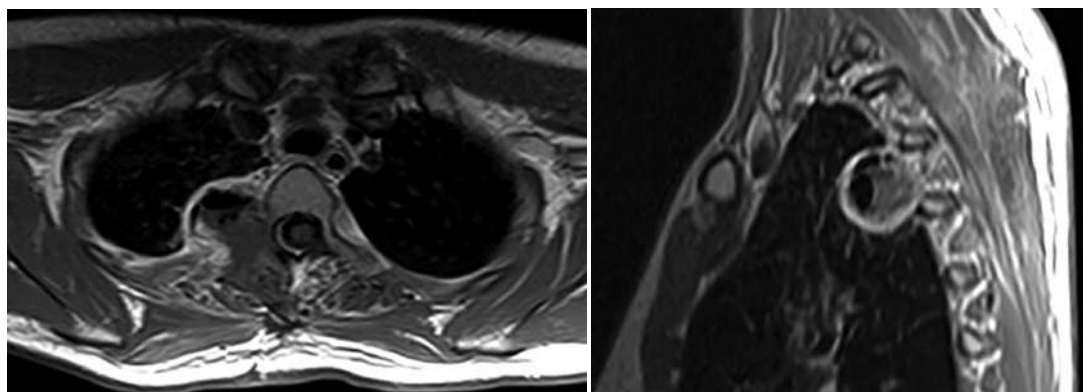


Рис. 3. Пациентка С., 1-е сутки после операции, МРТ-граммы с контрастным усилением грудного отдела позвоночника в 2 проекциях: небольшие участки воздуха и гемостатический материал в ложе удалённого образования, остаточная опухолевая ткань не обнаружена

Fig. 3. Patient S., day 1 after surgery, MRI scans with contrast enhancement of the thoracic spine, 2 projections: small areas of air and hemostatic material in the bed of the removed tumor, no residual tumor tissue was found



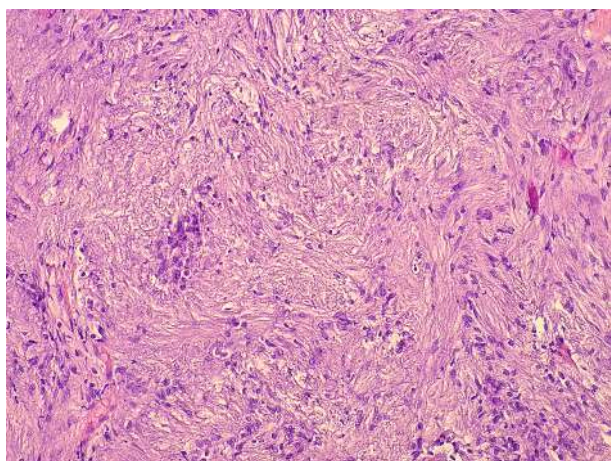
Рис. 4. Пациентка С., 3-и сутки после операции, нативные КТ-граммы грудного отдела позвоночника: визуализирована частично резецированная по нижнему краю головка третьего ребра справа; гемиламинэктомический дефект дужки позвонка Th_{IV} справа

Fig. 4. Patient S., day 3 after surgery, native CT scans of the thoracic spine: the head of the third rib on the right, partially resected along the lower edge, is visualized; hemilaminectomy defect of the Th_{IV} vertebral arch on the right

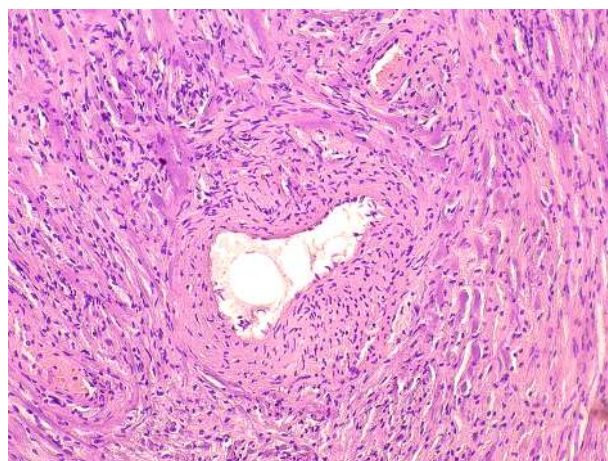
На фоне проводимого лечения отмечена положительная динамика: регресс болей в верхне-грудном отделе позвоночника, появление тактильной чувствительности в зоне иннервации правого спинно-мозгового нерва Th₃ на 7-е сутки. Заживление раны произошло первичным натяжением. В удовлетворительном состоянии пациентка была выписана из отделения на 10-е сутки после операции. Перед выпиской выполнена повторная МСКТ органов грудной клетки, не выявившая наличие воздуха в плевральной полости.

Результаты гистологического исследования: шваннома, Grade I, ICD-O код 9560/0. Ткань опухоли образована вытянутыми веретеноподобными клетками с палочковидными и округлыми ядрами. Между опухолевыми клетками коллагенизированная соединительнотканная строма, большое количество сосудов синусоидного типа, умеренная диффузно-очаговая лимфоидная инфильтрация (рис. 5).

Через 6 и 12 месяцев после операции на момент осмотра пациентка жалоб не предъявляла. МРТ грудного



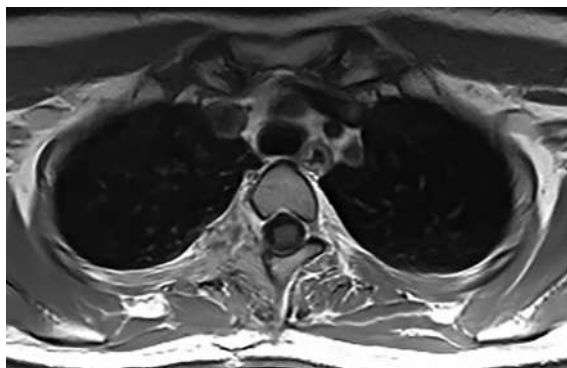
а



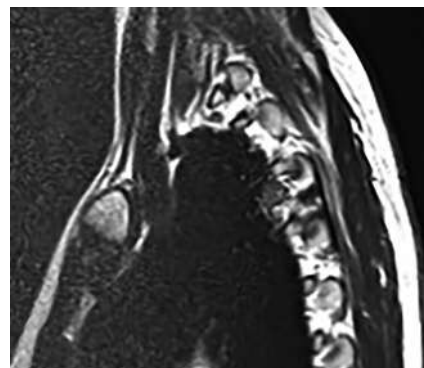
б

Рис. 5. Микропрепарат опухоли, окраска гематоксилином и эозином. Морфологическая картина соответствует шванноме, Grade I: а – веретенообразные и круглые ядра; б – лимфоидная инфильтрация. Ув. ×100

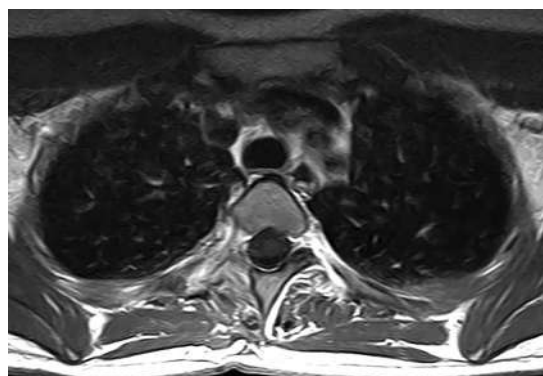
Fig. 5. Microscopic specimen of the tumor, staining with hematoxylin and eosin. The morphological picture corresponds to schwannoma, Grade I: а – spindle-shaped and round nuclei; б – lymphoid infiltration. ×100 magnification



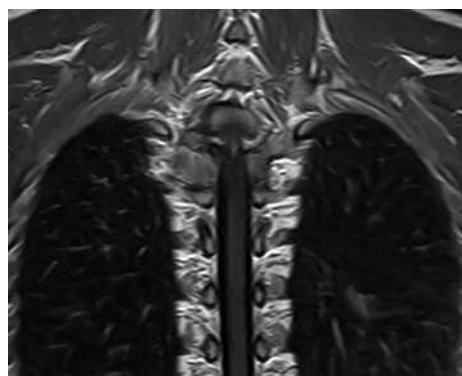
а



б



в



г

Рис. 6. Пациентка С., МРТ-граммы с контрастным усилением грудного отдела позвоночника через 6 месяцев (а, б) и 12 месяцев (в, г) после операции. Остаточная часть опухоли отсутствует, верхушка правого лёгкого расправлена

Fig. 6. Patient S., MRI scans with contrast enhancement of the thoracic spine in 6 months (а, б) and in 12 months (в, г) after surgery. The residual part of the tumor is absent, the right lung apex is straightened

отдела позвоночника не выявила признаков остаточной опухолевой ткани в зоне оперативного вмешательства. Верхушка правого лёгкого расправилась (рис. 6).

ОБСУЖДЕНИЕ

Шванномы с ростом типа «песочные часы» в области грудного отдела позвоночника, как правило, имеют длительное бессимптомное клиническое течение, и только своевременная диагностика или минимальное проявление клинической симптоматики помогут заподозрить образование на ранних его стадиях. Данные опухоли нередко имеют большой паравертебральный компонент, по сравнению с интраканальной частью. Классификация К. Eden 1941 г. выделяет четыре типа роста интра-паравертебральных опухолей (табл. 1) [5].

Таблица 1
Классификация опухолей по К. Eden (1941)

K. Eden (1941) tumour classification

Table 1

Тип опухоли	Топографо-анатомическая характеристика опухоли
Тип I	Интрадуральная и экстрадуральная
Тип II	Интрадурально-экстрадурально-паравертебральная
Тип III	Экстрадуральная и паравертебральная
Тип IV	Фораминальная и паравертебральная

Данная классификация, основанная на анатомической локализации опухоли, позволяет в зависимости от характера её распространения планировать операционный доступ и объём хирургического вмешательства. Первым шагом в определении оптимального хирургического доступа является определение размеров опухоли, её расположения относительно спинного мозга и органов грудной клетки. В литературе для резекции данных видов опухолей описано большое количество различных микрохирургических доступов включая задние, боковые, трансторакальные, комбинированные, с использованием эндоскопической техники, направленные на резекцию опухолей [5, 11, 12, 13, 14, 15, 16].

Следует всегда помнить, что большое количество хирургических доступов, укладка пациентов на операционном столе не могут полностью обезопасить хирурга и больного от возможных интра- и послеоперационных осложнений или полностью упростить ход проводимой операции. При открытом микрохирургическом доступе опухоль должна быть как можно больше обнажена для тотального её удаления. Большинство опухолей типа «песочные часы» имеют чёткие границы с окружающими тканями и костными структурами, что позволяет отделить их от пристеночной плевральной оболочки, которая, как карман, плотно прилежит к невриноме в результате длительной её компрессии. Нарушение анатомической целостности плевральной оболочки может спровоцировать ятрогенный пневмоторакс. При повреждении плевры и твёрдой мозговой оболочки, с учётом отрицательного давления в грудной клетке, также могут возникнуть такие грозные осложнения, как гидропневмоторакс вследствие затёка ликвора в грудную полость и ликворная гипотензия. Поэтому очень важно проводить герметизацию субдурального пространства спинного мозга путём не только наложения герметичных

швов, но и использования аутотрансплантатов, дополняя всё это клеевыми композициями и гемостатическими материалами. До настоящего времени дискуссионным остаётся вопрос обеспечения стабильности грудного отдела позвоночника после удаления образований типа «песочные часы» [17, 18]. Здесь хирургическая стратегия формируется индивидуально: учитывается возраст пациента, характер распространения опухоли, её размер, имеющаяся деструкция прилежащих костных структур позвоночника и планируемого объёма резекции его образований, межпозвоночных суставов и рёбер.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данное клиническое наблюдение, по нашему мнению, представляет интерес по следующим причинам:

1. Случайная находка новообразования при проведении диспансеризации.
2. В литературе представлены единичные наблюдения с невринами грудного отдела позвоночника IV типа по классификации К. Eden у пациентов до 30 лет.
3. Тотальное удаление выполнено с использованием заднего малоинвазивного паравертебрального доступа со щадящей резекцией задних структур позвоночника. Использование данного вида доступа позволило полностью визуализировать образования, окружающие невриному, и с минимальной кровопотерей тотально её резецировать, при этом не нарушив герметичности плевральной полости, исключив развитие гидропневмоторакса в послеоперационном периоде и получив хороший клинический результат. Кроме этого, использование щадящего доступа исключило дополнительную фиксацию грудного отдела позвоночника.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источник финансирования

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Благодарности

Авторы выражают признательность и благодарность М.А. Селяковой за активное участие в исследовании морфологического материала и предоставлении иллюстративных данных, а также за ценные советы при описании морфологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Samartzis D, Gillis C, Shih P, O'Toole JE, Richard GF. Intramedullary spinal cord tumors: Part I. Epidemiology, pathophysiology, and diagnosis. *Global Spine J.* 2015; 5(5): 425-435. doi: 10.1055/s-0035-1549029
2. Sun IM, Necmettin P. Non-syndromic spinal schwannomas: a novel classification. *Front Neurol.* 2017; 17(8): 318. doi: 10.3389/fneur.2017.00318
3. Васильев И.А., Ступак В.В., Цветовский С.Б., Пендюрин И.В., Селякова М.С., Воронина Е.И., и др. Поздний рецидив невринома спинного мозга после одномоментного тотального удаления. *Хирургия позвоночника.* 2018; (3): 100-105. doi: 10.14531/ss2018.3.100-105
4. Pojskić M, Zbytek B, Mutrić CJ, Arnautović KI. Spinal dumbbell epidural hemangioma: two stage/same sitting/same position posterior microsurgical and transthoracic endoscopic resection – case report and review of the literature. *Acta Clin Croat.* 2018; 57(4): 797-808. doi: 10.20471/acc.2018.57.04.27
5. Rong HT, Fan YS, Li SP, Zhang ZS, Liu H, Liu T, et al. Management of dumbbell and paraspinal tumors of the thoracic spine

using a single-stage posterolateral approach: case series. *Orthop Surg.* 2020; 10(4): 343-349. doi: 10.1111/os.12405

6. Bobinski L, Henchoz Y, Sandu K, Duff JM. Single stage transforaminal retrojugular tumor resection: The spinal keyhole for dumbbell tumors in the cervical spine. *Surg Neurol.* 2015; 1(6): 53. doi: 10.4103/2152-7806.154453

7. Thorat JD, Rajendra T, Thirugnanam A, Ng IHB. Single-stage posterior midline approach for dumbbell tumors of the thoracic spine, with intraoperative CT guidance. *Surg Neurol Int.* 2011; 23(2): 31. doi: 10.4103/2152-7806.77272

8. McCormick PC. Surgical management of dumbbell and paraspinous tumors of the thoracic and lumbar spine. *Neurosurgery.* 1996; 38(1): 67-74.

9. Ando K, Imagama S, Wakao N, Hirano K, Tauchi R, Muramoto A, et al. Single-stage removal of thoracic dumbbell tumors from a posterior approach only with costotransversectomy. *Yonsei Med J.* 2012; 53(3): 611-617. doi: 10.3349/ymj.2012.53.3.611

10. Ступак В.В., Шабанов С.В., Пендюрин И.В., Рабинович С.С. Результаты хирургического лечения пациентов с экстрамедуллярными опухолями типа песочных часов. *Хирургия позвоночника.* 2014; (4): 65-71. doi: 10.14531/ss2014.4.65-71

11. Ando K, Imagama S, Ito Z, Tauchi R, Muramoto A, Matsui H, et al. Removal of thoracic dumbbell tumors through a single-stage posterior approach : its usefulness and limitations. *J Orthop Sci.* 2013; (18): 380-387.

12. Maeda S, Takahashi S, Koike K, Sato M. Preferred surgical approach for dumbbell-shaped tumors in the posterior mediastinum. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 2011, 17(4): 394-396. doi: 10.5761/atcs.cr.10.01537

13. Nzokou A, Weil AG, Shedid D. Minimally invasive removal of thoracic and lumbar spinal tumors using a nonexpandable tubular retractor. *J Neurosurg Spine.* 2013, 19(6): 708-715. doi: 10.3171/2013.9.SPINE121061

14. Shi J, Ding H, Fu B, Niu N, Yue X, Yang Z, et al. Combined posterior and anterior approaches for resection of thoracolumbar spinal huge dumbbell-shaped tumor. *Zhongguo Xue Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* 2016; 30 (2): 183-188.

15. Payer M, Radovanovic I, Jost G. Resection of thoracic dumbbell neurinomas: single postero-lateral approach or combined posterior and transthoracic approach. *J Clin Neurosci.* 2006; 13(6): 690-693. doi: 10.1016/j.jocn.2005.09.010

16. Prieto R, Santander X, Naranjo JM, Marín E, Corbacho C. Giant dumbbell-shaped thoracic schwannoma in an elderly patient resected through a single-stage combined laminectomy and video-assisted thoracoscopy: surgical strategy and technical nuances. *World Neurosurg.* 2018; 119(6): 155-162. doi: 10.1016/j.wneu.2018.07.238

17. Sis HL, Mannen EM, Wong BM, Cadel ES, Bouxsein ML, Anderson DE, et al. Effect of follower load on motion and stiffness of the human thoracic spine with intact rib cage. *J Biomech.* 2016; 49(14): 3252-3259. doi: 10.1016/j.jbiomech.2016.08.003

18. Liebsch C, Graf N, Wilke HJ. Wire cerclage can restore the stability of the thoracic spine after median sternotomy: an in vitro study with entire rib cage specimens. *Eur Spine J.* 2017; 26(5): 1401-1407. doi: 10.1007/s00586-016-4768-x

REFERENCES

1. Samartzis D, Gillis C, Shih P, O'Toole JE, Richard GF. Intramedullary spinal cord tumors: Part I. Epidemiology, pathophysiology, and diagnosis. *Global Spine J.* 2015; 5(5): 425-435. doi: 10.1055/s-0035-1549029

2. Sun IM, Necmettin P. Non-syndromic spinal schwannomas: a novel classification. *Front Neurol.* 2017; 17(8): 318. doi: 10.3389/fneur.2017.00318

3. Vasilyev IA, Stupak VV, Tsvetkovskiy SB, Pendyurin IV, Selyakova MS, Voronina EI. et al. Late recurrence of spinal cord neuroma after one-stage total excision. *Spine Surgery.* 2018; (3): 100-105. doi: 10.14531/ss2018.3.100-105. (In Russ.)

4. Pojskić M, Zbytek B, Mutrie CJ, Arnautović KI. Spinal dumbbell epidural hemangioma: two stage/same sitting/same position posterior microsurgical and transthoracic endoscopic resection – case report and review of the literature. *Acta Clin Croat.* 2018; 57(4): 797-808. doi: 10.20471/acc.2018.57.04.27

5. Rong HT, Fan YS, Li SP, Zhang ZS, Liu H, Liu T, et al. Management of dumbbell and paraspinous tumors of the thoracic spine using a single-stage posterolateral approach: case series. *Orthop Surg.* 2020; 10(4): 343-349. doi: 10.1111/os.12405

6. Bobinski L, Henchoz Y, Sandu K, Duff JM. Single stage transforaminal retrojugular tumor resection: The spinal keyhole for dumbbell tumors in the cervical spine. *Surg Neurol.* 2015; 1(6): 53. doi: 10.4103/2152-7806.154453

7. Thorat JD, Rajendra T, Thirugnanam A, Ng IHB. Single-stage posterior midline approach for dumbbell tumors of the thoracic spine, with intraoperative CT guidance. *Surg Neurol Int.* 2011; 23(2): 31. doi: 10.4103/2152-7806.77272

8. McCormick PC. Surgical management of dumbbell and paraspinous tumors of the thoracic and lumbar spine. *Neurosurgery.* 1996; 38(1): 67-74.

9. Ando K, Imagama S, Wakao N, Hirano K, Tauchi R, Muramoto A, et al. Single-stage removal of thoracic dumbbell tumors from a posterior approach only with costotransversectomy. *Yonsei Med J.* 2012; 53(3): 611-617. doi: 10.3349/ymj.2012.53.3.611

10. Stupak VV, Shabanov SV, Pendyurin IV, Rabinovich SS. Results of surgical treatment of patients with extramedullary dumbshell tumors. *Spine Surgery.* 2014; (4): 65-71. doi: 10.14531/ss2014.4.65-71. (In Russ.)

11. Ando K, Imagama S, Ito Z, Tauchi R, Muramoto A, Matsui H, et al. Removal of thoracic dumbbell tumors through a single-stage posterior approach : its usefulness and limitations. *J Orthop Sci.* 2013; (18): 380-387.

12. Maeda S, Takahashi S, Koike K, Sato M. Preferred surgical approach for dumbbell-shaped tumors in the posterior mediastinum. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 2011, 17(4): 394-396. doi: 10.5761/atcs.cr.10.01537

13. Nzokou A, Weil AG, Shedid D. Minimally invasive removal of thoracic and lumbar spinal tumors using a nonexpandable tubular retractor. *J Neurosurg Spine.* 2013, 19(6): 708-715. doi: 10.3171/2013.9.SPINE121061

14. Shi J, Ding H, Fu B, Niu N, Yue X, Yang Z, et al. Combined posterior and anterior approaches for resection of thoracolumbar spinal huge dumbbell-shaped tumor. *Zhongguo Xue Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* 2016; 30 (2): 183-188.

15. Payer M, Radovanovic I, Jost G. Resection of thoracic dumbbell neurinomas: single postero-lateral approach or combined posterior and transthoracic approach. *J Clin Neurosci.* 2006; 13(6): 690-693. doi: 10.1016/j.jocn.2005.09.010

16. Prieto R, Santander X, Naranjo JM, Marín E, Corbacho C. Giant dumbbell-shaped thoracic schwannoma in an elderly patient resected through a single-stage combined laminectomy and video-assisted thoracoscopy: surgical strategy and technical nuances. *World Neurosurg.* 2018; 119(6): 155-162. doi: 10.1016/j.wneu.2018.07.238

17. Sis HL, Mannen EM, Wong BM, Cadel ES, Bouxsein ML, Anderson DE, et al. Effect of follower load on motion and stiffness of the human thoracic spine with intact rib cage. *J Biomech.* 2016; 49(14): 3252-3259. doi: 10.1016/j.jbiomech.2016.08.003

18. Liebsch C, Graf N, Wilke HJ. Wire cerclage can restore the stability of the thoracic spine after median sternotomy: an in vitro study with entire rib cage specimens. *Eur Spine J.* 2017; 26(5): 1401-1407. doi: 10.1007/s00586-016-4768-x

Сведения об авторах

Васильев Игорь Анатольевич – кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения нейрохирургии, врач-нейрохирург нейрохирургического отделения № 1, ФГБУ «Новосибирский Научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, e-mail: vasilievigor500@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-6118-5570>

Пендюрин Иван Викторович – кандидат медицинских наук, заведующий нейрохирургическим отделением № 1, врач-нейрохирург, ФГБУ «Новосибирский Научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, e-mail: ivan75nsk@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4263-9980>,
Бузунов Алексей Владимирович – кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения детской ортопедии, ФГБУ «Новосибирский Научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, e-mail: alekseibuzunov@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4438-8863>
Цветовский Сергей Борисович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отделения нейрохирургии, ФГБУ «Новосибирский Научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, e-mail: sercvet@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7923-8772>
Ступак Евгений Вячеславович – младший научный сотрудник отделения нейрохирургии, врач-нейрохирург нейрохирургического отделения № 1, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, e-mail: Stupakphoto@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5161-3817>
Ступак Вячеслав Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, врач-нейрохирург, заведующий отделением нейрохирургии, ФГБУ «Новосибирский Научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, e-mail: VStupak@niito.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3222-4837>

Information about the authors

Igor A. Vasilyev – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Department of Neurosurgery, Neurosurgeon at the Neurosurgical Unit N 1, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics named after Ya.L. Tsvyanyan, e-mail: vasilevigor500@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0001-6118-5570>
Ivan V. Pendyurin – Cand. Sc. (Med.), Head of the Neurosurgical Unit N 1, Neurosurgeon, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics named after Ya.L. Tsvyanyan, e-mail: ivan75nsk@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4263-9980>,
Aleksey V. Buzunov – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Department of Pediatric Orthopaedics, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics named after Ya.L. Tsvyanyan, e-mail: alekseibuzunov@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4438-8863>
Sergey B. Tsvetkovskiy – Cand. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Department of Neurosurgery, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics named after Ya.L. Tsvyanyan, e-mail: sercvet@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-7923-8772>
Evgeniy V. Stupak – Junior Research Officer at the Department of Neurosurgery, Neurosurgeon at the Neurosurgical Unit N 1, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics named after Ya.L. Tsvyanyan, e-mail: Stupakphoto@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-5161-3817>
Vyacheslav V. Stupak – Dr. Sc. (Med.), Professor, Neurosurgeon, Head of the Department of Neurosurgery, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics named after Ya.L. Tsvyanyan, e-mail: VStupak@niito.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3222-4837>

Вклад авторов

Васильев И.А. – участие в проведении операции (оперирующий хирург), идея, обсуждение концепции, апробация метода, подборка и анализ материала, формулирование выводов, формирование текста статьи, редактирование статьи.
 Пендюрин И.В. – участие в проведении операции (первый ассистент), обсуждение концепции, анализ материала, редактирование статьи.
 Бузунов А.В. – участие в проведении операции, запись и интерпретация соматосенсорных вызванных потенциалов спинного мозга.
 Цветовский С.Б. – интерпретация соматосенсорных вызванных потенциалов спинного мозга, обсуждение и обработка полученных данных.
 Ступак Е.В. – участие в проведении операции (второй ассистент), анализ клинических данных.
 Ступак В.В. – обсуждение концепции, формулирование выводов, финальная редакция статьи.

Статья получена: 30.11.2020. Статья принята: 08.12.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 30.11.2020. Accepted: 08.12.2020. Published: 26.12.2020.

Хирургическое лечение поражения Андерссона при анкилозирующем спондилите, возникшего после корригирующей вертебротомии в отдалённом периоде (клинический случай)

Рерих В.В.^{1,2}, Дубинин Е.В.¹

¹ ФГБУ «Новосибирский Научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России (630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17, Россия); ² ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (631091, г. Новосибирск, Красный пр., 52, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Дубинин Евгений Валерьевич, e-mail: dubininevgeniy@bk.ru

Резюме

Целью работы стало освещение на клиническом примере результата двухэтапного хирургического лечения поражения Андерссона, проведённого в отдалённом периоде после одноэтапной коррекции флексионной деформации анкилозированного позвоночника без фиксации.

Результаты. Проведён анализ результата лечения через три года после декомпрессивно-корригирующей стабилизирующей операции, выполненной по поводу поражения Андерссона на уровне Th_x-Th_{x1} развившегося через 10 лет после коррекции флексионной деформации анкилозированного позвоночника путём «открытой» вертебротомии $L_{IV}-L_V$. Прогрессирования поражения Андерссона на всех ранее выявленных позвоночных сегментах не отмечено. Имевший место неврологический дефицит регрессировал с категории С до Е по шкале ASIA (American Spinal Injury Association, Американская ассоциация спинальной травмы). Выявлена нормализация параметра сагиттального баланса SVA (вертикальная сагиттальная ось) при сохранившемся локальном кифозе на уровне Th_x-Th_{x1} 15° (исходный показатель – 30°). Показатели ODI (Oswestry disability index, индекс инвалидности Освестри), VAS (visual analogue scale, визуально-аналоговая шкала) и FIM (functional independence measure, шкала функциональной независимости) до операции составили, соответственно, 67, 6 и 82, через 3 года после операции – 10, 0 и 126.

Заключение. В представленном клиническом случае хирургическая коррекция деформации, проведённая с учётом параметров сагиттального баланса, со стабилизацией вентральной и дорсальной колонн, декомпрессией, позволили предупредить прогрессирование поражения Андерссона, достичь регресса неврологической симптоматики и улучшить качество жизни больного.

Ключевые слова: повреждение Андерссона, корригирующая вертебротомия, анкилозирующий спондилит, сагиттальный баланс, нестабильность

Для цитирования: Рерих В.В., Дубинин Е.В. Хирургическое лечение поражения Андерссона при анкилозирующем спондилите, возникшего после корригирующей вертебротомии в отдалённом периоде (клинический случай). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 165-170. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.19

Surgical Treatment of Andersson's Lesion in Ankylosing Spondylitis after Corrective Vertebrotoomy in the Long Term (Clinical Observation)

Rerikh V.V.^{1,2}, Dubinin E.V.¹

¹ Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics named after Ya.L. Tsivyan (Frunze str. 17, Novosibirsk 630091, Russian Federation); ² Novosibirsk State Medical University (Krasniy prospect 52, Novosibirsk 631091, Russian Federation)

Corresponding author: Evgeniy V. Dubinin, e-mail: dubininevgeniy@bk.ru

Abstract

Using a clinical example, the authors set the goal of elucidating the result of a two-stage surgical treatment of Andersson's lesion, carried out in the long-term period after a one-stage correction of flexion deformity of the ankylosed spine without fixation.

Results. The analysis of the results of treatment three years after decompression-corrective stabilizing surgery performed for Anderson's lesion at the Th_x-Th_{x1} level, which developed 10 years after the correction of flexion deformity of the ankylosed spine by "open" vertebrotoomy $L_{IV}-L_V$. No progression of Anderson's lesion in all previously identified vertebral segments was noted. The existing neurological deficit regressed from ASIA C to ASIA E. Normalization of the SVA sagittal balance parameter was revealed, with preserved local kyphosis at the Th_x-Th_{x1} level of 15° (initial – 30°). The indicator ODI (Oswestry Disability Index), VAS and FIM (Functional Independence Measure) were, respectively, before surgery 67, 6 and 82, 3 years after surgery – 10, 0 and 126.

Conclusion. In the presented case, the surgical correction of the deformity, carried out taking into account the parameters of the sagittal balance, with the stabilization of the ventral and dorsal columns, and decompression, made it possible to prevent the progression of Andersson's lesion, achieve regression of neurological symptoms, and improve the patient's quality of life.

Key words: Andersson's lesion, corrective vertebrotoomy, ankylosing spondylitis, sagittal balance, instability

For citation: Rerikh V.V., Dubinin E.V. Surgical Treatment of Andersson's Lesion in Ankylosing Spondylitis after Corrective Vertebrotoomy in the Long Term (Clinical Observation). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 165-170. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.19

ВВЕДЕНИЕ

Повреждение Андерссона (ПА) – это поражение позвоночника, которое встречается у пациентов с анкилозирующим спондилитом (АС) и проявляется в виде участка хронического подвижного несращения в позвоночно-двигательном сегменте. Впервые данное поражение описал шведский рентгенолог Олаф Андерссон в 1937 году. ПА встречается у пациентов с АС в 1–28 % случаев [1]. Пациенты с ПА испытывают острую локализованную боль, усиливающуюся при активности и уменьшающуюся при покое, которая может сопровождаться неврологическим дефицитом в 23 % случаев [1, 2]. Диагностика ранних стадий ПА основана не только на анализе клинической картины, но и, прежде всего, на широком использовании МСКТ- или МРТ-обследования у этой категории больных [3]. Наиболее распространённое мнение о причинах возникновения ПА связано с травматическими и воспалительными факторами [4]. Исходя из этого, обосновываются различные, включая и хирургические, стратегии в лечении ПА при анкилозирующем спондилите [5, 6, 7].

Однако в литературе не отражены случаи возникновения ПА после проведения корригирующей вертебротомии, осуществлённой по поводу деформации анкилозированного позвоночника. Не определены причины возникновения данной патологии и подходы к её лечению. Поэтому на клиническом примере мы поставили **цель** продемонстрировать результат двухэтапного хирургического лечения поражения Андерссона, проведённого в отдалённом периоде после одноэтапной коррекции флексионной деформации анкилозированного позвоночника без фиксации.

ОПИСАНИЕ КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ

В нашем наблюдении пациенту Ш., 67 лет, длительно страдающему анкилозирующим спондилитом, по поводу флексионной деформации позвоночника в 2004 г. было проведено хирургическое вмешательство в виде корригирующей вертебротомии на уровне $L_{IV}-L_V$. Послеоперационное течение и полученный результат вполне удовлетворяли пациента. Однако в 2016 г. пациент отметил появление выраженных болей в груднопоясничной области, слабость в нижних конечностях, сопровождавшуюся чувством возникновения подвижности в грудном отделе позвоночника. Течение болезни отягощалось наличием полной слепоты. Нарастающая слабость в ногах привела к невозможности самостоятельно ходить, стоять без поддержки и к необходимости пользоваться коляской. В связи с этим в 2017 г. пациент обратился в Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна, где ему было проведено комплексное клинко-рентгенологическое обследование.

Из-за выраженных болей и слабости нижних конечностей пациент перемещается при помощи кресла-каталки. При осмотре выявлен выраженный кифоз в груднопоясничной области. При пальпации зоны остистых отростков на уровне $Th_{IX}-L_I$ выявляется болезненность, мышцы на данном уровне напряжены. В неврологическом статусе имеется нижний парапарез, категория С по шкале ASIA (American Spinal Injury Association, Американская ассоциация спинальной травмы). Анализ результатов ODI (Oswestry Disability Index, индекс инвалидности

Освестри), FIM (Functional Independence Measure, шкала функциональной независимости) и VAS (visual analogue scale, визуально-аналоговая шкала) (соответственно, 67, 82 и 6) указывает на низкую функциональную дееспособность и выраженную боль в позвоночнике.

Проведены рентгенологическое и МСКТ-обследования, на которых определили наличие зоны псевдоартроза на уровне Th_X-Th_{XI} , соответствующее признакам ПА, с угловым кифозом на этом уровне 30° (рис. 1а). На уровне $L_{IV}-L_V$ имеется сформированный блок задних структур, гиперлордоз 70°. При выполнении функциональных снимков, флексии и экстензии в горизонтальном положении определяется подвижность Th_X-Th_{XI} в 7°. На МРТ выявляется зона ложного сустава на уровне Th_X-Th_{XI} , сужение позвоночного канала на уровне Th_X-Th_{XI} на 42 %. Имеется кифотическая деформация на уровне Th_X-Th_{XI} сегмента. Спинной мозг на уровне Th_X-Th_{XI} деформирован, уплощён, в его структуре в режиме T2-ВИ выявляется очаг повышенной интенсивности размером 18 × 5 мм, свидетельствующий о компрессионно-ишемической миелопатии. Регистрируются очаговые изменения тел $Th_I, Th_{II}-Th_{III}, Th_{IV}-Th_V, Th_{VI}-Th_{VII}-Th_{VIII}$, характерные для ПА (рис. 1б).

На основании клинко-рентгенологических данных поставлен диагноз: Анкилозирующий спондилит. Повреждение Андерссона на уровне $Th_I, Th_{II}-Th_{III}, Th_{IV}-Th_V, Th_{VI}-Th_{VII}-Th_{VIII}$ с формированием кифоза 30°, стеноза позвоночного канала 42 %, псевдоартроза и нестабильности на уровне Th_X-Th_{XI} . Компрессионно-ишемическая миелопатия, нижний парапарез. Категория С по шкале ASIA. Остеопороз позвоночника.

Сопутствующие заболевания: гипертоническая болезнь 2-я стадия, I степень, риск 3. Хроническая сердечная недостаточность I стадия. Полная слепота обоих глаз.

Учитывая наличие болевого синдрома, нестабильности на уровне повреждения, неврологического дефицита, обусловленного компрессионно-ишемической миелопатией, пациенту было показано этапное декомпрессивно-корригирующее стабилизирующее хирургическое вмешательство. Первым этапом выполнена декомпрессивная ламинэктомия $Th_X-Th_{XI}-Th_{XII}$, транспедикулярная фиксация $Th_{IX}-Th_X-Th_{XII}-L_I$, коррекция кифоза. В ходе операции в задних структурах позвоночника Th_X-Th_{XI} сформирован дефект размером 7 × 2,0 см, после чего появилась отчётливая пульсация дурального мешка. В этих условиях с учётом предоперационного планирования дана коррекция в 15° на уровне повреждения. Течение послеоперационного периода гладкое.

В послеоперационном периоде проведено МСКТ-обследование, на котором определяется послеоперационный постламинэктомический дефект заднего отдела дужек $Th_X-Th_{XI}-Th_{XII}$ позвонков. Остаточный кифоз на уровне Th_X-Th_{XI} составляет 15° (рис. 2а).

Через 7 дней выполнен второй этап оперативного вмешательства: вентральный спондилодез Th_X-Th_{XI} сетчатым имплантатом и аутокостью (рис. 2б). У больного отмечался регресс неврологической симптоматики, который оценен неврологом на амбулаторном приёме через 6 месяцев как категория Е по шкале ASIA.

Через 3 года после оперативного вмешательства пациент был осмотрен на амбулаторном приёме, ему было выполнено рентгенологическое и МРТ-обследование. Пациент не предъявляет жалоб на боли и чувство слабо-

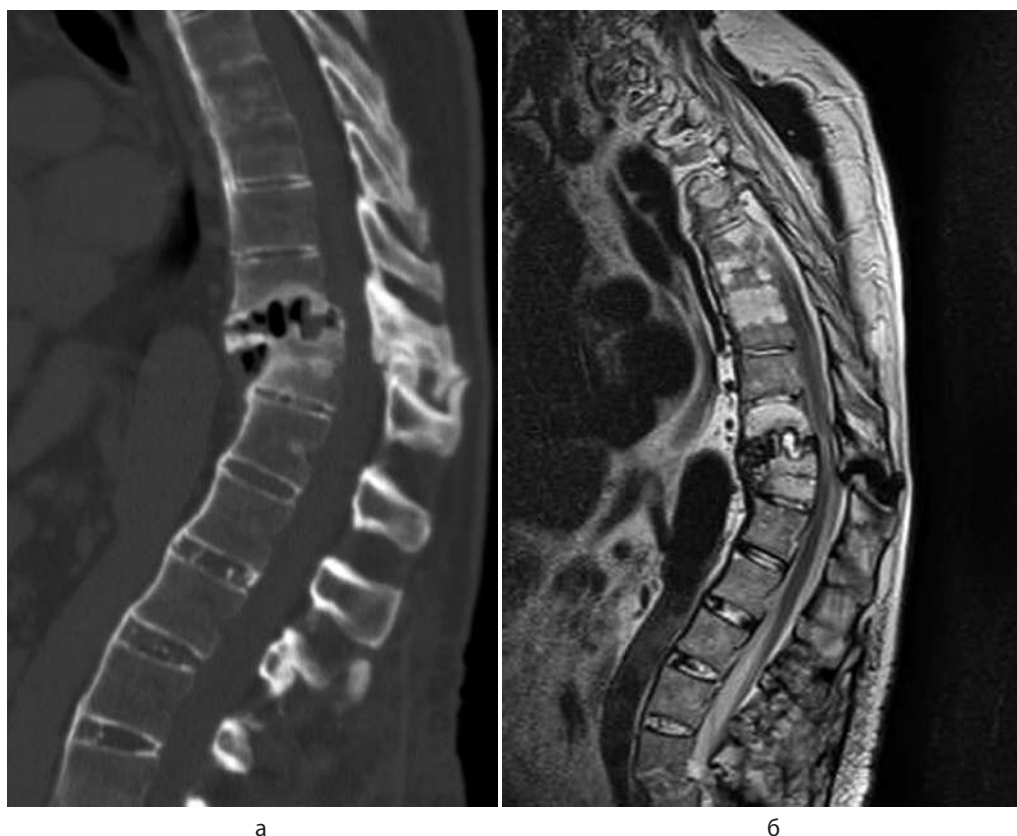


Рис. 1. Обследование пациента Ш. до операции: а – МСКТ груднопоясничного отдела позвоночника; б – МРТ грудного и поясничного отделов позвоночника

Fig. 1. Patient Sh. Preoperative multi-layer spiral CT of thoracolumbar spine (a) and MRI scan of thoracic and lumbar spine (б)



Рис. 2. Обследование пациента Ш. после операции: а – МСКТ после первого этапа хирургического лечения; б – рентгенограмма груднопоясничного отдела позвоночника после второго этапа хирургического лечения

Fig. 2. Patient Sh. Multi-layer spiral CT after the first stage of surgical treatment (a), X-ray of the thoracolumbar spine after the second stage of surgical treatment

сти, полностью социально адаптирован. Поза пациента при визуальном осмотре удовлетворительная (рис. 3). Проведено анкетирование по шкалам ODI, FIM и VAS – результаты составили, соответственно, 10, 126 и 0, что указывает на хорошую функциональную дееспособность, отсутствие болевого синдрома, адекватной социальной адаптации.



Рис. 3. Пациент Ш., фотография через 3 года после операции
Fig. 3. Patient Sh. Photo 3 years after surgery

На рентгенограмме, выполненной в STEP-режиме, рассчитаны по принятым стандартам следующие параметры [8]: SVA – норма, PI (угол наклона таза) – 50° , PT (угол отклонения таза) – 17° , SS (угол наклона крестца) – 34° , GLL (величина глобального поясничного лордоза) – 70° , TK (угол грудного кифоза) – 68° (рис. 4).

На МРТ (рис. 5) выявляются морфологические признаки анкилозирующего спондилита. Сохраняются характерные для ПА очаговые изменения тел Th_{IV} , Th_{II} – Th_{III} , Th_{IV} – Th_{V} , Th_{VI} – Th_{VII} , Th_{VIII} , Th_{IX} – Th_{XI} позвонков, не отмечено существенных различий при сравнении с данными МРТ-обследования, проведённого в 2017 г. Компрессия спинного мозга на грудном уровне не определяется. Деформация передней стенки дурального мешка на уровне каудального отдела тела Th_X позвонка.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исходя из теоретического обоснования механизмов, приводящих к повреждению Андерссона, проведённого J.L. Bron et al. (2009), в нашем случае отмечался 2-й тип повреждения на уровне Th_X – Th_{XI} , характеризующийся сочетанием воспалительного и механического факторов, вызывающим чрездисковое разрушение [4]. На вышерасположенных уровнях выявлен воспалительный фактор т.е. повреждение 1-го типа. Только использование МРТ как более чувствительного метода для определения ПА, особенно при его полифокальности, дающего 85 % положительных результатов (в то время как рутинная рентгенография – лишь 37 %), позволило нам выявить эти изменения [8].

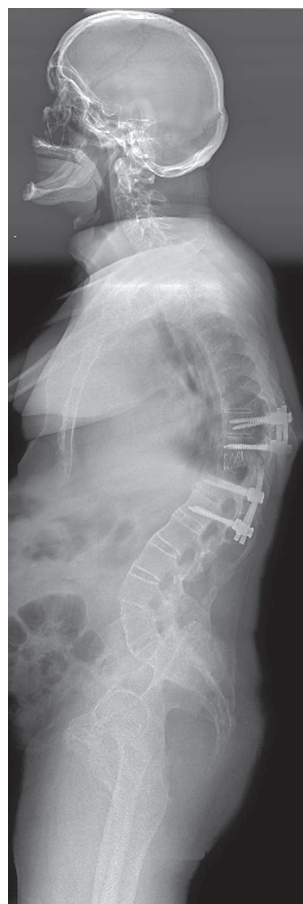


Рис. 4. Пациент Ш., рентгенограмма в STEP-режиме через 3 года после этапного хирургического лечения
Fig. 4. Patient Sh. X-ray in STEP mode 3 years after surgery



Рис. 5. Пациент Ш., МРТ грудного и груднопоясничного отделов позвоночника через 3 года после оперативного лечения
Fig. 5. Patient Sh. MRI of the thoracic and thoracolumbar spine 3 years after surgery

Неврологический дефицит, как правило, возникает в результате наступающей нестабильности и прогрессирования сдвиговой и угловой деформации, прогрессирующего стеноза за счёт внутриканально образующихся рубцов. В результате действия этих компонентов постепенно нарастает компрессия спинного мозга, спинномозговых корешков, приводящая к миелопатии, радикулопатии. Фоновое изменение сосудов, вызванное основным заболеванием, по-видимому, вносит свой вклад в развитие ишемии спинного мозга. Проведение декомпрессивно-стабилизирующих операций на как можно более раннем сроке приводит к регрессу неврологической симптоматики, особенно в случае неполного неврологического дефицита [9].

В нашем случае позднего проявления ПА имеет место полифокальность без отчётливо перенесённой травмы. Немаловажное значение имеет и факт коррекции деформации анкилозированного позвоночника, достигнутой путём локальной вертебротомии на нижнепоясничном уровне и осуществлённой более чем за 10 лет до проявления нестабильности. Необходимо отметить, что оценка сагиттального баланса не проводилась ввиду отсутствия количественных понятий о нём в тот период развития вертебрыологии. К настоящему времени определены некоторые показатели сагиттального баланса, которые являются предикторами дисбаланса после корригирующей вертебротомии анкилозированного позвоночника, выполненной по поводу его флексионной деформации: $SVA > 70$ мм и $PI > 50$ [10].

В нашем случае после проведённой декомпрессивно-стабилизирующей-корригирующей операции достигнут $SVA = N$. По данным показателям можно сделать вывод, что после этой операции пациент был полностью сбалансирован, и полная коррекция кифотической деформации в 30° не требовалась. Так, при полной коррекции уровня повреждения в 30° пациенту пришлось бы компенсировать гиперкоррекцию (линия гравитации проходила бы через задний край центра головок бедренных костей), что, возможно, в дальнейшем способствовало бы прогрессированию ПА на вышележащих уровнях.

Лучшие возможные результаты восстановления параметров сагиттального баланса возникают у пациентов при перемещении вершины кифоза после корригирующей вертебротомии на уровень Th_{VIII} ; более каудальное расположение обеспечивает худшие результаты [11].

В нашем случае после первой вертебротомии вершина оказалась на уровне $Th_{X}-Th_{XI}$. Поэтому можно предполагать, что гиперкоррекция, полученная в результате операции, могла служить поводом к прогрессированию проксимального кифоза, что отражено в современных источниках [12]. Исправление нами локального кифоза на уровне $Th_{X}-Th_{XI}$ с 30° до 15° привело к наиболее благоприятным условиям баланса и, в частности, к нормализации SVA.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При планировании хирургического лечения деформаций анкилозированного позвоночника необходимо обращать внимание на моно- или полифокальные рентгенологические и МРТ-изменения, указывающие на наличие повреждения Андерссона, и особенно на те, которые локализируются на вершине деформации. При выполнении корригирующих операций необхо-

димо учитывать параметры сагиттального баланса позвоночника и закономерно происходящую при этом транслокацию вершины деформации. Стремление добиться гиперкоррекции может привести к увеличению флексионных нагрузок на этот уровень, а при наличии повреждения Андерссона – к развитию нестабильности. В представленном случае хирургическая коррекция деформации с учётом параметров сагиттального баланса, стабилизация вентральной и дорсальной колонн, декомпрессия позволили предупредить развитие повреждения Андерссона, достичь стабилизации и регресса неврологической симптоматики, улучшить качество жизни больного.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wu M, Yan F, Ping A, Lei J. Effects of Andersson lesion treatment in ankylosing spondylitis: A medical record review study focused on medium- to long-term outcomes. *Int J Rheum Dis*. 2020; 23(6): 753-762. doi: 10.1111/1756-185x.13826
2. Shaik I, Bhojraj SY, Prasad G, Nagad PB, Patel PM, Kishikar AD, et al. Management of Andersson lesion in ankylosing spondylitis using the posterior-only approach: a case series of 18 patients. *Asian Spine J*. 2018; 12(6): 1017-1027. doi: 10.31616/asj.2018.12.6.1017
3. Shih TT, Chen PQ, Li YW, Hsu CY. Spinal fractures and pseudoarthrosis complicating ankylosing spondylitis: MRI manifestation and clinical significance. *J Comput Assist Tomogr*. 2001; 25(2): 164-170. doi: 10.1097/00004728-200103000-00002
4. Bron JL, de Vries MK, Snieders MN, van der Horst Bruinisma IE, van Royen BJ. Discovertebral (Andersson) lesions of the spine in ankylosing spondylitis revisited. *Clin Rheumatol*. 2009; 28: 883-892.
5. Перих В.В., Рахматиллаев Ш.Н. Лечение псевдоартроза анкилозированного груднопоясничного отдела позвоночника при болезни Бехтерева. *Хирургия позвоночника*. 2004; (3): 84-88.
6. Chen LH, Kao FC, Niu CC, Lai PL, Fu TS, Chen WJ. Surgical treatment of spinal pseudoarthrosis in ankylosing spondylitis. *Chang Gung Med J*. 2005; 28: 621-628.
7. Dave BR, Ram H, Krishnan A. Andersson lesion: are we misdiagnosing it? A retrospective study of clinicoradiological features and outcome of short segment fixation. *Eur Spine J*. 2011; 20: 1503-1509.
8. Le Huec JC, Thompson W, Mohsinaly Y, Barrey C, Faundez A. Sagittal balance of the spine. *Eur Spine J*. 2019; 28: 1889-1905. doi: 10.1007/s00586-019-06083-1
9. Kim SK, Shin K, Song Y, Lee S, Kim TH. Andersson lesions of whole spine magnetic resonance imaging compared with plain radiography in ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int*. 2016; 36(12): 1663-1670. doi: 10.1007/s00296-016-3542-z
10. Ling T, Zhou B, Zhu C, Yang X, Song Y, Qiang Z, et al. One-stage posterior grade 4 osteotomy and bone graft fusion at pseudoarthrosis for the treatment of kyphotic deformity with Andersson lesions in ankylosing spondylitis. *Clin Neurol Neurosurg*. 2017; 159: 19-24. doi: 10.1016/j.clineuro.2017.05.017
11. Qian BP, Jiang J, Qiu Y, Wang B, Yu Y, Zhu ZZ. Radiographical predictors for postoperative sagittal imbalance in patients with thoracolumbar kyphosis secondary to ankylosing spondylitis after lumbar pedicle subtraction osteotomy. *Spine*. 2013; 38(26): E1669-E1675. doi: 10.1097/BRS.0000000000000021
12. Liu ZJ, Qian BP, Qiu Y, Mao SH, Jiang J, Wang B. Does relocation of the apex after osteotomy affect surgical and clinical outcomes in patients with ankylosing spondylitis and thoracolumbar kyphosis? *J Neurosurg Spine*. 2019; 31(1): 27-34. doi: 10.3171/2018.12.SPINE18752
13. Wang T, Zhao Y, Liang Y, Zhang H, Wang Z, Wang Y. Risk factor analysis of proximal junctional kyphosis after posterior osteotomy in patients with ankylosing spondylitis. *J Neurosurg Spine*. 2018; 29(1): 75-80. doi: 10.3171/2017.11.SPINE17228

REFERENCES

1. Wu M, Yan F, Ping A, Lei J. Effects of Andersson lesion treatment in ankylosing spondylitis: A medical record review study focused on medium- to long-term outcomes. *Int J Rheum Dis*. 2020; 23(6): 753-762. doi: 10.1111/1756-185x.13826
2. Shaik I, Bhojraj SY, Prasad G, Nagad PB, Patel PM, Kashikar AD, et al. Management of Andersson lesion in ankylosing spondylitis using the posterior-only approach: a case series of 18 patients. *Asian Spine J*. 2018; 12(6): 1017-1027. doi: 10.31616/asj.2018.12.6.1017
3. Shih TT, Chen PQ, Li YW, Hsu CY. Spinal fractures and pseudoarthrosis complicating ankylosing spondylitis: MRI manifestation and clinical significance. *J Comput Assist Tomogr*. 2001; 25(2): 164-170. doi: 10.1097/00004728-200103000-00002
4. Bron JL, de Vries MK, Snieders MN, van der Horst Bruinsma IE, van Royen BJ. Discovertebral (Andersson) lesions of the spine in ankylosing spondylitis revisited. *Clin Rheumatol*. 2009; 28: 883-892.
5. Rerikh VV, Rakhmatillaev SN. Treatment of pseudoarthrosis of the ankylosed thoracolumbar spine in ankylosing spondylitis. *Spine Surgery*. 2004; (3): 84-88. (In Russ.)
6. Chen LH, Kao FC, Niu CC, Lai PL, Fu TS, Chen WJ. Surgical treatment of spinal pseudoarthrosis in ankylosing spondylitis. *Chang Gung Med J*. 2005; 28: 621-628.
7. Dave BR, Ram H, Krishnan A. Andersson lesion: are we misdiagnosing it? A retrospective study of clinicoradiological features and outcome of short segment fixation. *Eur Spine J*. 2011; 20: 1503-1509.
8. Le Huec JC, Thompson W, Mohsinaly Y, Barrey C, Faundez A. Sagittal balance of the spine. *Eur Spine J*. 2019; 28: 1889-1905. doi: 10.1007/s00586-019-06083-1
9. Kim SK, Shin K, Song Y, Lee S, Kim TH. Andersson lesions of whole spine magnetic resonance imaging compared with plain radiography in ankylosing spondylitis. *Rheumatol Int*. 2016; 36(12): 1663-1670. doi: 10.1007/s00296-016-3542-z
10. Ling T, Zhou B, Zhu C, Yang X, Song Y, Qiang Z, et al. One-stage posterior grade 4 osteotomy and bone graft fusion at pseudarthrosis for the treatment of kyphotic deformity with Andersson lesions in ankylosing spondylitis. *Clin Neurol Neurosurg*. 2017; 159: 19-24. doi: 10.1016/j.clineuro.2017.05.017
11. Qian BP, Jiang J, Qiu Y, Wang B, Yu Y, Zhu ZZ. Radiographical predictors for postoperative sagittal imbalance in patients with thoracolumbar kyphosis secondary to ankylosing spondylitis after lumbar pedicle subtraction osteotomy. *Spine*. 2013; 38(26): E1669- E1675. doi: 10.1097/BRS.0000000000000021
12. Liu ZJ, Qian BP, Qiu Y, Mao SH, Jiang J, Wang B. Does relocation of the apex after osteotomy affect surgical and clinical outcomes in patients with ankylosing spondylitis and thoracolumbar kyphosis? *J Neurosurg Spine*. 2019; 31(1): 27-34. doi: 10.3171/2018.12.SPINE18752
13. Wang T, Zhao Y, Liang Y, Zhang H, Wang Z, Wang Y. Risk factor analysis of proximal junctional kyphosis after posterior osteotomy in patients with ankylosing spondylitis. *J Neurosurg Spine*. 2018; 29(1): 75-80. doi: 10.3171/2017.11.SPINE17228

Сведения об авторах

Рерих Виктор Викторович – доктор медицинских наук, начальник научно-исследовательского отделения патологии позвоночника, ФГБУ «Новосибирский Научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России; профессор кафедры травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: clinic@niito.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8545-0024>

Дубинин Евгений Валерьевич – аспирант, врач травматолог-ортопед, ФГБУ «Новосибирский Научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, e-mail: dubininevgeniy@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3765-8696>

Information about the authors

Viktor V. Rerikh – Dr. Sc. (Med.), Head of the Scientific Research Department of Spine Pathology, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics named after Ya.L. Tsvyanyan; Professor at the Department of Traumatology and Orthopaedics, Novosibirsk State Medical University, e-mail: clinic@niito.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8545-0024>

Evgeniy V. Dubinin – Postgraduate, Orthopedic Traumatologist, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics named after Ya.L. Tsvyanyan, e-mail: dubininevgeniy@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3765-8696>

Статья получена: 24.11.2020. Статья принята: 01.12.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 24.11.2020. Accepted: 01.12.2020. Published: 26.12.2020.

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ OPHTHALMOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.20

Дифференциальная реорганизация структурных элементов иридоцилиарной и перилентикулярной зоны в формировании гидродинамических блоков

Щуко А.Г.^{1,2,3}, Новожилова Е.Т.¹, Розанова О.И.¹, Шолохов Л.Ф.⁴

¹ Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 337, Россия); ² Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия); ³ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия); ⁴ ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Новожилова Евгения Таировна, e-mail: novozhilova_et@mail.ru

Резюме

Обоснование. Ключевым звеном патогенеза закрытоугольной глаукомы является формирование структурных блоков, инициирующих нарушение гидростатического равновесия. Однако при равных параметрах глазного яблока, состояния путей оттока, уровень внутриглазного давления и гидродинамика глаза могут иметь принципиальные различия. Было предположено, что формирование гидродинамических блоков у пациентов с гиперметропией может быть инициировано уже в молодом возрасте процессами избыточной аккомодации, которые усугубляются физиологическим старением, сопровождающимся формированием пресбиопии.

Цель исследования: выяснение факторов, провоцирующих и усугубляющих процессы формирования патологических изменений гидродинамики глаза, у пациентов старшего возраста с гиперметропией.

Материалы и методы. Проведено всестороннее исследование переднего отрезка глаза у 80 пациентов в возрасте 45–60 лет с гиперметропической рефракцией. Оценка структурных девиаций проводилась с использованием ультразвуковой биомикроскопии и интерактивной Шеймплфлюг-регистрации переднего отрезка глаза («Pentacam HR», Oculus, США) с расчётом параметров передней и задней камеры глаза и коэффициента Lowe. Тонотометрия и тонография проводилась на электронном тонографе «Mentor» (Tecnar Ophthalmologic, США).

Результаты и заключение. Совокупность результатов исследования 80 пациентов с гиперметропией была обработана с помощью кластерного анализа, по результатам которого выявлена значительная и статистически значимая неоднородность для трёх кластеров. Сравнительный и регрессионный анализ установил, что преобразование параметров и положения внутриглазных структур исходно и в условиях нагрузочной пробы у лиц первого и третьего кластеров сопровождалось нарушением гидродинамики глаза с преобладающим включением, соответственно, лентикулярного или иридоцилиарного компонента. Изменения, выявленные у пациентов второго кластера, отличались сбалансированными умеренными изменениями структурных взаимоотношений и отсутствием клинически значимого повышения внутриглазного давления.

Ключевые слова: закрытоугольная глаукома, гидродинамика глаза, аккомодация

Для цитирования: Щуко А.Г., Новожилова Е.Т., Розанова О.И., Шолохов Л.Ф. Дифференциальная реорганизация структурных элементов иридоцилиарной и перилентикулярной зоны в формировании гидродинамических блоков. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 171-178. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.20.

Differential Reorganization of Structural Elements of the Iridociliary and Perenticular Zones in the Hydrodynamic Blocks Formation

Shchuko A.G.^{1,2,3}, Novozhilova E.T.¹, Rozanova O.I.¹, Sholokhov L.F.⁴

¹ Irkutsk Branch of S.N. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution (Lermontova str. 337, Irkutsk 664033, Russian Federation); ² Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation); ³ Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation); ⁴ Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Evgeniya T. Novozhilova, e-mail: novozhilova_et@mail.ru

Abstract

Background. The key link in the pathogenesis of angle-closure glaucoma is the formation of structural blocks that initiate a violation of hydrostatic balance. However, if the parameters of the eyeball are equal, the state of the outflow pathways, the level of intraocular pressure and the eye hydrodynamics may be different. It was suggested that the formation of hydrodynamic blocks in patients with hypermetropia may be initiated at a young age by the processes of excessive accommodation, which are aggravated by physiological aging, accompanied by the formation of presbyopia.

Aim. To find out the factors that provoke and aggravate the processes of formation of pathological changes in the eye hydrodynamics in patients with older hypermetropia.

Materials and methods. A comprehensive study of the anterior segment of the eye was performed in 80 patients aged 45–60 years with hypermetropic refraction. Structural deviations were evaluated using ultrasound biomicroscopy and interactive Scheimpflug registration of the anterior segment of the eye ("Pentacam HR", Oculus, USA) with the calculation of the parameters of the anterior and posterior chambers of the eye and the Lowe coefficient. Tonometry and tonography were performed on an electronic tonograph "Mentor" (Tecnar Ophthalmic, USA).

Results and conclusion. The total results of the study of 80 patients with hypermetropia were processed using cluster analysis, which revealed significant and significant heterogeneity for three clusters. Comparative and regression analysis found that the parameters transformation and intraocular structures position are initial and under the conditions of the load test in subjects of the first and third clusters was accompanied by a violation of the eye hydrodynamics with the predominant inclusion of the lenticular or iridociliary component, respectively. The changes detected in patients of the second cluster were characterized by balanced moderate changes in structural relationships and the absence of a clinically significant intraocular pressure increase.

Key words: angle-closure glaucoma, eye hydrodynamics, accommodation

For citation: Shchuko A.G., Novozhilova E.T., Rozanova O.I., Sholokhov L.F. Differential Reorganization of Structural Elements of the Iridociliary and Peritacular Zones in the Hydrodynamic Blocks Formation. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 171-178. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.20.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Известно, что гиперметропия является слабым типом рефракции, обуславливая недостаточное зрение без дополнительной оптической коррекции как вдаль, так и на близком расстоянии. У молодых пациентов избыточное напряжение аккомодации может компенсировать недостатки зрительного восприятия, но в то же время приводить к значительным структурным изменениям в иридоцилиарном и лентикулярном комплексах, которые, помимо обеспечения аккомодационного ответа, участвуют в продукции и оттоке внутриглазной влаги, то есть в процессах гидродинамики глаза [1, 2, 3, 4, 5, 6].

Снижение фильтрационной функции трабекулы, ассоциированные с возрастом дегенеративные и дистрофические процессы на уровне венозного синуса и интрасклерального сосудистого сплетения являются ключевыми звеньями патогенеза первичной открытоугольной глаукомы [7, 8, 9, 10, 11, 12, 13], тогда как ключевым звеном патогенеза закрытоугольной глаукомы (ЗУГ) является формирование структурных блоков, инициирующих нарушение гидростатического равновесия [12, 14, 15, 16]. Многочисленные исследования доказали, что ведущим фактором риска ЗУГ является дисбаланс основных параметров глаза, связанный с его малым аксиальным размером, определяющим наличие гиперметропической рефракции. При этом увеличение в течение жизни объема внутриглазных структур рассматривают в качестве предиктора нарушения оттока внутриглазной влаги на претрабекулярном уровне [17, 18, 19, 20, 21, 22].

Однако при равных параметрах глазного яблока, состояния путей оттока уровень внутриглазного давления (ВГД) и гидродинамика глаза в целом у пациентов с гиперметропией могут иметь принципиальные различия. Подтверждением этого являются результаты наших предыдущих исследований, которые показали, что среди 1600 пациентов в возрасте 50–70 лет с гиперметропией 1-й и 2-й степеней в 23,5 % случаев установлен диагноз закрытоугольная глаукома различной степени выраженности, у 43,2 % обследуемых выявлены структурные изменения угла передней камеры в виде функциональ-

ного ангулярного блока с повышением ВГД в условиях нагрузочной пробы, а в 33,3 % случаев пациенты не имели гидродинамических нарушений. Таким образом, нерешёнными остаются вопросы о факторах риска и закономерностях, определяющих принципиальные отличия в строении, топографическом взаимоотношении и функциональной активности структур, обеспечивающих процессы аккомодации, у пациентов с гиперметропией при нарушении гидродинамики глаза и в случаях отсутствия ретенционных нарушений [23, 24, 25, 26]. Было предположено, что формирование гидродинамических блоков у пациентов с гиперметропией может быть инициировано уже в молодом возрасте процессами избыточной аккомодации, которые усугубляются физиологическим старением, сопровождающимся формированием пресбиопии.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выяснение факторов, провоцирующих и усугубляющих процессы формирования структурных нарушений, патологических изменений гидродинамики глаза у пациентов старшего возраста с гиперметропией.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Группа лиц для исследования была сформирована на добровольных началах, в соответствии с положениями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1996, 2002). Проведено всестороннее исследование переднего отрезка глаза у 80 пациентов в возрасте 45–60 лет с гиперметропической рефракцией. Общими критериями отбора пациентов для исследования были: наличие гиперметропии 1-й степени (объективная рефракция в условиях циклоплегии в пределах от +1,0 до +3,0 дптр); острота зрения вдаль не менее 0,8; отсутствие сопутствующей офтальмопатологии и тяжёлой соматической патологии; ВГД ниже 21 мм рт. ст.; экскавация диска зрительного нерва не более 0,3 диаметра диска; разница экскавации на обоих глазах не более 0,2 диаметра диска зрительного нерва. Оценка структурных девиаций проводилась с использованием ультразвуковой биомикроскопии (УБМ) и интерактивной Шеймпфлюг-регистрации переднего отрезка глаза («Pentacam HR»,

Oculus, США) с расчётом параметров передней и задней камеры глаза и коэффициента Lowe.

Расчёт пространственных и угловых параметров по данным УБМ проводился по следующему алгоритму:

- максимальная толщина цилиарного тела в проекции внутренней вершины (ТЦТ max);
- толщина цилиарного тела на расстоянии 1 мм от трабекулы (ТЦТ1);
- толщина цилиарного тела на расстоянии 2 мм от трабекулы (ТЦТ2);
- угол внутренней вершины цилиарного тела (УВЦТ);
- угол примыкания «трабекула – радужка» (УТР);
- длина передней порции цинновой связки (ЦС).

Тонометрия и тонография проводилась на электронном тонографе «Mentor» (Tecnar Ophthasonic, США) с количественной оценкой оттока внутриглазной жидкости (ВГЖ) и графической регистрацией показателя внутриглазного давления, а также коэффициента лёгкости оттока ВГЖ. Результаты исследования обработаны с применением пакета программ Statistica for Windows 8.0 (StatSoft Inc., США). Анализ статистической значимости различий признаков по представленным параметрам проведён с использованием методов непараметрической статистики – критерия U Манна – Уитни, регрессионного и кластерного анализа. Статистическую значимость различий считали установленной при уровне $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Совокупность результатов исследования 80 пациентов с гиперметропией была обработана с помощью кластерного анализа, по результатам которого выявлена значительная и статистически значимая неоднородность для трёх кластеров (рис. 1).

Кластер 1 был представлен 27 пациентами (средний возраст $55,95 \pm 7,49$ года); в кластер 2, соответствующий второй модели, вошли 20 человек (средний возраст $55,05 \pm 5,99$ года); кластер 3 составили 17 человек (средний возраст $53,94 \pm 5,22$ года).

Установлено, что кластер 1 характеризуется максимальной толщиной хрусталика, наименьшими размерами передней и задней камер глаза ($p = 0,001$), по сравнению с другими группами, при сопоставимой длине глазного яблока (табл. 1).

Кроме того, для данного кластера установлена максимальная толщина цилиарного тела во всех четырёх исследуемых квадрантах, а также минимальное расстояние между экватором хрусталика и цилиарными отростками и трабекулой, о чём свидетельствуют показатели длины передней порции цинновой связки, и расстояния «трабекула – цилиарные отростки». В целом это свидетельствует о том, что у пациентов данного кластера наблюдается максимальное увеличение объёмных характеристик хрусталика и циркулярной порции цилиарного тела, являющихся ключевыми компонентами аккомодации.

У пациентов, составляющих кластер 2, в отличие от групп сравнения, установлены минимальный размер толщины хрусталика, наибольшая глубина передней и задней камеры глаза; толщина цилиарного тела имела наименьшие значения в нижнем, наружном и внутреннем сегменте, что обуславливало максимальные показатели дистанции между экватором хрусталика, цилиарными отростками, трабекулой и внутренней вершиной цилиарного тела, которая имела заднее атипичное положение.

Исследование пациентов кластера 3 позволило установить умеренные изменения толщины хрусталика, глубины передней и задней камер глаза. При этом выявлено значительное уменьшение дистанции «трабекула – цилиарные отростки», минимальные значения угла внутренней вершины цилиарного тела, что свидетельствует о выраженных нарушениях на уровне структур иридоцилиарной зоны.

Уровень ВГД и показатель лёгкости оттока ВГЖ в покое у всех пациентов находился в пределах референтных значений, что определяло отсутствие клинически выраженных нарушений гидродинамики глаза. После проведения водно-позиционной нагрузочной пробы у пациентов кластеров 2 и 3 произошло умеренное повышение ВГД, а у пациентов кластера 1 разница в исходном и наблюдаемом уровнях ВГД после нагрузки в 75 % случаев достигала 7 мм рт. ст., что выходило за пределы значений физиологической нормы. Статистически значимым было и снижение лёгкости оттока ВГЖ – практически в 1,5 раза, по сравнению со средними значениями, полученными у пациентов кластера 2 (табл. 2).

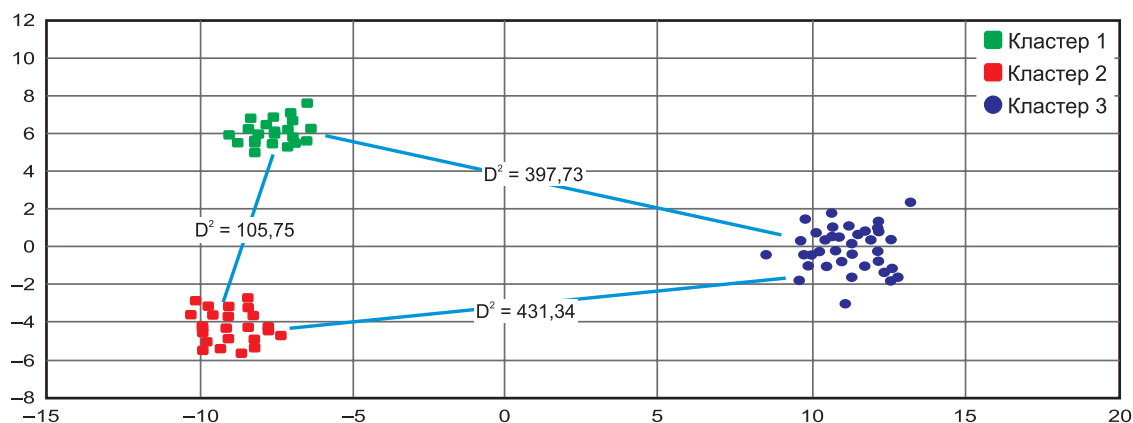


Рис. 1. Графическое представление кластерного анализа у пациентов старшего возраста с гиперметропией: D^2 – мера Махаланобиса ($p = 0,001$)

Fig. 1. Graphical representation of cluster analysis in older patients with hyperopia: D^2 – Mahalanobis measure ($p = 0.001$)

Таблица 1

Изменение анатомических показателей глаза у пациентов старшего возраста с гиперметропией в трёх кластерах

Table 1

Changes in eye anatomical parameters in older patients with hyperopia in three clusters

Показатели	Кластер 1 (n = 30)	Кластер 2 (n = 27)	Кластер 3 (n = 23)	p-критерий Манна – Уитни
Длина передне-заднего отрезка глаза, мм	21,95 ± 0,73	21,99 ± 0,62	21,41 ± 0,13	$p_{1-2} = 0,8$ $p_{1-3} = 0,04$ $p_{2-3} = 0,03$
Передняя камера, мм	2,39 ± 0,18	2,83 ± 0,17	2,61 ± 0,29	$p_{1-2} = 0,0001$ $p_{1-3} = 0,004$ $p_{2-3} = 0,007$
Толщина хрусталика, мм	4,79 ± 0,31	4,34 ± 0,34	4,66 ± 0,35	$p_{1-2} = 0,0001$ $p_{1-3} = 0,1$ $p_{2-3} = 0,008$
Задняя камера, мм	0,72 ± 0,18	1,11 ± 0,43	0,86 ± 0,21	$p_{1-2} = 0,0001$ $p_{1-3} = 0,02$ $p_{2-3} = 0,03$
Коэффициент Lowe	7,18 ± 0,25	7,17 ± 0,31	7,26 ± 0,25	$p_{1-2} = 0,8$ $p_{1-3} = 0,3$ $p_{2-3} = 0,3$
Толщина цилиарного тела в среднем, мм	1,16 ± 0,12	1,04 ± 0,31	0,97 ± 0,39	$p_{1-2} = 0,06$ $p_{1-3} = 0,04$ $p_{2-3} = 0,05$
Длина передней порции цинновой связки в наружном сегменте, мм	0,88 ± 0,12	1,31 ± 0,13	1,21 ± 0,13	$p_{1-2} = 0,02$ $p_{1-3} = 0,05$ $p_{2-3} = 0,8$
Расстояние «трабекула – цилиарные отростки» в наружном сегменте, мм	0,76 ± 0,11	0,91 ± 0,09	0,71 ± 0,09	$p_{1-2} = 0,03$ $p_{1-3} = 0,4$ $p_{2-3} = 0,0001$
Угол внутренней вершины ЦТ, °	98,05 ± 20,08	112,74 ± 3,68	89,58 ± 14,05	$p_{1-2} = 0,002$ $p_{1-3} = 0,1$ $p_{2-3} = 0,0001$

Таблица 2

Изменение показателей гидродинамики глаза в покое и после водно-позиционной нагрузочной пробы (М ± s)

Table 2

Changes in eye hydrodynamics parameters in a rest position and after a water-position exercise test (M ± s)

Показатели	Кластер 1 (n = 30)	Кластер 2 (n = 27)	Кластер 3 (n = 23)	p-критерий Манна – Уитни
ВГД в покое, мм рт. ст.	19,09 ± 2,39	18,91 ± 1,89	18,73 ± 1,61	$p_{1-2} = 0,7$ $p_{1-3} = 0,5$ $p_{2-3} = 0,7$
ВГД после нагрузки, мм рт. ст.	25,22 ± 2,11	20,51 ± 1,84	20,94 ± 2,01	$p_{1-2} = 0,001$ $p_{1-3} = 0,0001$ $p_{2-3} = 0,4$
Дельта ВГД, мм рт. ст.	4,63 ± 1,86	0,95 ± 0,63	1,29 ± 1,07	$p_{1-2} = 0,0001$ $p_{1-3} = 0,0001$ $p_{2-3} = 0,5$
Коэффициент лёгкости оттока ВГЖ, мм³/мин/мм рт. ст.	0,22 ± 0,19	0,39 ± 0,17	0,24 ± 0,19	$p_{1-2} = 0,01$ $p_{1-3} = 0,1$ $p_{2-3} = 0,05$

С целью выявления основных патогенетических механизмов нарушения гидродинамики глаза был проведён регрессионный анализ, в котором зависимой величиной выступал показатель, характеризующий изменения уровня ВГД до и после проведения водно-позиционной нагрузочной пробы.

У пациентов кластера 1 (табл. 3) установлена статистически значимая положительная взаимосвязь уровня ВГД с глубиной задней камеры глаза и коэффициентом Lowe, отражающим соотношение объёмных показателей хрусталика, передней и задней камер глаза. Также выявлена высоко значимая корреляция с углом вершины цилиарного тела.

Показатели регрессионного анализа кластера 2 продемонстрировали наличие высоко значимой положитель-

ной взаимосвязи с коэффициентом Lowe и отрицательной взаимосвязи с толщиной цилиарного тела (табл. 4).

Максимально сильные отрицательные взаимосвязи были выявлены в кластере 3 (табл. 5). Изменение уровня ВГД коррелировало с изменением структурных показателей, характеризующих в первую очередь положение радужки, величину угла передней камеры. Кроме того, имелись взаимосвязи с углом вершины и толщиной цилиарного тела.

Анализ данных регрессионного анализа убедительно продемонстрировал, что у пациентов с гиперметропией имеются значительные различия топографических взаимоотношений и объёмных показателей структур переднего отрезка глаза (рис. 2), участвующих в аккомодации, продукции и оттоке внутриглазной влаги.

Таблица 3

Итоги регрессионного анализа пациентов кластера 1

Table 3

Results of regression analysis of patients in cluster 1

Изменение ВГД до и после нагрузки ($R^2 = 0,51$; $F(3,23) = 10,125$; $p = 0,0001$)						
Показатели	β	Стандартная ошибка β	B	Стандартная ошибка B	t	p-критерий Манна – Уитни
Свободный член	–	–	8,67	8,15	1,06	0,29
Угол внутренней вершины цилиарного тела, °	–0,75	0,15	–1,94	0,39	–4,96	0,005
Глубина задней камеры, мм	0,35	0,15	4,16	1,79	2,32	0,02
Коэффициент Lowe	0,28	0,13	2,36	1,14	2,05	0,05

Таблица 4

Итоги регрессионного анализа пациентов кластера 2

Table 4

Results of regression analysis of patients in cluster 2

Изменение ВГД до и после нагрузки ($R^2 = 0,75$; $F(2,17) = 29,50$; $p = 0,0001$)						
Показатели	β	Стандартная ошибка β	B	Стандартная ошибка B	t (17)	p-критерий Манна – Уитни
Свободный член	–	–	–8,364	6,042	–1,384	0,18
Коэффициент Lowe	0,713	0,128	4,315	0,775	5,564	0,0003
Толщина цилиарного тела, мм	–0,287	0,128	–0,083	0,037	–2,244	0,03

Таблица 5

Итоги регрессионного анализа пациентов кластера 3

Table 5

Results of regression analysis of patients in cluster 3

Изменение ВГД до и после нагрузки ($R^2 = 0,97$; $F(6,10) = 99,56$; $p = 0,0001$)						
Показатели	β	Стандартная ошибка β	B	Стандартная ошибка B	t (10)	p-критерий Манна – Уитни
Свободный член	–	–	52,80	5,08	10,39	0,0001
Угол внутренней вершины цилиарного тела, °	–1,04	0,08	–6,34	0,53	–11,78	0,0001
Расстояние «трабекула – цилиарные отростки», мм	–0,39	0,07	–4,23	0,74	–5,66	0,0002
Угол передней камеры в наружном сегменте, мм	–0,19	0,05	–0,11	0,03	–3,57	0,005
Коэффициент Lowe	–0,21	0,07	–1,68	0,62	–2,70	0,02
Угол внутренней вершины, °	–0,24	0,09	–0,06	0,02	–2,59	0,02
Толщина цилиарного тела, мм	0,12	0,06	2,51	1,24	2,02	0,07

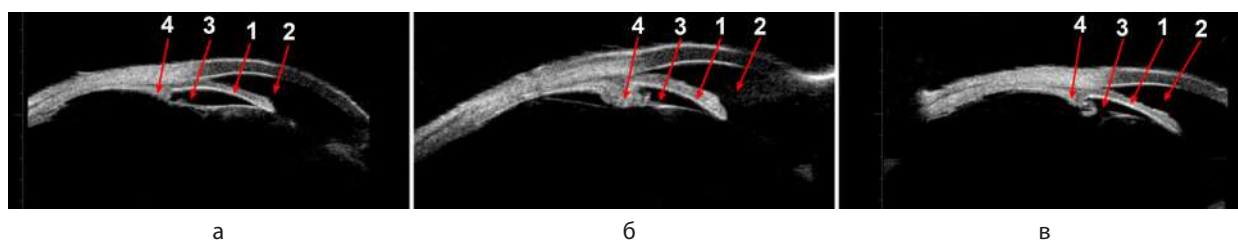


Рис. 2. УБМ-модель изменения структурных взаимоотношений переднего отрезка глаза у пациентов среднего возраста с гиперметропией: а – кластер 1; б – кластер 2; в – кластер 3; 1 – радужка; 2 – передняя камера; 3 – задняя камера; 4 – цилиарное тело

Fig. 2. Ultrasonic biomicroscopic model of changes in the structural relationships of the anterior segment of the eye in middle-aged patients with hyperopia: а – cluster 1; б – cluster 2; в – cluster 3; 1 – iris; 2 – anterior chamber; 3 – posterior chamber; 4 – ciliary body

Так, у пациентов с гиперметропией, составляющих кластер 1, отмечаются сочетанное изменение мышечного иридоцилиарного компонента, увеличение толщины и объёма хрусталика, смещение кпереди иридо-хрусталиковой диафрагмы, увеличение толщины и заострение угла внутренней вершины, укорочение передней порции цин-

новой связки, сокращение дистанции между трабекулой и цилиарными отростками. Участие хрусталика и мышечного компонента в нарушении гидродинамики глаза подтверждается результатом проведения водно-позиционной нагрузочной пробы в виде значительного повышения ВГД, выходящего за пределы физиологических колебаний.

У пациентов кластера 2 отмечается скудное количество взаимосвязей, характеризующих сбалансированный вклад как мышечного, так и хрусталикового компонентов.

У пациентов кластера 3 функциональная нагрузка сопровождается повышением уровня ВГД, изменением максимального количества параметров, характеризующих положение радужки и короны цилиарного тела, обуславливая перераспределение иридоцилиарных взаимоотношений.

То есть преобразование параметров и положения внутриглазных структур в условиях нагрузочной пробы у пациентов кластеров 1 и 3 сопровождалось нарушением гидродинамики глаза с преобладающим включением, соответственно, лентикулярного или иридоцилиарного компонентов. Изменения, выявленные у пациентов второго кластера, отличались сбалансированными умеренными изменениями структурных взаимоотношений и отсутствием клинически значимого повышения ВГД.

ОБСУЖДЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Известно, что наличие «слабой» гиперметропической рефракции ведёт к снижению разрешающей способности глаза как вдаль, так и вблизи, что можно рассматривать в качестве предрасполагающих факторов к структурной и функциональной перестройке глаза. У пациентов среднего возраста происходит существенная реорганизация аккомодационной системы, характеризующаяся развитием пресбиопии [27, 28, 29, 30]. Компенсация нарастающих рефракционных нарушений осуществляется за счёт увеличения размеров хрусталика, толщины цилиарного тела в проекции внутренней вершины, которое можно обозначить как его гипертрофию. В ходе исследования было установлено, что механизмы структурной реорганизации иридоцилиарной и перилентикулярной зоны могут иметь принципиальные различия в зависимости от преимущественного включения отдельных анатомических компонентов, участвующих в процессе аккомодации.

Структурные изменения в кластере 1, кроме гипертрофии цилиарного тела и изменения положения его вершины, ассоциированы с критическим увеличением размеров хрусталика, что является предпосылкой к формированию лентикулярного блока и, возможно, следствием гипернатяжения аккомодационного аппарата.

Изменения, выявленные в кластере 2, характеризуются умеренным сбалансированным увеличением объёма хрусталика, последовательными инволюционными процессами в цилиарном теле с явлениями дистрофии и уменьшением его толщины, что исключает условия для формирования гидродинамических блоков и обеспечивает в целом нормальную циркуляцию внутриглазной влаги.

Отличительными особенностями кластера 3 являются гипертрофия циркулярной порции цилиарной мышцы, изменение её положения, сопровождающееся сдвигом корня радужки вперёд и нарушением тока внутриглазной влаги между передней и задней камерами глаза, что соответствует характеристикам функционального ангулярного блока. Таким образом, оптически некомпенсированная гиперметропия на фоне тонического напряжения аккомодации, раннее формирование пресбиопии у пациентов с гиперметропической рефракцией сопровождаются структурно-функциональными изменениями, представляющими собой механизмы компенсации

недостаточного зрительного восприятия, которые для глаза являются патологическими, так как представляют основу для формирования гидродинамических нарушений, которые, как известно, являются ключевым звеном формирования закрытоугольной глаукомы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воронцова Т.Н., Бржеский В.В. К вопросу об обоснованности применения симпатомиметиков в лечении привычного-избыточного напряжения аккомодации. *Российский офтальмологический журнал*. 2016; 4(9): 80-85.
2. Кузнецова О.С., Балалин С.В., Солодкова Е.Г. Анализ состояния аккомодации у пациентов с гиперметропией. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2019; (4): 91-94. doi: 10.19163/1994-9480-2019-4(72)-91-94
3. Кошиц И.Н., Светлова О.В., Гусева М.Г., Певко Д.В., Эгембердиев М.Б. Оптические особенности прохождения света через преломляющие структуры глаза. *Офтальмологический журнал*. 2017; (4): 60-73. doi: 10.31288/oftalmolzh201746073
4. Проскурина О.В. Гиперметропия. Стратегия и тактика коррекции в разные возрастные периоды. *Осенние рефракционные чтения: Материалы IV Международного симпозиума*. М.; 2013. URL: http://niigb.ru/doc/2013.11/6_2-proskurina.pdf.
5. Duane A. Normal values of the accommodation at all ages. *JAMA*. 1912; 59(12): 1010-1013. doi: 10.1001/jama.1912.04270090254042
6. De Gracia P, Dorronsoro C, Sánchez-González A, Sawides L, Marcos S. Experimental simulation of simultaneous vision. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013; 54(1): 415-422. doi: 10.1167/iovs.12-11219
7. Золотарёв А.В., Карлова Е.В. Роль пресбиопических изменений в патогенезе первичной глаукомы. *IX съезд офтальмологов России: сборник тезисов научно-практической конференции*. М.; 2010: 150.
8. Загидуллина А.Ш., Саттарова Р.Р., Батыршин Р.А., Абрамов Р.А., Муллагалиева Г.Ф. Определение риска развития первичной закрытоугольной глаукомы на основании офтальмометрических параметров глаза. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2015; 10(2): 30-33.
9. Золотарев А.В., Карлова Е.В., Стебнева И.Г., Павлова О.В. Увеосклеральный отток и аккомодация: морфологическая и функциональная взаимосвязь. *РМЖ «Клиническая офтальмология»*. 2009; 10(1): 15-16.
10. Awadalla MS, Thapa SS, Hewitt AW, Burdon KP, Craig JE. Association of genetic variants with primary angle closure glaucoma in two different populations. *PLoS One*. 2013; 8(6): e67903. doi: 10.1371/journal.pone.0067903
11. Allingham RR, Damji KF, Freedman Sh, Maroi SE, Rhee DJ. *Shields' textbook of glaucoma*; 6th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Lippincott, Williams and Wilkins; 2011.
12. Arora KS, Jefferys JL, Maul EA, Quigley HA. The choroid is thicker in angle closure than in open angle and control eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012; 53(12): 7813-7818. doi: 10.1167/iovs.12-10483
13. Amerasinghe N, Zhang J, Thalamuthu A, He M, Vithana EN, Viswanathan A, et al. The heritability and sibling risk of angle closure in Asians. *Ophthalmology*. 2011; 118(3): 480-485. doi: 10.1016/j.ophtha.2010.06.043
14. Нестеров А.П. *Глаукома*. М.: Медицина; 1995.
15. Кизеев М.В., Ершова С.Ю., Красногорская В.С., Антипина С.Б., Нежкина Н.Н. Оценка эффективности комплексных реабилитационных мероприятий у детей и подростков с аномалиями рефракции в виде миопии, гиперметропии, спазма аккомодации. *Курортная медицина*. 2016; (2): 179-181.
16. Friedman DS, Foster PJ, Aung T, He M. Angle closure and angle-closure glaucoma: what we are doing now and what we will be doing in the future. *Clin Exp Ophthalmol*. 2012; 40(4): 381-387. doi: 10.1111/j.1442-9071.2012.02774.x
17. Заболотный А.Г., Мисакян К.С. Морфологические особенности строения гиперметропического глаза в норме и при развитии катаракты. *Практическая медицина*. 2016; 1(2): 7-10.

18. Маркова А.А., Горбунова Н.Ю., Поздеева Н.А. Замытоугольная глаукома с плоской радужкой. Национальный журнал Глаукома. 2018; 17 (4): 80-90. doi: 10.25700/NJG.2018.04.07

19. Марченко А.Н. Роль морфометрических изменений хрусталика в механизме развития первичной замытоугольной глаукомы на глазах с короткой передне-задней осью: дис. ... канд. мед. наук. М.; 2012.

20. Киселёва О.А., Косакян С.М., Якубова Л.В., Бессмертный А.М., Василенкова Л.В. Патологические особенности развития, клиника и лечение злокачественной глаукомы. Офтальмологические ведомости. 2019; 12(3): 59-65. doi: 10.17816/OV15379

21. Baskaran M, Ho SW, Tun TA, How AC, Pereras SA, Friedman DS, et al. Assessment of circumferential angle-closure by the iris-trabecular contact index with swept-source optical coherence tomography. *Ophthalmology*. 2013; 120(11): 2226-2231. doi: 10.1016/j.ophtha.2013.04.020

22. Azuara-Blanco A, Burr J, Ramsay C, Cooper D, Foster PJ, Friedman DS, et al. Effectiveness of early lens extraction for the treatment of primary angle-closure glaucoma (EAGLE): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2016; 388(10052): 1389-1397. doi: 10.1016/S0140-6736(16)30956-4

23. Юрьева Т.Н. Современные представления о структурно-функциональной организации иридоцилиарной системы. Медицинская визуализация. 2011; 2(2): 44-50.

24. Croft MA, Nork TM, McDonald J, Katz A, Lütjen-Drecoll E, Kaufman PL. Accommodative movements of the vitreous membrane, choroid and sclera in young and presbyopic human and nonhuman primate eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013; 54(7): 5049-5058. doi: 10.1167/iov.12-10847

25. Bordeianu CD. A new classification of glaucomas. *Clin Ophthalmol*. 2014; 8: 1801-1817. doi: 10.2147/OPTH.S65003

26. Егорова Э.В., Файзилова У.С., Узунян Д.Г., и др. Анатомо-топографические предпосылки нарушения офтальмотонуса при катарактах, осложненных псевдоэкзофалическим синдромом. Практическая медицина. 2012; (4-1): 190-193.

27. Марченко А.Н., Сорокин Е.Л., Посвалюк В.Д., Данилов О.В. Прогностические возможности выявления факторов высокого риска факорморфической глаукомы у лиц с гиперметропической рефракцией. Офтальмохирургия. 2011; (3): 57-62.

28. Тарутта Е.П., Аклаева Н.А., Ларина Т.Ю., Тарасова Н.А., Хведелидзе Т.З., Кушнаревич Н.Ю. Результаты объективной аккомодометрии при содружественном косоглазии. Российский офтальмологический журнал. 2017; 10(1): 49-54. doi: 10.21516/2072-0076-2017-10-1-49-54

29. Chatoux O, Touboul D, Buestel C, Balcou P, Colin J. Crystalline lens photodisruption using femtosecond laser: experimental study. *J Fr Ophthalmol*. 2010; 33(7): 472-480. doi: 10.1016/j.jfo.2010.06.008

30. Croft MA, McDonald JP, Katz A, Lin TL, Lütjen-Drecoll E, Kaufman PL. Extralenticular and lenticular aspects of accommodation and presbyopia in human versus monkey eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013; 54(7): 5035-5048. doi: 10.1167/iov.12-10846

REFERENCES:

1. Vorontsova TN, Brzhesky VV. On the validity of using sympathomimetic drops in the treatment of habitually excessive tension of accommodation. *Russian Ophthalmological Journal*. 2016; 9(4): 80-85. (In Russ.)

2. Kuznetsova OS, Balalin SV, Solodkova EG. Analysis of accommodation state in patients with hypermetropia. *Journal of Volgograd State Medical University*. 2019; (4): 91-94. doi: 10.19163/1994-9480-2019-4(72)-91-94. (In Russ.)

3. Koshits IN, Svetlova OV, Guseva MG, Pevko DV, Egemberdiev MB. Optical features of light passing through refractive structures of the eye. *Journal of Ophthalmology (Ukraine)*. 2017; (4): 60-73. doi: 10.31288/oftalmolzh201746073. (In Russ.)

4. Proskurina OV. Hypermetropia. Correction strategy and tactics in different age periods. *Osennie refraktsionnye chteniya: Materialy IV Mezhdunarodnogo simpoziuma*. Moscow; 2013. (In Russ.)

5. Duane A. Normal values of the accommodation at all ages. *JAMA*. 1912; 59(12): 1010-1013. doi: 10.1001/jama.1912.04270090254042

6. De Gracia P, Dorronsoro C, Sánchez-González A, Sawides L, Marcos S. Experimental simulation of simultaneous vision. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013; 54(1): 415-422. doi: 10.1167/iov.12-11219

7. Zolotarev AV, Karlova EV. The role of presbyopic changes in the pathogenesis of primary glaucoma. *IX sjezd oftalmologov Rossii: sbornik tezisov nauchno-prakticheskoy konferentsii*. Moscow; 2010. (In Russ.)

8. Zagidullina AS, Sattarova RR, Batyrshin RA, Abrarov RA, Mullagalieva GF, Kutlugalyamova RR. Risk of primary angle-closure development based on eye ophthalmobiometric parameters. *Bashkortostan Medical Journal*. 2015; 10(2): 30-33. (In Russ.)

9. Zolotarev AV, Karlova EV, Stebneva IG, Pavlova OV. Morphologic and functional connection of uveoscleral outflow and accommodation. *Russian Journal of Clinical Ophthalmology*. 2009; 10(1): 15-16. (In Russ.)

10. Awadalla MS, Thapa SS, Hewitt AW, Burdon KP, Craig JE. Association of genetic variants with primary angle closure glaucoma in two different populations. *PLoS One*. 2013; 8(6): e67903. doi: 10.1371/journal.pone.0067903

11. Allingham RR, Damji KF, Freedman Sh, Maroi SE, Rhee DJ. *Shields' textbook of glaucoma*; 6th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Lippincott, Williams and Wilkins; 2011.

12. Arora KS, Jefferys JL, Maul EA, Quigley HA. The choroid is thicker in angle closure than in open angle and control eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012; 53(12): 7813-7818. doi: 10.1167/iov.12-10483

13. Amerasinghe N, Zhang J, Thalamuthu A, He M, Vithana EN, Viswanathan A, et al. The heritability and sibling risk of angle closure in Asians. *Ophthalmology*. 2011; 118(3): 480-485. doi: 10.1016/j.ophtha.2010.06.043

14. Nesterov AP. *Glaucoma*. Moscow: Meditsina; 1995. (In Russ.)

15. Kizeev MV, Yershova SYu, Krasnogorskaya VS, Antipina SB, Nezhkina NN. Assessment of the effectiveness of complex rehabilitation measures in children and adolescents with refractive errors in the form of myopia, hyperopia, accommodation spasm. *Kurortnaya meditsina*. 2016; (2): 179-181. (In Russ.)

16. Friedman DS, Foster PJ, Aung T, He M. Angle closure and angle-closure glaucoma: what we are doing now and what we will be doing in the future. *Clin Exp Ophthalmol*. 2012; 40(4): 381-387. doi: 10.1111/j.1442-9071.2012.02774.x

17. Zabolotny AG, Misakyan KS. Morphologic peculiarities of hypermetropic eye constitution in health and cataract progression. *Practical Medicine*. 2016; 1(2): 7-10. (In Russ.)

18. Markova AA, Gorbunova NY, Pozdeeva NA. Angle-closure glaucoma with plateau iris. *National Journal Glaucoma*. 2018; 17(4): 80-90. doi: 10.25700/NJG.2018.04.07. (In Russ.)

19. Marchenko AN. *The role of morphometric changes in the lens in the mechanism of development of primary angle-closure glaucoma in eyes with a short anteroposterior axis*: Dissertation of the Cand. Sc. (Med.). Moscow; 2012. (In Russ.)

20. Kiseleva OA, Kosakyan SM, Yakubova LV, Bessmertny AM, Vasilenkova LV. Pathophysiological features of development, clinical features and treatment of malignant glaucoma. *Ophthalmology journal*. 2019; 12(3): 59-65. doi: 10.17816/OV15379. (In Russ.)

21. Baskaran M, Ho SW, Tun TA, How AC, Pereras SA, Friedman DS, et al. Assessment of circumferential angle-closure by the iris-trabecular contact index with swept-source optical coherence tomography. *Ophthalmology*. 2013; 120(11): 2226-2231. doi: 10.1016/j.ophtha.2013.04.020

22. Azuara-Blanco A, Burr J, Ramsay C, Cooper D, Foster PJ, Friedman DS, et al. Effectiveness of early lens extraction for the treatment of primary angle-closure glaucoma (EAGLE): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2016; 388(10052): 1389-1397. doi: 10.1016/S0140-6736(16)30956-4

23. Iureva TN. Modern ideas about the structural and functional organization of the iridociliary system. *Medical visualization*. 2011; 2(2): 44-50. (In Russ.)

24. Croft MA, Nork TM, McDonald J, Katz A, Lütjen-Drecoll E, Kaufman PL. Accommodative movements of the vitreous membrane, choroid and sclera in young and presbyopic human and nonhuman primate eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013; 54(7): 5049-5058. doi: 10.1167/iov.12-10847

25. Bordeianu CD. A new classification of glaucomas. *Clin Ophthalmol*. 2014; 8: 1801-1817. doi: 10.2147/OPHTH.S65003

26. Egorova EV, Fayzieva US, Uzunian DG, Ivanova ES, Eremenko IL. Anatomic and topographic preconditions of intraocular pressure disorder in cataract, complicated by pseudoexfoliative syndrome. *Practical medicine*. 2012; (4-1): 190-193. (In Russ.)

27. Marchenko AN, Sorokin EL, Posvalyuk VD, Danilov OV. Prognostic possibilities revealing high risk factors of phacomor-

phic glaucoma in individuals with hyperopic refraction. *Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery*. 2011; (3): 57-62. (In Russ.)

28. Taratutta EP, Aklaeva NA, Larina TYu, Tarasova NA, Khvelidze TZ, Kushnarevich NYu. Results of objective accommodation in concomitant strabismus. *Russian Ophthalmological Journal*. 2017; 1: 49-54. doi: 10.21516/2072-0076-2017-10-1-49-54. (In Russ.)

29. Chatoux O, Touboul D, Buestel C, Balcou P, Colin J. Crystalline lens photodisruption using femtosecond laser: experimental study. *J Fr Ophtalmol*. 2010; 33(7): 472-480. doi: 10.1016/j.jfo.2010.06.008

30. Croft MA, McDonald JP, Katz A, Lin TL, Lütjen-Drecoll E, Kaufman PL. Extralenticular and lenticular aspects of accommodation and presbyopia in human versus monkey eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013; 54(7): 5035-5048. doi: 10.1167/iov.12-10846

Сведения об авторах

Щуко Андрей Геннадьевич – доктор медицинских наук, профессор, директор, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России; заведующий кафедрой офтальмологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; заведующий кафедрой глазных болезней, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: if@mntk.irkutsk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4264-4408>

Новожилова Евгения Таировна – врач-офтальмолог лечебно-консультационного отделения, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: novojilova_et@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6274-3203>

Розанова Ольга Ивановна – доктор медицинских наук, заведующая лечебно-консультационным отделением, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: olgrozanova@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-3139-2409>

Шолохов Леонид Федорович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: lfshol@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3588-6545>

Information about the authors

Andrey G. Shchuko – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Irkutsk Branch of S.N. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; Head of the Department of Ophthalmology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Head of the Department of Eye Diseases, Irkutsk State Medical University, e-mail: if@mntk.irkutsk.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4264-4408>

Evgeniya T. Novozhilova – Ophthalmologist at the Treatment and Consultative Department, Irkutsk Branch of S.N. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: novojilova_et@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6274-3203>

Olga I. Rozanova – Dr. Sc. (Med.), Head of the Treatment and Consultative Department, Irkutsk Branch of S.N. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: olgrozanova@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-3139-2409>

Leonid F. Sholokhov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Physiology and Pathology of the Endocrine System, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: lfshol@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3588-6545>

Статья получена: 02.11.2020. Статья принята: 11.12.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 02.11.2020. Accepted: 11.12.2020. Published: 26.12.2020.

ПЕДИАТРИЯ PEDIATRICS

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.21

Подросток с ожирением: социально-психологический портрет*

Романица А.И., Поляков В.М., Погодина А.В., Мясищев Н.А., Климкина Ю.Н., Рычкова Л.В.

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

Автор, ответственный за переписку: Романица Анастасия Игоревна, e-mail: ranzypel93@gmail.com

Резюме

Обоснование. Ожирение и его осложнения у детей и подростков остаются одними из серьёзных проблем в XXI веке. Клинико-психологические исследования показывают, что ожирение может приводить к нарушениям эмоционального профиля у подростков. В настоящее время одним из факторов риска развития ожирения у детей считается влияние различных социально-демографических показателей. В связи с недостаточным изучением взаимосвязи социально-демографических и психологических параметров с ожирением у подростков мы изучили данную проблему.

Цель. Установить социально-демографические и психологические факторы, связанные с ожирением в подростковом возрасте.

Материалы и методы. В исследование поперечного дизайна включены 111 подростков с ожирением и 39 подростков с нормальной массой тела; возраст обследуемых составил 11–17 лет. Методом антропометрии и анкетирования изучали нарушения в эмоциональной сфере, пищевое поведение и социально-демографические характеристики подростков.

Результаты. Показано, что подростки с ожирением значительно чаще, чем подростки с нормальным весом, имеют второго неродного родителя ($p = 0,002$). Все подростки с нормальным весом имели внешкольные увлечения и посещали различные курсы (работа с репетиторами, изучение иностранных языков, курсы для подготовки к экзаменам), в то время как у подростков с ожирением этот показатель составил 75 % ($p < 0,001$). В нашем исследовании не выявлено отличий в группах подростков по занятиям спортом и продолжительности времени, проведённого у экрана. При изучении эмоционального состояния было показано, что среди подростков с ожирением выявлено большее число детей с заниженной самооценкой, в сравнении с группой контроля ($p = 0,041$). Показано, что депрессия у подростков с ожирением чаще (15,3 %) соответствует категории «тяжёлая», тогда как в группе контроля подростков с тяжёлой депрессией не было вообще.

Заключение. Мы выявили, что школьники с ожирением – это подростки, проживающие в сводной семье, менее склонные к дополнительной образовательной деятельности. Нами были описаны эмоциональный профиль и расстройство пищевого поведения подростков с ожирением.

Ключевые слова: ожирение, подростки, факторы риска, сводная семья, семейный анамнез, эмоциональные нарушения, пищевое поведение, психологические факторы

Для цитирования: Романица А.И., Поляков В.М., Погодина А.В., Мясищев Н.А., Климкина Ю.Н., Рычкова Л.В. Подросток с ожирением: социально-психологический портрет. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 179-187. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.21.

Obese Adolescent: Social and Psychological Portrait

Romanitsa A.I., Polyakov V.M., Pogodina A.V., Myasishchev N.A., Klimkina Yu.N., Rychkova L.V.

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

Corresponding author: Anastasia I. Romanitsa, e-mail: ranzypel93@gmail.com

Abstract

Background. Obesity and its complications continue to be a serious problem in children and adolescents in the 21st century. Clinical and psychological studies show that obesity may lead to changes in emotional status of adolescents. Today exposure to sociodemographic parameters is known to be a risk factor for the development of obesity in children. Thus, our research focuses on the relationship between sociodemographic and psychological factors and obesity in adolescents, as this link has not been sufficiently studied.

Aim. To determine sociodemographic and psychological factors associated with adolescent obesity.

Materials and methods/ Our cross-sectional study included 111 obese adolescents and 39 normal weight adolescents, aged 11–17 years. We used anthropometry and questionnaire methods to examine emotional state, eating habits and socio-demographic characteristics of teenagers.

Results. It is shown that adolescents with obesity are more likely than adolescents with normal weight to have a step-parent ($p = 0.002$). All adolescents with normal weight were involved in extracurricular activities and attended dif-

* Статья опубликована по материалам доклада на IV Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 16 октября 2020 года).

ferent courses (studying with tutors, going to language schools, exam preparation courses), compared to adolescents with obesity (75 %) ($p < 0.001$). We did not find any differences between the groups in the domains of sports activities and screen time. When examining the emotional state of adolescents, we found that more people from the group with obesity suffered from lower self-esteem than from the control group ($p = 0.041$). Adolescents with obesity tend to have (15.3 %) severe depression, while no controls reported this issue.

Conclusions. We found that adolescents with obesity more often live in a step-family. They are less likely to be engaged in additional educational activities. We succeeded to describe the emotional status and eating habits of obese adolescents.

Key words: obesity, adolescents, risk factors, single family, family history, emotional disorders, eating behavior, psychological factor

For citation: Romanitsa A.I., Polyakov V.M., Pogodina A.V., Myasishchev N.A., Klimkina Yu.N., Rychkova L.V. Obese Adolescent: Social and Psychological Portrait. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 179-187. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.21.

Ожирение является гетерогенной группой наследственных и приобретённых заболеваний, связанных с избытком жировой ткани в организме [1, 2, 3]. По данным ВОЗ, в настоящее время более 1,9 млрд взрослых старше 18 лет имеют избыточный вес. Из них свыше 650 млн страдают ожирением. Число детей и подростков с ожирением в настоящее время составляет 213 млн человек, что представляет одну из самых серьёзных проблем, стоящих перед общественным здравоохранением в XXI веке [4]. По результатам мультицентрового исследования, проведённого в Российской Федерации, ожирением страдают около 6 % детей в возрасте 5–15 лет [5].

В организме человека ожирение нарушает деятельность практически всех органов и систем, приводя к развитию большого числа различных заболеваний и патологических симптомов [6, 7, 8, 9, 10, 11]. По мере прогрессирования ожирение становится источником дополнительных материальных затрат не только для самого индивидуума, но и для общества в целом [12, 13, 14, 15]. Кроме того, после поправки на значимые материнские и социально-демографические факторы показано, что расходы здравоохранения на лечение и реабилитацию детей с ожирением в 1,62 раза выше, чем при организации медицинской помощи детям, имеющим нормальный вес [16]. Прежде всего это связано с формированием ранних осложнений данной патологии, таких как болезни сердечно-сосудистой системы (ССС), сахарный диабет (СД) 2-го типа, болезни костно-мышечного аппарата и т. п. [16, 17].

Результаты клинико-психологического исследования показали, что ожирение может влиять на психосоциальное благополучие подростков, поскольку молодые люди с ожирением подвержены к снижению самооценки и качества жизни, связанного со здоровьем [18, 19]. У детей с ожирением отмечается низкий индекс уровня счастья и удовлетворения, неудовлетворённость своим телом, депрессия, тревога, низкая самооценка, повышенное чувство стыда в составе комплекса неполноценности, вызванного социальной стигматизацией [20, 21]. А также у таких подростков часто присутствуют психологические проблемы, непосредственно влияющие на социальную адаптацию: задержка психологического развития (в основном касающаяся нарушений эмоционально-волевой сферы) в более взрослом возрасте; низкий уровень профессиональной квалификации; различные нарушения пищевого поведения [21, 22]; психогенный дистресс [22].

В качестве одного из факторов риска развития ожирения у подростков в настоящее время учёные начали рассматривать влияние различных социально-демографических показателей [23], таких как этническая принадлежность [24], структура семьи и её социальное положение [24, 25], физическая активность и занятость ребёнка во время внешкольного досуга [24, 26, 27]. Одна-

ко ассоциации ожирения и социально-демографических показателей изучены недостаточно.

Учитывая серьёзные последствия, связанные с детским и подростковым ожирением, эффективное лечение является обязательным условием. С учётом того, что ожирение влияет и на психоэмоциональную сферу ребёнка, в мультидисциплинарную команду, работающую с детьми с ожирением, вероятно, должен входить психолог.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Установить социально-демографические и психологические факторы, связанные с ожирением в подростковом возрасте, для оптимизации алгоритмов ведения этих больных, включая социально-психологическое сопровождение.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящее исследование поперечного дизайна было проведено в период с декабря 2016 г. по июль 2018 г. Включение детей в исследование проводилось на базе Клиники ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» из числа подростков, направленных на плановую госпитализацию (основная и контрольная группы), а также на базе школ г. Иркутска (МБОУ СОШ № 16 и № 23) (контрольная группа).

Критериями включения были: возраст 11–17 лет; SDS IMT $\geq 2,0$ для включения в основную и в диапазоне от $-1,99$ до $0,99$ для включения в контрольную группу; отсутствие тяжёлых соматических заболеваний; отсутствие острых заболеваний и обострения хронических заболеваний; наличие информированного согласия на участие в исследовании подростка старше 15 лет или родителей/законных представителей детей младше 15 лет;

Критерии исключения: симптоматические, ятрогенные, моногенные и синдромальные формы ожирения; наличие острых заболеваний и обострение хронических заболеваний; наличие подтверждённых органических заболеваний со стороны нижних отделов пищеварительного тракта, ферментопатии, паразитарные инвазии; острая кишечная инфекция в течение последних 6 месяцев; поражение других органов и систем, протекающее с симптомами диспепсии; антибактериальная терапия и лечение пре- и пробиотиками в течение последних 6 месяцев; отказ от участия в исследовании; отсутствие информированного согласия на участие в исследовании подростка старше 15 лет или родителей/законных представителей детей младше 15 лет.

В итоге в исследование были включены 111 подростков с ожирением (SDS IMT $\geq 2,0$) и 39 подростков с SDS IMT в диапазоне от $-1,99$ до $0,99$. Сформированные группы не имели значимых различий по полу и возрасту.

Антропометрические измерения проводили в утренние часы у подростков, одетых в лёгкую одежду,

без обуви. Рост и вес измеряли с помощью ростомера и электронных весов соответственно. Исходя из роста и веса, для каждого подростка рассчитывали индекс массы тела (ИМТ) по следующей формуле: вес в килограммах, разделённый на квадрат роста в метрах. Значения ИМТ оценивали с использованием калькулятора ВОЗ (AnthroPlus, <http://www.who.int/growthref/tools/en>).

Ожирение диагностировали при ИМТ $\geq 2,0$ стандартных отклонений (SD) от медианных значений для популяции подростков соответствующего возраста и пола.

Для диагностики нарушений в эмоциональной сфере мы использовали следующие диагностические инструменты, адаптированные для применения в России: опросник Розенберга для диагностики самооотношения; шкала депрессии Бека; шкала тревожности Спилбергера – Ханина.

Для характеристики пищевого поведения использовали шкалу оценки пищевого поведения (Eating Disorder Inventory (EDI)).

Социально-демографические характеристики подростков оценивали с помощью специально разработанных анкет.

Статистическая обработка данных осуществлялась на персональном компьютере (ПК) с помощью электронных таблиц Excel, пакета прикладных программ Statistica for Windows версии 10.0 (StatSoft Inc., США). Предварительно размер выборки не рассчитывался. Характер распределения количественных признаков оценивали с помощью критерия Шапиро – Уилка. Для оценки различий между группами подростков с нормальной массой тела и ожирением по непрерывным переменным использовали *t*-критерий Стьюдента для независимых выборок. Для оценки различий качественных переменных использовали критерий Пирсона χ^2 либо критерий Фишера. Статически значимой разницу считали при $p < 0,05$.

В работе с подростками соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, 2013 ред.), а также п. 5 ст. 24 «Права несовершеннолетних» Основ законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан от 22.07.1993 № 5487-1 (с изм. от 20.12.1999). Все

Таблица 1
Антропометрические и социально-демографические характеристики подростков с ожирением и нормальной массой тела

Anthropometric and socio-demographic characteristics of adolescents with obesity and normal body weight

Параметры	Подростки с ожирением (n = 111)	Подростки без ожирения (n = 39)	p
Пол, n (%)			
мужской	47 (42,4 %)	21 (54 %)	0,672
женский	64 (56,7 %)	18 (46 %)	
Возраст, лет	14,5 $\pm$ 1,8	14,5 $\pm$ 1,8	0,973
Рост, м	1,7 $\pm$ 0,1	1,7 $\pm$ 0,1	0,593
Вес, кг	90,8 (52,4; 176)*	55,7 (35; 79,4)	0,000
ИМТ, кг/м ²	32,4 $\pm$ 5,1*	19,8 $\pm$ 4,3	0,000
SDS ИМТ	2,7 (2,0; 5,7)*	-0,1 (-1,7; 0,97)	0,000
Местность проживания, n (%)			
город	94 (86,7 %)	35 (87,5 %)	0,668
село	17 (15,0 %)	4 (12,5 %)	
Условия проживания, n (%)			
благоустроенное жилье	102 (91,9 %)	37 (92,5 %)	0,646
неблагоустроенное жилье	8 (7,2 %)	2 (7,5 %)	
Качество условий проживания, n (%)			
отличное или хорошее	105 (94,6 %)	33 (82,5 %)	0,054
плохое или удовлетворительное	3 (2,7 %)	5 (15,0 %)	
затрудняюсь ответить	3 (2,7 %)	1 (2,5 %)	
Количество детей в семье, n (%)			
1	27 (24,3 %)	12 (30,0 %)	0,463
2	54 (48,6 %)	20 (52,5 %)	
3 и более	30 (27,1 %)	7 (17,5 %)	
Ребёнок по счету, n (%)			
первый	83 (74,8 %)	28 (70,0 %)	0,407
второй	17 (15,3 %)	9 (25,0 %)	
третий	8 (7,2 %)	2 (5,0 %)	
четвёртый	3 (2,7 %)	–	
Состав семьи, n (%)			
неполная семья	25 (22,5 %)	9 (22,5 %)	1,000
второй неродной родитель	34 (30,6 %)*	2 (5,0 %)	0,002
в семье два родных родителя	52 (46,8 %)*	28 (72,5 %)	0,008

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

участники и их законные представители были осведомлены об участии в научном исследовании, о важности данной проблемы в мире и дали своё письменное согласие на участие в дальнейшей совместной работе.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В таблице 1 представлены антропометрические и социально-демографические характеристики подростков с ожирением и нормальной массой тела. Мы ожидаемо получили статистически значимые различия между группами подростков по весу, ИМТ и SDS ИМТ в связи с критериями включения в исследование. Можно заметить, что подростки с ожирением значительно чаще, чем подростки с нормальным весом, имеют одного ($p = 0,002$) или обоих ($p = 0,008$) неродных родителей и собственную комнату ($p = 0,037$). Другие изучаемые социально-демографические характеристики в обеих группах были сопоставимы.

Результаты, полученные при изучении внешкольной занятости подростков, представлены в таблице 2. Видно, что все подростки без ожирения имели внешкольные увлечения и посещали различные курсы, в то время как среди подростков с ожирением таких было 75 % ($p < 0,001$). При детальном рассмотрении видно, что эти различия реализуются за счёт меньшей вовлеченности подростков с ожирением в дополнительные учебные занятия, которые включали работу с репетиторами, изучение иностранных языков, курсы для подготовки к экзаменам.

Неожиданным результатом было то, что, по данным самоотчётов, подростки с ожирением достаточно актив-

но занимались спортом, и продолжительность времени, проводимого ими перед экраном, не отличалась от таковой у подростков с нормальным весом.

При изучении эмоционального состояния подростков (табл. 3), было показано, что среди подростков с ожирением выявлено большее число детей с заниженной самооценкой (17,1 %), в сравнении с группой контроля (7,9 %) ($p = 0,041$) (рис. 1). Также, в этой группе значительно чаще, чем у подростков с нормальной массой тела, регистрировались высокие уровни как личностной (54,1 %), так и ситуативной тревожности (50,4 %) ($p = 0,002$) (рис. 2).

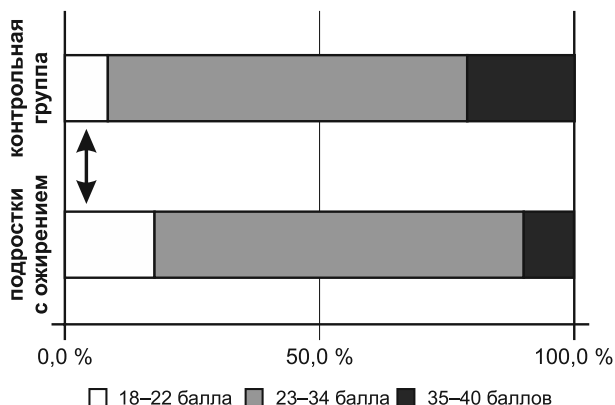


Рис. 1. Уровень самооценки у подростков с ожирением и в группе контроля

Fig. 1. Rosenberg Self-Esteem Scale scores in adolescents with obesity and in the control group

Внешкольная занятость подростков с ожирением и нормальной массой тела

Таблица 2

Extracurricular activities of adolescents with obesity and normal body weight

Table 2

Занятия	Подростки с ожирением (n = 111)	Подростки без ожирения (n = 39)	p
Любые дополнительные занятия, n (%)			
да	75 (67,6 %)*	39 (100,0 %)	0,001
нет	36 (32,4 %)	–	
Занятия в свободное время, n (%)			
занятие в кружках, секциях	42 (37,8 %)	12 (30,0 %)	0,268
общение с друзьями	39 (35,1 %)	18 (47,5 %)	0,494
чтение художественной литературы, журналов	12 (10,8 %)	8 (20,0 %)	0,122
компьютеры, интернет	4 (3,6 %)	–	–
Дополнительные учебные занятия, n (%)			
да	24 (21,6 %)*	39 (100,0 %)	0,001
нет	87 (78,4 %)	–	
Творческие кружки, n (%)			
да	6 (5,4 %)	4 (10,0 %)	0,323
нет	105 (94,6 %)	35 (90,0 %)	
Занятия спортом, n (%)			
да	45 (40,5 %)	10 (27,5 %)	0,139
нет	66 (59,5 %)	29 (72,5 %)	
Время у экрана, n (%)			
менее 2 часов в день	37 (33,3 %)	12 (32,5 %)	0,621
от 2 до 3 часов	23 (20,7 %)	5 (12,5 %)	
более 3 часов в день	49 (44,1 %)	18 (45,0 %)	

Примечание. * — различия с контрольной группой статистически значимы при $p < 0,05$.

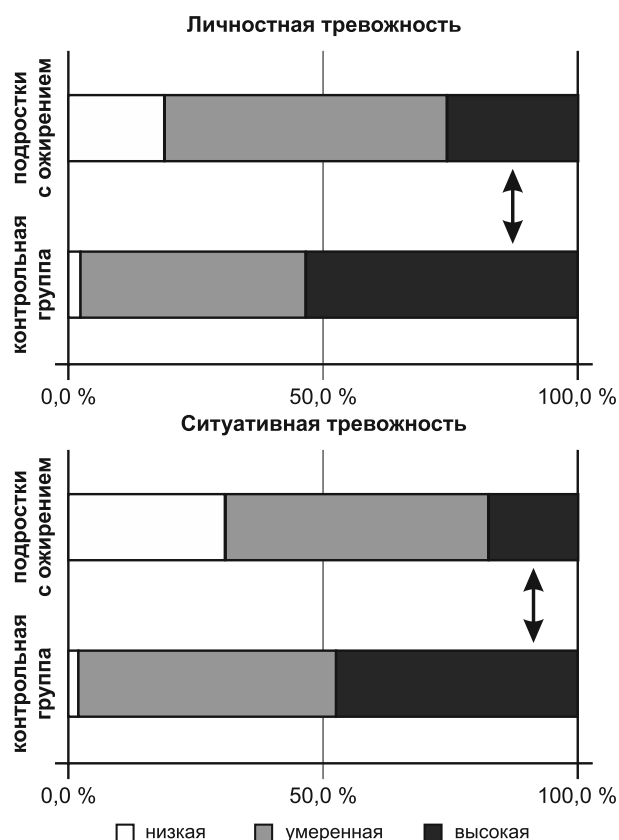


Рис. 2. Характеристики личностной и ситуативной тревожности у подростков с ожирением и в группе контроля

Fig. 2. Personal and situational anxiety in adolescents with obesity and in the control group

По результатам интерпретации шкалы А. Бека мы выявили, что подростки с ожирением в 41,4 % случаев соот-

ветствуют категории депрессии разной степени выраженности (рис. 3). При оценке степени тяжести депрессивных проявлений, мы обнаружили, что почти у 15 % подростков с ожирением депрессия соответствует категории «выраженной» и «тяжёлой», тогда как в группе контроля подростков, относящихся к данной категории, не было вообще.

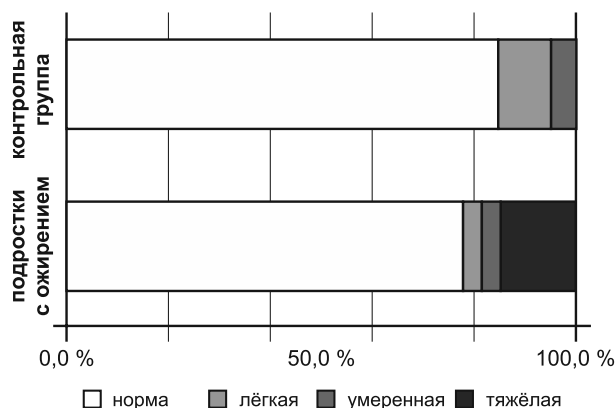


Рис. 3. Результаты оценки по шкале депрессии Бека у подростков с ожирением и в группе контроля

Fig. 3. Beck Depression Scale scores in adolescents with obesity and in the control group

Характеристики эмоциональной сферы и пищевого поведения подростков с ожирением и с нормальным весом приведены в таблице 3.

При помощи опросника EDI-51 было обнаружено, что у подростков с ожирением, по сравнению с подростками с нормальной массой тела, преобладают стремление к худобе, признание булимии, интероцептивная некомпетентность (дефицит уверенности в отношении распознавания чувства голода и насыщения) и неэффективность адаптивного потенциала личности. При этом не было

Характеристики эмоциональной сферы и пищевого поведения подростков с ожирением и с нормальным весом

Таблица 3

Characteristics of the emotional sphere and eating behavior of obese and normal weight adolescents

Table 3

Характеристика	Подростки с ожирением	Число наблюдений	Подростки без ожирения	Число наблюдений	p
EDI-51					
Стремление к худобе	7,1 (0; 12)*	111	1,6 (0; 9)	36	0,000
Булимия	6,4 (0; 10)*	111	1,5 (0; 7)	36	0,000
Негативное восприятие собственного тела в контексте соответствия весовой норме	7,0 ± 2,9	111	7,2 ± 4,8	36	0,779
Неэффективность адаптивного потенциала личности и волевого самоконтроля	6,8 (1; 10)*	111	4,2 (0; 14)	36	0,000
Телесно-весовой перфекционизм (стремление к идеальным показателям собственного веса и тела)	7,1 ± 2,8	111	7,1 ± 4,0	36	0,967
Враждебное отношение к социальной среде (недоверие в межличностных отношениях, чувство отстранённости от контактов с окружающими)	6,5 ± 3,7	111	6,0 ± 3,9	36	0,512
Интероцептивная некомпетентность	7,6 (3; 19)*	111	4,1 (0; 16)	36	0,000
Шкала Спилбергера – Ханина					
ситуативная тревожность	44,4 (27; 69)*	111	35,8 (20; 55)	39	0,000
личностная тревожность	46,3 (24; 55)*	111	39,4 (23; 64)	38	0,000
шкала самооценки М. Розенберга	27,3 (20; 44)*	111	30,4 (22; 39)	38	0,002
шкала депрессии Бека	9,6 (0; 31)*	111	5,8 (0; 23)	38	0,037

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

обнаружено разницы в неудовлетворённости своим телом, телесно-весовым перфекционизмом и враждебным отношением к социальной среде.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты нашего исследования показали, что школьники с ожирением – это подростки, имеющие второго неродного родителя, хорошие жилищные условия (наличие отдельной комнаты) и менее склонные к дополнительной образовательной деятельности. Подобные результаты обсуждаются в мировой литературе.

Так, в исследовании, опубликованном в 2015 г. D.C. Hernandez и E. Pressler [28], доказана связь между ожирением и повторным браком матери/отца или проживанием подростка в сводной семье. Подобную семью авторы рассматривали как один из типов семейного стресса. Длительное воздействие такого стресса на психику ребёнка может быть одним из факторов, способствующих развитию ожирения. Г.М. Заковоротная в своём обзоре, посвящённом внутрисемейным конфликтам [29], ассоциирует данную проблему с несколькими факторами. Во-первых, это может быть связано с контролем пищевого поведения: родной родитель чрезмерно контролирует приём и качество питания ребёнка, что в дальнейшем приводит к бесконтрольному потреблению пищи молодыми людьми. Либо кровный родитель при создании новой (сводной) семьи обращает меньшее внимание и осуществляет минимальный контроль над родным ребёнком и его питанием.

Связь внешкольных дополнительных учебных занятий и ожирения изучал L.E. van Derzee [27]. В 2014 г. опубликована его диссертация, в которой автор разделил все внешкольные занятия на три группы: структурированные, полуструктурированные и неструктурированные. Учёным был сделан вывод о том, что школьники и молодые люди, которые меньшую часть времени во внешкольном досуге посвящают неструктурированным занятиям (просмотр телевизора, игра в видеоигры, занятия с планшетом), более склонны к ожирению. В исследовании N. Wu et al. было показано, что низкая работоспособность, меньшее количество дополнительных учебных занятий в период внешкольного времени у подростков с ожирением связаны с плохой памятью [30]. Возможно, проблемами с памятью и, следовательно, плохим усвоением учебного материала, объясняется меньшая вовлечённость подростков с ожирением в дополнительные учебные занятия (работа с репетиторами, языковые школы), обнаруженная в нашем исследовании.

Результаты, полученные нами при изучении психологических особенностей подростков, свидетельствуют о том, что, во-первых, у подростков с ожирением, по сравнению с подростками контрольной группы, на фоне стремления к похуданию преобладают тенденции к булимии, интероцептивная некомпетентность и неэффективность адаптивного потенциала личности. Во-вторых, было обнаружено статистически значимое различие в уровнях базовой и ситуативной тревожности в сравниваемых группах подростков, что отражало повышенную тревожность у подростков с ожирением. Кроме того, у подростков с ожирением отмечалась тенденция к депрессивным реакциям, сочетающаяся с пониженным уровнем самооценки.

Полученные результаты подтверждаются данными других исследований. Существует ряд работ, установ-

ливающих непосредственную взаимосвязь ожирения и эмоциональных расстройств у детей, включая депрессивные симптомы. I.S. Erermis (2011) и S. Flothes (2004) выявили высокую распространённость депрессии у подростков с ожирением вследствие социального неприятия, дискриминации, негативных стереотипов, отрицания образа собственного тела [31, 32]. Комплексное клиничко-психологическое обследование 320 детей и подростков 14–16 лет, страдающих ожирением, проведённое Ю.Г. Самойловой с соавт., также продемонстрировало наличие высокого уровня тревожности по сравнению с возрастными нормами. Также в работе описано формирование агрессивного психосоциального поведения, комплекса неполноценности и сниженного уровня социальных контактов у испытуемых с давностью ожирения менее 5 лет [33]. Исследование Н.Н. Миняйловой, Ю.И. Ровды, Ю.Н. Шишкова с соавт., проведённое на 278 детях и подростках в возрасте 10–17 лет, выявило неуравновешенный, аффективный, «неадекватно-положительный» эмоциональный статус, связанный, вероятно, с повышенным эндорфиновым фоном, у 53 % детей и подростков с избыточным весом [34]. Однако исследование А.В. Солнцевой, Т.А. Емельянцева, А.В. Сукало с соавт., проведённое на 256 подростках 12–16 лет, не выявило однозначной зависимости депрессии от ИМТ у подростков с ожирением и продемонстрировало только наличие средней положительной корреляции между импульсивным перееданием и тревожно-депрессивной симптоматикой у детей с алиментарным ожирением [35]. Существуют также половые различия распространённости депрессивных симптомов, которые более выражены в пубертатном периоде. В работе B. Xie (2005) при исследовании когорты 1655 подростков в возрасте 11–15 лет подтверждено более значимое влияние ИМТ на развитие депрессии у девочек, в отличие от мальчиков. В последние годы механизмы импульсивного поведения, включая переедание, активно изучаются с позиций «синдрома дефицита удовольствия», связанного со снижением уровня дофамина [36].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проживание ребёнка в сводной семье с мачехой/отчимом и недостаточная занятость дополнительной образовательной деятельностью являются факторами, связанными с ожирением у подростков. Эмоциональный профиль подростков с ожирением характеризуется такими противоречивыми чертами, как стремление к похудению и булимии, дефицит уверенности в отношении распознавания чувства голода и насыщения, недостаточная оценка интероцептивной информации. В целом можно заключить, что подростки с ожирением на фоне сниженного адаптивного потенциала демонстрируют адекватную оценку своего текущего состояния и испытывают относительно него комплекс негативных переживаний, выраженный в повышенной тревожности, депрессивных проявлениях и низкой самооценке.

В заключение отметим, что выявленный нами профиль социальных и эмоциональных изменений у подростков с ожирением может являться базой для дальнейших исследований в этой области, а также использоваться в комплексной терапии и реабилитации таких детей с активным привлечением психологов.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Петеркова В.А., Ремизов О.В. *Ожирение в детском возрасте. Ожирение: этиология, патогенез, клинические аспекты.* М.: Медицинское информационное агентство; 2004.
2. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Бутрова С.А. Жировая ткань как эндокринный орган. *Ожирение и метаболизм.* 2006; 3(1): 6-13.
3. Колосов Ю.А., Колесников С.И., Анищенко А.П., Бурдюкова Е.В., Гуревич К.Г. Избыточная масса тела и ожирение у детей, подростков и взрослых: причины развития и факторы риска. *Патогенез.* 2016; 14(4): 9-14.
4. Всемирная организация здравоохранения. *Десятикратный рост числа детей и подростков с ожирением за последние сорок лет: новое исследование имперского колледжа в Лондоне.* URL: <https://www.who.int/ru/news/item/11-10-2017-tenfold-increase-in-childhood-and-adolescent-obesity-in-four-decades-new-study-by-imperial-college-london-and-who>.
5. Тутельян В.А., Батулин А.К., Конь И.Я., Мартинчик А.Н., Углицких А.К., Коростелова М.М., и др. Распространенность ожирения и избыточной массы тела среди детского населения РФ: мультицентровое исследование. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского.* 2014; 93(5): 28-31.
6. Ивлева А.Я., Старостина Е.Г. *Ожирение – проблема медицинской, а не косметической.* М.: 2002.
7. Колесникова Л.И., Долгих В.В., Дзятковская Е.Н., Поляков В.М. Особенности психосоматического статуса у детей дошкольного и школьного возраста. *Бюллетень СО РАМН.* 2003; (2): 17-23.
8. Бессен Д.Г., Кушнер Р. *Избыточный вес и ожирение. Профилактика, диагностика и лечение.* М.: БИНОМ; 2004.
9. Galinier M, Pathak A, Roncalli J, Massabau P. Obesity and cardiac failure. *Arch Mal Coeur Vaiss.* 2005; 98(1): 39-45.
10. Uretsky S, Masserli FH, Baugalore S, Champion A, Cooper-Dehoff RM, Zhou Q, et al. Obesity paradox in patients with hypertension and coronary artery disease. *Am J Med.* 2007; 120(10): 863-870. doi: 10.1016/j.amjmed.2007.05.011
11. Williams EP, Mesidor M, Winters K, Dubbert PM, Wyatt SB. Overweight and obesity: prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem. *Curr Obes Rep.* 2015; 4(3): 363-370. doi: 10.1007/s13679-015-0169-4
12. Бурков С.Г., Ивлева А.Я. Избыточный вес и ожирение – проблема медицинская, а не косметическая. *Ожирение и метаболизм.* 2010; (3): 15-19.
13. Wang YC, McPherson K, Marsh T, Gortmaker SL, Brown M. Health and economic burden of the projected obesity trends in the USA and the UK. *Lancet.* 2011; 378(9793): 815-825. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60814-3
14. Keaver L, Webber L, Dee A, Shiely F, Marsh T, Balanda K, et al. Application of the UK foresight obesity model in Ireland: The health and economic consequences of projected obesity trends in Ireland. *PLoS One.* 2013; 8(11): e79827. doi: 10.1371/journal.pone.0079827
15. Rtveladze K, Marsh T, Barquera S, Romero LMS, Levy D, Melendez G, et al. Obesity prevalence in Mexico: Impact on health and economic burden. *Public Health Nutr.* 2014; 17(1): 233-239. doi: 10.1017/S1368980013000086
16. Hayes A, Chevalier A, D'Souza M, Baur L, Wen LM, Simpson J. Early childhood obesity: Association with healthcare expenditure in Australia. *Obesity (Silver Spring).* 2016; 24(8): 1752-1758. doi: 10.1002/oby.21544
17. Sonntag D, Ali S, De Bock F. Lifetime indirect cost of childhood overweight and obesity: A decision analytic model. *Obesity (Silver Spring).* 2016; 24(1): 200-206. doi: 10.1002/oby.21323
18. DeWalt DA, Gross HE, Gipson DS, Selewski DT, DeWitt EM, Dampier CD, et al. PROMIS pediatric self-report scales distinguish subgroups of children within and across six common pediatric chronic health conditions. *Qual Life Res.* 2015; 24(9): 2195-2208. doi: 10.1007/s11136-015-0953-3
19. Pogodina A, Rychkova L, Kravtsova O, Klimkina J, Kosovtzeva A. Cardiometabolic risk factors and health-related quality of life in adolescents with obesity. *Childhood Obesity.* 2017; 13(6): 499-506. doi: 10.1089/chi.2016.0330
20. Romanitsa A, Rychkova L, Pogodina A. Functional disorders of the colon in adolescents with obesity: psychological characteristics. *Arch Dis Child.* 2019; 104(Suppl 3): A360-A361. doi: 10.1136/archdischild-2019-epa.853
21. Griffiths LJ, Parsons TJ, Hill AJ. Self-esteem and quality of life in obese children and adolescents: a systematic review. *Int J Pediatr Obes.* 2010; 5(4): 282-304. doi: 10.3109/17477160903473697
22. Viner RM, Haines MM, Taylor SJC, Head J, Booy R, Stansfeld S. Body mass, weight control behaviors, weight perception and emotional well-being in a multiethnic sample of early adolescents. *Int J Obes (Lond).* 2006; 30(10): 1514-1521. doi: 10.1038/sj.ijo.0803352
23. Pan L, Li X, Feng Y, Hong L. Psychological assessment of children and adolescents with obesity. *J Int Med Res.* 2018; 46(1): 89-97. doi: 10.1177/0300060517718733
24. Долгих В.В., Рычкова Л.В., Мандзяк Т.В. Состояние здоровья детского населения в связи с сочетанным воздействием факторов окружающей среды. *Вопросы современной педиатрии.* 2005; 4(51): 154.
25. Рычкова Л.В., Аюрова Ж.Г., Погодина А.В. Ожирение и ассоциированные с ним факторы риска у подростков, проживающих в сельских районах республики Бурятия. *Ожирение и метаболизм.* 2018; 15(3): 42-48. doi: 10.14341/OMET9532;
26. Витебская А.В., Писарева Е.А., Попович А.В. Образ жизни детей и подростков с ожирением. Результаты анкетирования пациентов и их родителей. *Ожирение и метаболизм.* 2016; 13(2): 33-40. doi: 10.14341/OMET2016233-40
27. Van Derzee LE. *The effects of student involvement in after-school activities on childhood obesity.* 2014. URL: https://opencommons.uconn.edu/gs_theses/691.
28. Hernandez DC, Pressler E. Gender disparities among the association between cumulative family-level stress & adolescent weight status. *Prev Med.* 2015; 73: 60-66. doi: 10.1016/j.ypmed.2015.01.013
29. Заковоротная Г.М., Гайнуллина Ю.И. Внутрисемейные конфликты и ожирение. *Международный студенческий научный вестник.* 2019; (1): 76.
30. Wu N, Chen Y, Yang J, Li F. Childhood obesity and academic performance: the role of working memory. *Front Psychol.* 2017; 8: 611. doi: 10.3389/fpsyg.2017.00611
31. Flotnes IS, Nilsen TIL, Augestad LB. Norwegian adolescents, physical activity and mental health: The Young-HUNT study. *Norsk Epidemiol.* 2011; 20(2): 153-161. doi: 10.5324/nje.v20i2.1336
32. Erermis S, Cetin N, Tamar M, Bukusoglu N, Akdeniz F, Goksen D. Is obesity a risk factor for psychopathology among adolescents? *Pediatr Int.* 2004; 46(3): 296-301. doi: 10.1111/j.1442-200x.2004.01882.x
33. Самойлова Ю.Г. Психопатологические особенности детей, подростков с ожирением и метаболическим синдромом. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии.* 2009; (1): 77-79.
34. Миняйлова Н.Н., Ровда Ю.И., Шишкова Ю.Н., Матласова М.С. Психохарактерологические особенности детей и подростков с избыточным жиротложением. *Мать и дитя в Кузбассе.* 2019; (1): 37-41.
35. Солнцева А.В., Емельянцева Т.А., Сукало А.В., Загребачева О.Ю., Михно А.Г., Кончиц Е.С. Особенности эмоциональных нарушений у подростков с ожирением. *Медицинский журнал.* 2014; (4): 117-121.
36. Xie B, Chou CP, Spruijt-Metz D, Liu C, Xia J, Gong J, et al. Effects of perceived peer isolation and social support availability on the relationship between body mass index and depressive symptoms. *Int J Obes (Lond).* 2005; 29(9): 1137-1143. doi: 10.1038/sj.ijo.0803006

REFERENCES

1. Peterkova VA, Remizov OV. Obesity in childhood. *Obesity: etiology, pathogenesis, clinical aspects*. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo; 2004. (In Russ.)
2. Dedov II, Melnichenko GA, Butrova SA. Fat tissue as an endocrine organ. *Obesity and Metabolism*. 2006; 3(1): 6-13. (In Russ.)
3. Kolosov YuA, Kolesnikov SI, Anishchenko AP, Burdyukova EV, Gurevich KG. Overweight and obesity in children, teenagers and adults: causes of development and risk factors. *Pathogenesis*. 2016; 14(4): 9-14. (In Russ.)
4. World Health Organization. Tenfold increase in childhood and adolescent obesity in four decades: new study by Imperial College London and WHO. URL: <https://www.who.int/news/item/11-10-2017-tenfold-increase-in-childhood-and-adolescent-obesity-in-four-decades-new-study-by-imperial-college-london-and-who>.
5. Tutelyan VA, Baturin AK, Kon IYa, Martinchik AN, Ugitskikh AK, Korosteleva MM, et al. The prevalence of obesity and overweight among the child population of the Russian Federation: a multicenter study. *Journal "Pediatria" named after G.N. Speransky*. 2014; 93(5): 28-31. (In Russ.)
6. Ivleva AY, Starostina EG. *Obesity is a medical problem, not a cosmetic one*. Moscow: 2002. (In Russ.)
7. Kolesnikova LI, Dolgikh VV, Dzyatkovskaya EN, Poliakov VM. Features of the psychosomatic status in children of preschool and school age. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2003; (2): 17-23. (In Russ.)
8. Bessen DG, Kushner R. *Excess weight and obesity. Prevention, diagnosis and treatment*. Moscow: BINOM; 2004. (In Russ.)
9. Galinier M, Pathak A, Roncalli J, Massabau P. Obesity and cardiac failure. *Arch Mal Coeur Vaiss*. 2005; 98(1): 39-45.
10. Uretsky S, Masserli FH, Baugalore S, Champion A, Cooper-Dehoff RM, Zhou Q, et al. Obesity paradox in patients with hypertension and coronary artery disease. *Am J Med*. 2007; 120(10): 863-870. doi: 10.1016/j.amjmed.2007.05.011
11. Williams EP, Mesidor M, Winters K, Dubbert PM, Wyatt SB. Overweight and obesity: prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem. *Curr Obes Rep*. 2015; 4(3): 363-370. doi: 10.1007/s13679-015-0169-4
12. Burkov SG, Ivleva AY. Overweight and obesity is a medical problem, not a cosmetic one. *Obesity and Metabolism*. 2010; (3): 15-19. (In Russ.)
13. Wang YC, McPherson K, Marsh T, Gortmaker SL, Brown M. Health and economic burden of the projected obesity trends in the USA and the UK. *Lancet*. 2011; 378(9793): 815-825. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60814-3
14. Keaver L, Webber L, Dee A, Shiely F, Marsh T, Balanda K, et al. Application of the UK foresight obesity model in Ireland: The health and economic consequences of projected obesity trends in Ireland. *PLoS One*. 2013; 8(11): e79827. doi: 10.1371/journal.pone.0079827
15. Rtveladze K, Marsh T, Barquera S, Romero LMS, Levy D, Melendez G, et al. Obesity prevalence in Mexico: Impact on health and economic burden. *Public Health Nutr*. 2014; 17(1): 233-239. doi: 10.1017/S1368980013000086
16. Hayes A, Chevalier A, D'Souza M, Baur L, Wen LM, Simpson J. Early childhood obesity: Association with healthcare expenditure in Australia. *Obesity (Silver Spring)*. 2016; 24(8): 1752-1758. doi: 10.1002/oby.21544
17. Sonntag D, Ali S, De Bock F. Lifetime indirect cost of childhood overweight and obesity: A decision analytic model. *Obesity (Silver Spring)*. 2016; 24(1): 200-206. doi: 10.1002/oby.21323
18. DeWalt DA, Gross HE, Gipson DS, Selewski DT, DeWitt EM, Dampier CD, et al. PROMIS pediatric self-report scales distinguish subgroups of children within and across six common pediatric chronic health conditions. *Qual Life Res*. 2015; 24(9): 2195-2208. doi: 10.1007/s11136-015-0953-3
19. Pogodina A, Rychkova L, Kravtsova O, Klimkina J, Kosovtzeva A. Cardiometabolic risk factors and health-related quality of life in adolescents with obesity. *Childhood Obesity*. 2017; 13(6): 499-506. doi: 10.1089/chi.2016.0330
20. Romanitsa A, Rychkova L, Pogodina A. Functional disorders of the colon in adolescents with obesity: psychological characteristics. *Arch Dis Child*. 2019; 104(Suppl 3): A360-A361. doi: 10.1136/archdischild-2019-epa.853
21. Griffiths LJ, Parsons TJ, Hill AJ. Self-esteem and quality of life in obese children and adolescents: a systematic review. *Int J Pediatr Obes*. 2010; 5(4): 282-304. doi: 10.3109/17477160903473697
22. Viner RM, Haines MM, Taylor SJC, Head J, Booy R, Stansfeld S. Body mass, weight control behaviors, weight perception and emotional well-being in a multiethnic sample of early adolescents. *Int J Obes (Lond)*. 2006; 30(10): 1514-1521. doi: 10.1038/sj.ijo.0803352
23. Pan L, Li X, Feng Y, Hong L. Psychological assessment of children and adolescents with obesity. *J Int Med Res*. 2018; 46(1): 89-97. doi: 10.1177/0300060517718733
24. Dolgikh VV, Rychkova LV, Mandzyak TV. State of health of children's population in connection with the combined influence of environmental factors. *Current Pediatrics*. 2005; 4(S1): 154. (In Russ.)
25. Rychkova LV, Anurova ZG, Pogodina AV. Obesity and associated risk factors in adolescents in rural areas of Buryatia, Russia. *Obesity and Metabolism*. 2018; 15(3): 42-48. doi: 10.14341/OMET9532. (In Russ.)
26. Vitebskaya AV, Pisareva EA, Popovich AV. Lifestyle of children and adolescents with obesity. Results of questioning of patients and their parents. *Obesity and Metabolism*. 2016; 13(2): 33-40. doi: 10.14341/OMET2016233-40. (In Russ.)
27. Van Derzee LE. *The effects of student involvement in after-school activities on childhood obesity*. 2014. URL: https://opencommons.uconn.edu/gs_theses/691.
28. Hernandez DC, Pressler E. Gender disparities among the association between cumulative family-level stress & adolescent weight status. *Prev Med*. 2015; 73: 60-66. doi: 10.1016/j.ypmed.2015.01.013
29. Zakovorotnaya GM, Gainullina Yul. Family conflicts and obesity. *European Student Scientific Journal*. 2019; (1): 76. (In Russ.)
30. Wu N, Chen Y, Yang J, Li F. Childhood obesity and academic performance: the role of working memory. *Front Psychol*. 2017; 8: 611. doi: 10.3389/fpsyg.2017.00611
31. Flotnes IS, Nilsen TIL, Augestad LB. Norwegian adolescents, physical activity and mental health: The Young-HUNT study. *Norsk Epidemiol*. 2011; 20(2): 153-161. doi: 10.5324/nje.v20i2.1336
32. Erermis S, Cetin N, Tamar M, Bukusoglu N, Akdeniz F, Goksen D. Is obesity a risk factor for psychopathology among adolescents? *Pediatr Int*. 2004; 46(3): 296-301. doi: 10.1111/j.1442-200x.2004.01882.x
33. Samoylova YuG. Psychopathologic peculiarities of children, adolescents with obesity and metabolic syndrome. *Siberian Herald of Psychiatry and Addiction Psychiatry*. 2009; (1): 77-79. (In Russ.)
34. Minyailova NN, Rovda Yul, Shishkova YuN, Matalasova MS. Psychological characteristics of children and adolescents with excessive adipopexis. *Mother and Baby in Kuzbass*. 2019; (1): 37-41. (In Russ.)
35. Solntseva AV, Yemelyantseva TA, Sukalo AV, Zagrebava OY, Mikhno AG, Konchyts KS. Peculiarities of emotional disturbances in adolescents with obesity. *Medical Journal*. 2014; (4): 117-121. (In Russ.)
36. Xie B, Chou CP, Spruijt-Metz D, Liu C, Xia J, Gong J, et al. Effects of perceived peer isolation and social support availability on the relationship between body mass index and depressive symptoms. *Int J Obes (Lond)*. 2005; 29(9): 1137-1143. doi: 10.1038/sj.ijo.0803006

Сведения об авторах

Романица Анастасия Игоревна – аспирант, лаборант-исследователь лаборатории педиатрии и кардиоваскулярной патологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: ranzytel93@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5294-6808>

Поляков Владимир Матвеевич – доктор биологических наук, руководитель лаборатории психонейросоматической патологии детского возраста, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: vmpolyakov@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2335-8948>

Погодина Анна Валерьевна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории педиатрии и кардиоваскулярной патологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: pogodina_av@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8533-3119>

Мясищев Николай Анатольевич – лаборант-исследователь лаборатории психонейросоматической патологии детского возраста, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: roulih@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8451-9341>

Климкина Юлия Николаевна – младший научный сотрудник лаборатории педиатрии и кардиоваскулярной патологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: yuliana_29@mail.ru

Рычкова Любовь Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2910-0737>

Information about the authors

Anastasia I. Romanitsa – Postgraduate, Clinical Research Assistant at the Laboratory of Pediatrics and Cardiovascular Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: ranzytel93@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5294-6808>

Vladimir M. Polyakov – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Neuropsychosomatic Pediatric Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: vmpolyakov@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2335-8948>

Anna V. Pogodina – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Pediatrics and Cardiovascular Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: pogodina_av@inbox.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8533-3119>

Nikolay A. Myasishchev – Clinical Research Assistant at the Laboratory of Neuropsychosomatic Pediatric Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: roulih@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8451-9341>

Yulianna N. Klimkina – Junior Research Officer at the Laboratory of Pediatrics and Cardiovascular Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: yuliana_29@mail.ru

Lyubov V. Rychkova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Director, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2910-0737>

Вклад авторов

Романица А.И. – получение данных для анализа; анализ полученных данных; обсуждение результатов; написание текста рукописи; обзор публикаций по теме статьи.

Поляков В.М. – анализ полученных данных психологических особенностей детей; обсуждение результатов; редактирование текста рукописи.

Погодина А.В. – разработка дизайна исследования; анализ полученных данных; обзор публикаций по теме статьи; редактирование текста рукописи.

Мясищев Н.А. – анализ полученных данных психологических особенностей детей; написание части текста рукописи; обзор публикаций по теме статьи.

Климкина Ю.Н. – получение данных для анализа.

Рычкова Л.В. – обсуждение результатов; редактирование текста рукописи.

Статья получена: 10.06.2020. Статья принята: 03.12.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 10.06.2020. Accepted: 03.12.2020. Published: 26.12.2020.

ПСИХОЛОГИЯ И ПСИХИАТРИЯ PSYCHOLOGY AND PSYCHIATRY

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.22

Развитие стратегий совладающего поведения: основные подходы

Кузьмин М.Ю.^{1,2}, Сутурина Л.В.¹¹ ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия);² ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет» (664025, г. Иркутск, ул. Чкалова, 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Кузьмин Михаил Юрьевич, e-mail: mirroy@mail.ru

Резюме

Целью статьи является анализ проблемы развития стратегий совладающего поведения. Дается анализ природы стратегий совладающего поведения. Рассматриваются два подхода к развитию стратегий совладающего поведения, критерием выбора которых стало наличие сертифицированной программы: концепция осознанности, предложенная Дж. Кабат-Зинном, и концепция жизнестойкости, предложенная С. Мадди. Показано, что содержание категории осознанности – управление вниманием и принятие позиции «здесь и сейчас», – а также методы её развития, изложенные в программах, оказываются сходными в концепциях каждого из указанных авторов. У Дж. Кабат-Зинна осознанность предполагает ощущение полной включенности в происходящие события «здесь и сейчас», а также обязательство с любопытством относиться к потоку сознания: все мысли и чувства, возникающие у личности, должны восприниматься ею без критики, как релевантные текущему состоянию и потому не требующие осуждения. Одновременно у С. Мадди жизнестойкость представляет собой совокупность включенности в окружающую действительность (commitment), контроля (control), обозначающего убежденность личности в собственных возможностях влиять на стрессовую ситуацию, хотя и без определенных гарантий результата, и принятие риска (challenge) – уверенность в том, что любые изменения принципиально позитивны для личности и способствуют её развитию.

Таким образом, осознанность представляет собой совокупность навыка концентрации внимания и определенной установки. Делается вывод, что осознанность, составляющая ядро продуктивных стратегий совладающего поведения, представляет собой совокупность навыка концентрации внимания и определенной установки. Полученные результаты могут быть использованы при разработке программы развития стратегий совладающего поведения как одного из факторов коррекции психоэмоциональных нарушений у женщин на фоне гиперандрогении.

Ключевые слова: стратегии совладающего поведения, гиперандрогения, осознанность, жизнестойкость

Для цитирования: Кузьмин М.Ю., Сутурина Л.В. Развитие стратегий совладающего поведения: основные подходы. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 188-193. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.22.

The Development of Coping Strategies: Main Approaches

Kuzmin M.Yu.^{1,2}, Suturina L.V.¹¹ Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation);² Irkutsk State University (Chkalova str. 2, Irkutsk 664025, Russian Federation)

Corresponding author: Mikhail Yu. Kuzmin, e-mail: mirroy@mail.ru

Abstract

The article analyzes the problem of development of coping strategies as one of the factors of correction of psycho-emotional disorders in women with hyperandrogenia. The nature of coping strategies is analyzed. Two approaches to the development of coping strategies – the concept of mindfulness, proposed by John Kabat-Zinn, and the concept of hardiness, proposed by S. Maddi. In conception of Kabat-Zinn mindfulness involves a feeling of full involvement in the events "here and now", as well as the obligation to be curious about the flow of consciousness: all thoughts and feelings that arise in the person should be perceived by it without criticism, as relevant to the current state and therefore do not require condemnation. At the same time, by S. Muddy hardiness is a combination of inclusion in the surrounding reality (commitment), control, denoting the belief of the individual in their own abilities to influence the stressful situation, although without certain guarantees of the result, and the challenge, representing the belief that any changes are fundamentally positive for the individual and contribute to its development.

It is shown that the content of the category of mindfulness – the management of attention and the adoption of the position "here and now" – as well as the methods of its development, are similar in each of the concepts. It is concluded that mindfulness, which is the core of productive coping strategies, is a set of concentration skills and a certain attitude.

Key words: coping strategies, hyperandrogenia, mindfulness, hardiness

For citation: Kuzmin M.Yu., Suturina L.V. The Development of Coping Strategies: Main Approaches. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 188-193. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.22.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема раннего выявления психоэмоциональных нарушений различного генеза и их последующей коррекции чрезвычайно актуальна как для современной психологии, так и для медицинских наук. Отдельным аспектом данной проблемы являются психоэмоциональные нарушения у женщин на фоне гиперандрогении. В ряде исследований [1, 2] отмечается связь между гиперандрогенией и высоким уровнем психоэмоциональных нарушений. В других работах [3, 4] данная связь не обнаруживается или ставится в зависимость от выраженности стратегий совладающего поведения: чем более адаптивными стратегиями обладает женщина, тем ниже у неё выраженность психоэмоциональных нарушений на фоне гиперандрогении.

В нашем собственном исследовании [5] мы обнаружили, что у женщин с гиперандрогенией и с высоким уровнем выраженности продуктивных стратегий совладающего поведения проявления психоэмоциональных нарушений значительно ниже, чем у женщин с гиперандрогенией и низким уровнем выраженности продуктивных стратегий. Таким образом, выраженность продуктивных стратегий совладающего поведения может рассматриваться как маркер раннего обнаружения психоэмоциональных нарушений у женщин с гиперандрогенией: чем ниже их выраженность, тем выше риск развития таких нарушений.

Для предотвращения развития психоэмоциональных нарушений у женщин с гиперандрогенией представляется рациональным развивать у них продуктивные стратегии совладающего поведения. С учётом того, что вопрос содержания таких стратегий остаётся дискуссионным (по одним данным, продуктивной для таких женщин будет стратегия поиска новой информации [2], по другим – основным ресурсом совладания оказывается жизнестойкость [5]), мы решили проанализировать основные подходы к проблеме развития стратегий совладающего поведения, предлагаемые в современных работах. Таким образом, целью нашей статьи стал анализ проблемы развития стратегий совладающего поведения.

ВЫБОР ПОДХОДОВ

При анализе проблемы совладающего поведения обращает на себя внимание то, что эта категория определяется преимущественно функционально – как поведение, позволяющее решать личные и межличностные проблемы [6], минимизировать последствия стресса и конфликта [7] и т. д. Совладающее поведение не определяется, таким образом, только как внешне проявляемая активность или, наоборот, как исключительно когнитивная стратегия. Отсюда и широта трактовки копинг-стратегий, выражаемая в различных классификациях, объединяющих столь несхожие механизмы совладания. Например, W. Weiten и M.A. Lloyd разделили копинги на оценочно-ориентированные (связанные с когнициями), проблемно-ориентированные (связанные с поведением), эмоционально-ориентированные (связанные с эмоциями) и профессиональные (связанные с конкретными навыками) [6]. S. Folkman выделила стратегии, направленные на решение проблемы и стратегии, направленные на изменение отношения к ситуации [8], E. Neim – продуктивные, относительно продуктивные и непродуктивные стратегии [9].

Вместе с тем столь широкая трактовка совладающего поведения, по нашему мнению, затрудняет поиск механизма развития копинг-стратегий. Либо необходимо найти общее основание, объединяющее столь несхожие друг с другом копинги, либо подбирать свой механизм развития для каждого из них.

На наш взгляд, с учётом сложившихся классификаций оптимально рассматривать копинг-стратегии как специализированные аттитуды. По определению, аттитюд – это предрасположенность (склонность) субъекта к совершению определённого социального поведения; это особый тип убеждения, представляющий собой сложившуюся оценку некоего объекта [10].

Рассмотрение стратегий совладающего поведения как аттитудов, имеющих трёхчленную структуру (когнитивный, аффективный и поведенческий компоненты) позволяет объяснить, с одной стороны, разнообразие таких стратегий (связанное с превалированием того или иного компонента), а с другой стороны, их общность. Наконец, оно открывает возможность подойти к проблеме их формирования с точки зрения двух концепций, направленных на трансформирование аттитудов и, таким образом, позволяющих развивать стратегии совладающего поведения.

Для анализа были выбраны концепция «Снижение стресса на основе осознанности» (Mindfulness-Based Stress Reduction, MBSR) Дж. Кабат-Зинна [11] и концепция жизнестойкости С. Мадди [23]. Выбор данных концепций был обусловлен тем, что каждая из них, помимо теоретического обоснования, имеет практическую апробированную программу развития копинг-стратегий, что позволяет, на наш взгляд, сравнить не только концепции данных подходов, но и практические упражнения, которые предлагаются для развития копингов в каждом из них. На основании анализа последних можно прийти к выводу о сходстве и различии лежащих в основе каждой из концепций понятий.

АНАЛИЗ ПОДХОДА MBSR (СНИЖЕНИЕ СТРЕССА НА ОСНОВЕ ОСОЗНАННОСТИ)

Концепция снижения стресса на основе осознанности (Mindfulness-Based Stress Reduction, MBSR) была разработана в 1970-х гг. Дж. Кабат-Зинном. «Осознанность» в рамках данной концепции представляет собой безоценочное, отстранённое, непредвзятое, ежемоментное осознание процессов, протекающих в психике. Осознаются и наблюдаются физические ощущения, процессы восприятия, эмоциональные ответы, мысли, работа воображения и т. д. Все эти феномены осознаются без размышления о них, без сравнений, без оценок. По сути осознанность – это форма естественного наблюдения за событиями внутреннего мира, которые обычно протекают бессознательно. Данная программа включает в себя комбинацию внимательности, медитации, осознание тела, йоги и исследование моделей поведения, мышления, чувств и действий [11].

Концепция осознанности и созданная на её основе программа показали свою эффективность при коррекции психоэмоциональных нарушений, возникающих при различных заболеваниях. S.R. Bishop et al. [12] указывали на эффективность MBSR в коррекции рецидивирующей депрессии [13], тревожных расстройств [14], посттравматических стрессовых расстройств (ПТСР) [15], расстройств пищевого поведения [16, 17].

Мета-анализ, проведённый G. Cifu et al. [18] и направленный на изучение эффективности программы Mindfulness-Based Interventions для сохранности когнитивных функций женщин, переживших рак молочной железы, показал, что, хотя нет однозначных данных об эффективности данной интервенции при поддержании когнитивных функций (память, внимание и т. д.), MBSR эффективна для предотвращения депрессии, тревоги и т. п. S.F. Nery et al. [19] на выборке бесплодных женщин обнаружили, что программа MBSR значительно снижает число симптомов хронического стресса и симптомов депрессии. R.E. Recabarren et al. [20] показали эффективность программ, основанных на осознанности, при профилактике стресса у студентов университета. J.X. Zhang et al. [21] выявили, что программа развития осознанности на основе MBSR, проводимая в течение 8 недель, резко снижает уровень пренатального стресса, беспокойства и тревоги у беременных женщин.

Развитие осознанности не является универсальным лечебным средством. Те же S.F. Nery et al. [19] обнаружили, что у испытуемых, практикующих осознанность, уровень кортизола значительно не меняется. V. Tavallaei et al. [22] также показали, что программы MBSR оказывают существенное влияние на уровень дистресса, улучшение качества жизни, однако не влияют на объективные симптомы, в частности на уровень испытываемой головной боли. Получается, что такого рода программы прежде всего снижают уровень когнитивных симптомов, а не их проявлений на соматическом уровне.

Вместе с тем не совсем изучен эффект воздействия осознанности, равно как и её содержание. S.R. Bishop et al. [12] в статье "Mindfulness: A Proposed Operational Definition" предприняли попытку раскрыть содержание данного явления. В самом начале авторы сравнивают различные подходы к осознанности – принятые как в буддистских духовных практиках, так и в психологии. В последнем случае речь идёт о повышении уровня самопонимания и контроля психических процессов, снижающих уровень негативных эмоций и неадаптивное поведение. Стремясь раскрыть содержание осознанности, S.R. Bishop et al. предположили, что она имеет два компонента. Первый из них предполагает управление вниманием таким образом, чтобы обращать внимание на все происходящие в сознании изменения. Второй компонент предполагает принятие определённой позиции по отношению к своим переживаниям «здесь и сейчас», которые характеризуются любознательностью, открытостью новому опыту и принятием происходящих событий.

Если описывать каждый из данных компонентов в наблюдаемых категориях, то первый компонент предполагает ощущение полной включённости в происходящие события «здесь и сейчас». Это возможно за счёт концентрации на дыхании или концентрации внимания на любых других внешних объектах. В таком случае уровень концентрации и переключения внимания может быть измерен стандартными психодиагностическими методами.

Авторы подчёркивают важность концентрации внимания именно на внешнем опыте или на дыхании. В таком случае человек не вовлекается в переживание своего когнитивного и чувственного опыта, отнесённого к прошлому или к будущему; возможно эффективное когнитивное торможение и отбор стимулов.

Второй компонент осознанности заключается в принятии на себя обязательства с любопытством относиться

к потоку сознания – к тому, «где блуждает ум», как поэтически отмечают авторы. Все мысли и чувства, возникающие у личности, должны восприниматься ею без критики, как релевантные текущему состоянию и потому не требующие осуждения. Человек «разрешает» себе переживать и чувствовать то, что он переживает и чувствует в настоящий момент.

Таким образом, осознанность представляет собой совокупность навыка концентрации внимания и определённой установки.

АНАЛИЗ КОНЦЕПЦИИ ЖИЗНЕСТОЙКОСТИ

Вторым подходом к развитию стратегий совладающего поведения является концепция жизнестойкости С. Мадди. Проводимое им исследование особенностей совладания со стрессом у сотрудников корпоративного сектора позволило обнаружить различия в избираемых ими стратегиях. Изучив личностные особенности как работников, продемонстрировавших подверженность стрессорам, так и тех, кто успешно с ними справлялся, С. Мадди выделил ряд аттитудов, отличавших их друг от друга [23]. Первый аттитюд – включённости (commitment) – определяется им как «убеждённость в том, что включённость в происходящее даёт максимальный шанс найти нечто стоящее и интересное для личности». Второй аттитюд – контроля (control) – отличает личность, убеждённую в собственных возможностях влиять на стрессовую ситуацию, хотя и без определённой гарантии. Наконец, третий аттитюд – принятия риска или вызова (challenge) – определяется С. Мадди как уверенность в том, что любые изменения принципиально позитивны для личности и способствуют её развитию [22].

Данные связанные друг с другом аттитуды были обобщены в понятие «hardiness», или жизнестойкость. По мнению С. Мадди, именно в качестве жизнестойкости отражена мотивация личности к противостоянию стрессорам различной этиологии [23]. Положенные в основу концепции жизнестойкости С. Мадди идеи оказываются хорошо обоснованы эмпирически [24, 25, 26].

Анализ программы, предлагаемой для развития жизнестойкости [27], показывает следующее. Под влиянием проведённых в компании «Illinois Bell Telephone» (IBT) исследований и попыток формализовать процедуру развития жизнестойкости [28] была разработана программа развития жизнестойкости, включающая книгу «HardiTraining» и интернет-программу [29]. Данная программа фокусируется на развитии следующих областей: 1) понимание проблемы и принятие мер для её решения; 2) поиск социальной поддержки для уменьшения конфликта; 3) релаксация за счёт дыхательных техник, медитаций и методов мышечного расслабления; 4) правильное питание; 5) физическая активность/спорт.

Занятия в рамках данной программы включают теоретический блок, посвящённый понятию жизнестойкости, примеры, упражнения и периодические контрольные срезы. Упражнения представляют собой ситуационные реконструкции (кейсы), связанные с теми или иными стрессовыми ситуациями. После представления ситуации участники предлагают, как она может быть лучше решена, а затем разрабатывают план такого решения с учётом описанных выше областей. Если участник не может найти решения проблем, он анализирует, какие подавленные эмоции мешают ему использовать воображение при по-

мощи процедуры, называемой фокусировкой. Если это помогает, то продолжается разработка плана действия, если нет, то проблемная ситуация признается неизменяемой в принципе, и акцент обучения участника смещается к её принятию. Кроме того, участники обучаются взаимодействию со значимыми другими. В рамках программы предлагаются упражнения для определения конфликтов с ними, а также способы их преодоления через совершенствование методов общения и слушания [27].

СОПОСТАВЛЕНИЕ КОНЦЕПЦИЙ MBSR И ЖИЗНЕСТОЙКОСТИ

В целом сравнение понятий «осознанность», лежащее в основе концепции Mindfulness-Based Stress Reduction, и «жизнестойкость» одноименной концепции, а также подходов к их развитию позволяют сделать следующий вывод. Модель жизнестойкости и модель осознанности с разных сторон описывают один и тот же психический феномен, препятствующий развитию стресса и снижающий риск появления психосоматических расстройств. Так, установки, входящие в жизнестойкость, релевантны одному из компонентов осознанности в модели S.R. Bishop et al. [12]. В самом деле, любознательность и открытость новому опыту соответствуют установке вовлечённости в модели С. Мадди, а принятие происходящих событий – установку вызова или принятия риска (challenge).

Сходным оказываются и практики, используемые для развития осознанности и жизнестойкости. И в том, и в другом случаях используются техники медитации и концентрации. Одинаковыми могут оказываться и отдельные упражнения. Например, сходной с идеей сканирования своего тела, предложенной Дж. Кабат-Зинном, является техника фокусировки, предлагаемая С. Мадди.

Отметим и имеющиеся различия. Сопоставляя практику осознанности с другими подходами, S.R. Bishop et al. отмечают некоторые расхождения с традиционно используемыми в когнитивных и поведенческих моделях практиками избегания определённого опыта либо совладания с ним при помощи тех или иных стратегий. Практика осознанности, по мнению данной группы исследователей, заключается прежде всего в принятии происходящего, в то время как другие стратегии совладающего поведения допускают иные возможности для решения проблемной ситуации. В самом деле, программа развития жизнестойкости предполагает прежде всего навык решения проблемы, и лишь в случае невозможности такого решения – принятия проблемы [28]. Однако, на наш взгляд, речь идёт просто о соотношении различных компонентов, составляющих копинг-стратегию как установку. Осознанность связана прежде всего с когнитивной и отчасти аффективной её составляющими, в то время как у других стратегий может превалировать поведенческий компонент.

ВЫВОДЫ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, концепция осознанности, как и концепция жизнестойкости, открывают возможности для развития стратегий совладающего поведения. При этом программа «снижение стресса на основе осознанности» (Mindfulness-Based Stress Reduction) предлагает наиболее определённые техники для формирования соответствующих стратегий, которые, на наш взгляд, могут быть непосредственно использованы для их развития у женщин с гиперандрогенией, переживающих психосоматические нарушения различного генеза.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Özenli Y, Haydardedeoğlu B, Micozkadioğlu İ, Şimşek E, Kiliçdağ E, Bağış T. Anxiety, depression and ways of coping skills by women with polycystic ovary syndrome: a controlled study. *J Turk Ger Gynecol Assoc.* 2008; 9(4): 190-194.
2. Hadjiconstantinou M, Mani H, Patel N, Levy M, Davies M, Khunti K, et al. Understanding and supporting women with polycystic ovary syndrome: a qualitative study in an ethnically diverse UK sample. *Endocr Connect.* 2017; 6(5): 323-330. doi: 10.1530/EC-17-0053
3. Carron R, Kooienga S, Boyle DK, Alvero R. Coping in women with polycystic ovary syndrome: implications for practitioners. *J Nurse Pract.* 2017; 13(10): 700-707. doi: 10.1016/j.nurpra.2017.08.004
4. Benson S, Hahn S, Tan S, Janssen OE, Schedlowski M, Elsenbruch S. Maladaptive coping with illness in women with polycystic ovary syndrome. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs.* 2010; 39(1): 37-45. doi: 10.1111/j.1552-6909.2009.01086.x
5. Кузьмин М.Ю., Игумнов И.А., Сутурина Л.В. Проблемы совладающего поведения у женщин с синдромом поликистозных яичников. Современные исследования социальных проблем (электронный научный журнал). 2017; 8(11-1): 60-75. doi: 10.12731/2218-7405-2017-11-60-75
6. Weiten W, Lloyd M, Dunn D, Hammer E. *Psychology applied to modern life: Adjustment in the 21st century*; 9th ed. Cengage Learning; 2008.
7. Snyder CR. (ed.). *Coping: the psychology of what works*. New York: Oxford University Press; 1999.
8. Folkman S, Moskowitz JT. Coping: pitfalls and promise. *Annu Rev Psychol.* 2004; 55: 745-774. doi: 10.1146/annurev.psych.55.090902.141456
9. Heim E. Coping and psychological adaptation: is there appropriate and inappropriate coping? *Psychother Psychosom Med Psychol.* 1988; 38(1): 8-18.
10. Андреева Г.М., Богомолова Н.Н., Петровская Л.А. Зарубежная социальная психология XX столетия. М.: Аспект Пресс; 2002.
11. Дьяков Д.Г., Слонова А.И. Метод mindfulness как центральное направление «третьей волны» когнитивно-поведенческого подхода. Актуальные проблемы гуманитарных и социально-экономических наук. 2017; 11(7): 160-163.
12. Bishop SR, Lau M, Shapiro S, Carlson LE, Anderson ND, Carmody J, et al. Mindfulness: A proposed operational definition. *Clin Psychol (New York).* 2004; 11(3): 230-241. doi: 10.1093/clipsy.bph077
13. Teasdale JD, Segal ZV, Williams JM, Ridgeway VA, Soulsby JM, Lau MA. Prevention of relapse/recurrence in major depression by mindfulness-based cognitive therapy. *J Consult Clin Psychol.* 2000; 68(4): 615-623. doi: 10.1037/0022-006x.68.4.615
14. Roemer L, Orsillo SM, Salters-Pedneault K. Efficacy of an acceptance-based behavior therapy for generalized anxiety disorder: evaluation in a randomized controlled trial. *J Consult Clin Psychol.* 2008; 76(6): 1083-1089. doi: 10.1037/a0012720
15. Wolfsdorf BA, Zlotnick C. Affect management in group therapy for women with posttraumatic stress disorder and histories of childhood sexual abuse. *J Clin Psychol.* 2001; 57(2): 169-181. doi: 10.1002/1097-4679(200102)57:2<169::AID-JCLP4>3.0.CO;2-0
16. Kristeller JL, Hallett CB. An exploratory study of a meditation-based intervention for binge eating disorder. *J Health Psychol.* 1999; 4(3): 357-363. doi: 10.1177/135910539900400305
17. Telch CF, Agras WS, Linehan MM. Dialectical behavior therapy for binge eating disorder. *J Consult Clin Psychol.* 2001; 69(6): 1061-1065. doi: 10.1037/0022-006x.69.6.1061
18. Cifu G, Power MC, Shomstein S, Arem H. Mindfulness-based interventions and cognitive function among breast cancer survivors: a systematic review. *BMC Cancer.* 2018; 18(1): 1163. doi: 10.1186/s12885-018-5065-3
19. Nery SF, Paiva SPC, Vieira EL, Barbosa AB, Sant'Anna EM, Casalechi M, et al. Mindfulness-based program for stress reduction

in infertile women: Randomized controlled trial. *Stress Health*. 2019; 35(1): 49-58. doi: 10.1002/smi.2839

20. Recabarren RE, Gaillard C, Guilloid M, Martin-Soelch C. Short-term effects of a multidimensional stress prevention program on quality of life, well-being and psychological resources. A randomized controlled trial. *Front Psychiatry*. 2019; 10: 88. doi: 10.3389/fpsy.2019.00088

21. Zhang JX, Liu XH, Xie XH, Zhao D, Shan MS, Zhang XL, et al. Mindfulness-based stress reduction for chronic insomnia in adults older than 75 years: a randomized, controlled, single-blind clinical trial. *Explore (NY)*. 2015; 11(3): 180-185. doi: 10.1016/j.explore.2015.02.005

22. Tavallaei V, Rezapour-Mirsaleh Y, Rezaei-maram P, Saadat SH. Mindfulness for female outpatients with chronic primary headaches: an internet-based bibliotherapy. *Eur J Transl Myol*. 2018; 28(2): 7380. doi: 10.4081/ejtm.2018.7380

23. Khoshaba DM, Maddi SR. Early experiences in hardiness development. *Consul Psychol J Pract Res*. 1999; 51(2): 106-116. doi: 10.1037/1061-4087.51.2.106

24. Sheppard JA, Kashani JH. The relationship of hardiness, gender, and stress to health outcomes in adolescents. *J Pers*. 1991; 59(4): 747-768. doi: 10.1111/j.1467-6494.1991.tb00930.x

25. Maddi SR, Wadhwa P, Haier RJ. Relationship of hardiness to alcohol and drug use in adolescents. *Am J Drug Alcohol Abuse*. 1996; 22(2): 247-257. doi: 10.3109/00952999609001657

26. Williams PG, Wiebe DJ, Smith TW. Coping processes as mediators of the relationship between hardiness and health. *J Behav Med*. 1992; 15(3): 237-255. doi: 10.1007/BF00845354

27. Maddi SR, Harvey RH, Khoshaba DM, Fazel M, Resurrection N. Hardiness training facilitates performance in college. *J Posit Psychol*. 2009; 4(6): 566-577. doi: 10.1080/1743976090315713

28. Maddi SR. Hardiness training at Illinois Bell Telephone. In: Opatz JP. (ed.). *Health promotion evaluation*. Stephens Point, WI: National Wellness Institute; 1987: 101-115.

29. Khoshaba DM. *HardiTraining: a comprehensive approach to mastering stressful circumstances*. Irvine, CA: Hardiness Institute; 2001.

REFERENCES

1. Özenli Y, Haydardedeoğlu B, Micozkadioğlu İ, Şimşek E, Kiliçdağ E, Bağış T. Anxiety, depression and ways of coping skills by women with polycystic ovary syndrome: a controlled study. *J Turk Ger Gynecol Assoc*. 2008; 9(4): 190-194.

2. Hadjiconstantinou M, Mani H, Patel N, Levy M, Davies M, Khunti K, et al. Understanding and supporting women with polycystic ovary syndrome: a qualitative study in an ethnically diverse UK sample. *Endocr Connect*. 2017; 6(5): 323-330. doi: 10.1530/EC-17-0053

3. Carron R, Kooienga S, Boyle DK, Alvero R. Coping in women with polycystic ovary syndrome: implications for practitioners. *J Nurse Pract*. 2017; 13(10): 700-707. doi: 10.1016/j.nurpra.2017.08.004

4. Benson S, Hahn S, Tan S, Janssen OE, Schedlowski M, Elsenbruch S. Maladaptive coping with illness in women with polycystic ovary syndrome. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs*. 2010; 39(1): 37-45. doi: 10.1111/j.1552-6909.2009.01086.x

5. Kuzmin MYu, Igumnov IA, Suturina LV. Problems of coping behavior in women with polycystic ovary syndrome. *Sovremennye issledovaniya socialnykh problem*. 2017; 8(11-1): 60-75. doi: 10.12731/2218-7405-2017-11-60-75. (In Russ.)

6. Weiten W, Lloyd M, Dunn D, Hammer E. *Psychology applied to modern life: Adjustment in the 21st century*; 9th ed. Cengage Learning; 2008.

7. Snyder CR. (ed.). *Coping: the psychology of what works*. New York: Oxford University Press; 1999.

8. Folkman S, Moskowitz JT. Coping: pitfalls and promise. *Annu Rev Psychol*. 2004; 55: 745-774. doi: 10.1146/annurev.psych.55.090902.141456

9. Heim E. Coping and psychological adaptation: is there appropriate and inappropriate coping? *Psychother Psychosom Med Psychol*. 1988; 38(1): 8-18.

10. Andreeva GM, Bogomolova NN, Petrovskaya LA. *Foreign social psychology of the XX century*. Moscow: Aspekt Press. 2002. (In Russ.)

11. Dyakov DG, Slonova AI. Mindfulness as a central direction of the "third wave" of cognitive behavioral approach. *Aktualnye problemy gumanitarnykh i sotsialno-ekonomicheskikh nauk*. 2017; 11(7): 160-163. (In Russ.)

12. Bishop SR, Lau M, Shapiro S, Carlson LE, Anderson ND, Carmody J, et al. Mindfulness: A proposed operational definition. *Clin Psychol (New York)*. 2004; 11(3): 230-241. doi: 10.1093/clipsy.bph077

13. Teasdale JD, Segal ZV, Williams JM, Ridgeway VA, Soulsby JM, Lau MA. Prevention of relapse/recurrence in major depression by mindfulness-based cognitive therapy. *J Consult Clin Psychol*. 2000; 68(4): 615-623. doi: 10.1037/0022-006x.68.4.615

14. Roemer L, Orsillo SM, Salters-Pedneault K. Efficacy of an acceptance-based behavior therapy for generalized anxiety disorder: evaluation in a randomized controlled trial. *J Consult Clin Psychol*. 2008; 76(6): 1083-1089. doi: 10.1037/a0012720

15. Wolfsdorf BA, Zlotnick C. Affect management in group therapy for women with posttraumatic stress disorder and histories of childhood sexual abuse. *J Clin Psychol*. 2001; 57(2): 169-181. doi: 10.1002/1097-4679(200102)57:2<169::AID-JCLP4>3.0.CO;2-0

16. Kristeller JL, Hallett CB. An exploratory study of a meditation-based intervention for binge eating disorder. *J Health Psychol*. 1999; 4(3): 357-363. doi: 10.1177/135910539900400305

17. Telch CF, Agras WS, Linehan MM. Dialectical behavior therapy for binge eating disorder. *J Consult Clin Psychol*. 2001; 69(6): 1061-1065. doi: 10.1037/0022-006x.69.6.1061

18. Cifu G, Power MC, Shomstein S, Arem H. Mindfulness-based interventions and cognitive function among breast cancer survivors: a systematic review. *BMC Cancer*. 2018; 18(1): 1163. doi: 10.1186/s12885-018-5065-3

19. Nery SF, Paiva SPC, Vieira EL, Barbosa AB, Sant'Anna EM, Casalechi M, et al. Mindfulness-based program for stress reduction in infertile women: Randomized controlled trial. *Stress Health*. 2019; 35(1): 49-58. doi: 10.1002/smi.2839

20. Recabarren RE, Gaillard C, Guilloid M, Martin-Soelch C. Short-term effects of a multidimensional stress prevention program on quality of life, well-being and psychological resources. A randomized controlled trial. *Front Psychiatry*. 2019; 10: 88. doi: 10.3389/fpsy.2019.00088

21. Zhang JX, Liu XH, Xie XH, Zhao D, Shan MS, Zhang XL, et al. Mindfulness-based stress reduction for chronic insomnia in adults older than 75 years: a randomized, controlled, single-blind clinical trial. *Explore (NY)*. 2015; 11(3): 180-185. doi: 10.1016/j.explore.2015.02.005

22. Tavallaei V, Rezapour-Mirsaleh Y, Rezaei-maram P, Saadat SH. Mindfulness for female outpatients with chronic primary headaches: an internet-based bibliotherapy. *Eur J Transl Myol*. 2018; 28(2): 7380. doi: 10.4081/ejtm.2018.7380

23. Khoshaba DM, Maddi SR. Early experiences in hardiness development. *Consul Psychol J Pract Res*. 1999; 51(2): 106-116. doi: 10.1037/1061-4087.51.2.106

24. Sheppard JA, Kashani JH. The relationship of hardiness, gender, and stress to health outcomes in adolescents. *J Pers*. 1991; 59(4): 747-768. doi: 10.1111/j.1467-6494.1991.tb00930.x

25. Maddi SR, Wadhwa P, Haier RJ. Relationship of hardiness to alcohol and drug use in adolescents. *Am J Drug Alcohol Abuse*. 1996; 22(2): 247-257. doi: 10.3109/00952999609001657

26. Williams PG, Wiebe DJ, Smith TW. Coping processes as mediators of the relationship between hardiness and health. *J Behav Med*. 1992; 15(3): 237-255. doi: 10.1007/BF00845354

27. Maddi SR, Harvey RH, Khoshaba DM, Fazel M, Resurrection N. Hardiness training facilitates performance in college. *J Posit Psychol*. 2009; 4(6): 566-577. doi: 10.1080/1743976090315713

28. Maddi SR. Hardiness training at Illinois Bell Telephone. In: Opatz JP. (ed.). *Health promotion evaluation*. Stephens Point, WI: National Wellness Institute; 1987: 101-115.

29. Khoshaba DM. *HardiTraining: a comprehensive approach to mastering stressful circumstances*. Irvine, CA: Hardiness Institute; 2001.

Сведения об авторах

Кузьмин Михаил Юрьевич – кандидат психологических наук, и. о. научного сотрудника лаборатории психонейросоматической патологии детского возраста, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; доцент кафедры общей психологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», e-mail: mirroy@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7538-8375>

Сутурина Лариса Викторовна – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела охраны репродуктивного здоровья, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: lsuturina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6271-7803>

Information about the authors

Mikhail Yu. Kuzmin – Cand. Sc. (Psych.), Acting Research Officer at the Laboratory of Psychoneurosomatic Pediatric Pathology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; Associate Professor at the Department of General Psychology, State University, e-mail: mirroy@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7538-8375>

Larisa V. Suturina – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Reproductive Health Protection, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: lsuturina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6271-7803>

Статья получена: 29.06.2019. Статья принята: 09.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 29.06.2019. Accepted: 09.11.2020. Published: 26.12.2020.

ТРАВМАТОЛОГИЯ TRAUMATOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.23

Артроскопически-ассоциированная транспозиция широчайшей мышцы спины при лечении пациентов с массивными разрывами вращательной манжеты плеча (клинический случай)

Пономаренко Н.С., Монастырёв В.В., Ку克林 И.А., Меньшова Д.В.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Пономаренко Николай Сергеевич, e-mail: Ponomarenko-ns@mail.ru

Резюме

Массивные разрывы вращательной манжеты плеча представляют сложную проблему для хирургов. По данным различных авторов, от 10 до 40 % разрывов являются массивными и чаще поражают пациентов старше 60 лет при травмах низкой интенсивности. Единого мнения в отношении классификаций повреждений вращательной манжеты плеча в настоящее время нет. Золотым стандартом при диагностике и выборе тактики хирургического лечения является использование МРТ. Лечение пациентов с выраженной жировой дистрофией, мышечной атрофией и ретракцией повреждённого сухожилия представляет определённые сложности. Выполнить реинсерцию повреждённого сухожилия вращательной манжеты таким пациентам не представляется возможным. Существует много различных способов оперативного и консервативного лечения. По нашему мнению, методом выбора для молодых и активных пациентов является транспозиция широчайшей мышцы спины. С развитием новых технологий транспозицию широчайшей мышцы спины стали выполнять артроскопически. В данной статье представлен клинический случай: женщина с застарелым тотальным разрывом сухожилия надостной мышцы 3-й степени по Patte и жировой дистрофией 3-й степени по Thomazeau. Также у пациентки был диагностирован вторичный верхний подвывих головки плечевой кости. Пациентке проведено хирургическое лечение: артроскопически-ассоциированная транспозиция широчайшей мышцы спины на большой бугорок плечевой кости. Наблюдалась положительная динамика, улучшение функционального результата наступило уже в раннем послеоперационном периоде. Учитывая вышесказанное, методикой выбора при лечении пациентов с массивными разрывами сухожилий вращательной манжеты плеча можно считать транспозицию широчайшей мышцы спины, выполненную артроскопически-ассоциированным способом.

Ключевые слова: разрыв, вращательная манжета плеча, хирургическое лечение

Для цитирования: Пономаренко Н.С., Монастырев В.В., Ку克林 И.А., Меньшова Д.В. Артроскопически-ассоциированная транспозиция широчайшей мышцы спины при лечении пациентов с массивными разрывами вращательной манжеты плеча (клинический случай). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 194-198. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.23.

Arthroscopically Assisted Transposition of the Latissimus Dorsi in the Treatment of Patients with Massive Ruptures of the Rotator Cuff (Clinical Observation)

Ponomarenko N.S., Monastirev V.V., Kuklin I.A., Menshova D.V.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Nikolay S. Ponomarenko, e-mail: Ponomarenko-ns@mail.ru

Abstract

Massive rotator cuff tears present a challenging problem for surgeons. According to various authors, from 10 to 40 % of ruptures are massive and more often affect patients over 60 years of age with low-intensity injuries. There is currently no consensus on the classification of rotator cuff injuries. The use of MRI is the gold standard in diagnostics and surgical tactics. Treatment of patients with severe fatty degeneration, muscular atrophy and retraction of the damaged tendon presents certain difficulties. Reinsertion of the damaged rotator cuff tendon is not possible in such patients. There are many different methods of surgical and conservative treatment. In our opinion, transposition of the latissimus dorsi is the method of choice for young and active patients. With the development of new technologies, transposition of the latissimus dorsi muscle began to be performed arthroscopically. This article presents a clinical case: a woman with chronic total rupture of the supraspinatus tendon, Patte grade 3 and fatty degeneration of grade 3 by Thomazeau. The patient was also diagnosed with a secondary superior subluxation of the humeral head. The patient underwent surgical treatment: arthroscopic-associated transposition of the latissimus dorsi muscle to the greater tubercle of the humerus. There was a positive trend, an improvement in the functional result occurred already in the early postoperative period. Considering the above, the method of choice in the treatment of patients with massive ruptures of the rotator cuff tendons can be considered as transposition of the latissimus dorsi muscle, performed by the arthroscopic-associated method.

Key words: rupture, rotator cuff, surgical treatment

For citation: Ponomarenko N.S., Monastirev V.V., Kuklin I.A., Menshova D.V. Arthroscopically Assisted Transposition of the Latissimus Dorsi in the Treatment of Patients with Massive Ruptures of the Rotator Cuff (Clinical Observation). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 194-198. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.23.

Массивные разрывы вращательной манжеты представляют сложную проблему для хирургов. Данная патология является причиной боли и нарушения функции верхней конечности, что сильно снижает качество жизни пациентов. По данным разных авторов, частота встречаемости массивных повреждений вращательной манжеты составляет 10–40 % [1]. Дегенеративные изменения сухожилий вращательной манжеты плеча чаще регистрируются у пациентов старшей возрастной группы и приводят к полнотелым разрывам в результате травм низкой интенсивности [2].

Единого мнения в отношении классификации повреждений вращательной манжеты плеча в настоящее время не существует. Ряд авторов считают, что разрывы двух и более сухожилий вращательной манжеты относятся к массивным. По мнению R.H. Cofield, разрывы от 3 до 5 см относятся к большим, а более 5 см – к массивным. Для таких разрывов, длительно не диагностированных, характерна ретракция повреждённого сухожилия. D. Patte выделил три стадии ретракции сухожилия: I стадия – культя сухожилия расположена около места прикрепления; II стадия – культя сухожилия расположена на уровне головки плеча; III стадия – культя сухожилия расположена на уровне гленоида. Наряду с ретракцией происходит жировая дегенерация повреждённого сухожилия, что приводит к невозможности реинсерции сухожилия на бугорок плечевой кости. С появлением МРТ-диагностики стало возможным осуществление предоперационной и послеоперационной оценки повреждений вращательной манжеты. МРТ позволяет выявить размер, локализацию разрывов, а также оценить степень жировой дистрофии и мышечной атрофии [3]. В 1996 году A. Thomazeau классифицировал жировую дистрофию по данным картины МРТ, выделив три стадии: 1-я стадия – норма или незначительная атрофия (объём мышцы 60–100 %); 2-я стадия – умеренная атрофия (объём мышцы 40–60 %); 3-я стадия – тяжёлая атрофия (объём мышцы менее 40 %).

Массивные разрывы вращательной манжеты плеча приводят к децелтрации головки плечевой кости и, как следствие, к вертикальному подвывиху, что является основой развития артропатий плечевого сустава и формирования псевдопаралича верхней конечности [4].

В литературе предложено множество вариантов лечения пациентов с массивными разрывами сухожилий ротаторной манжеты плеча. Консервативные методы, такие как инъекции глюкокортикостероидов, гиалуроновой кислоты, обогащённой тромбоцитами плазмы, приводят к снижению болевого синдрома, но не восстанавливают функцию плечевого сустава. Из числа хирургических методик применяются артроскопический дебридмент с субакромиальной декомпрессией, пластика проксимальной капсулы сустава при помощи ауто-, алло- и ксенотрансплантатов, баллонная пластика. Вышеперечисленные методики приводят к значительному снижению боли, устранению вертикального подвывиха головки плечевой кости, но не в полной мере восстанавливают функцию сустава. Реверсивное эндопротезирование применяется при выраженной жи-

ровой дистрофии и мышечной атрофии, но не подходит для молодых и активных пациентов в связи с высокими рисками послеоперационных осложнений. Методом выбора при лечении активных пациентов, по нашему мнению, является транспозиция широчайшей мышцы спины. Данная реконструктивно-пластическая операция позволяет восстановить функцию повреждённого сустава и значительно уменьшает болевой синдром. Впервые данное оперативное лечение в 1992 г. описал C. Gerber. В 2007 г. E. Gervasi выполнил артроскопически-ассоциированную транспозицию широчайшей мышцы спины [5]. Клиника ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (ИНЦХТ) имеет опыт лечения массивных разрывов вращательной манжеты плеча. Мы представляем успешный клинический случай лечения тотального разрыва сухожилия надостной мышцы III степени по Patte с жировой дистрофией 3-й степени по Thomazeau методом артроскопически-ассоциированной транспозиции широчайшей мышцы спины.

В сентябре 2020 г. в клинику ИНЦХТ поступила пациентка А. 55 лет с жалобами на боль и ограничение активных движений в правом плечевом суставе. Выраженность боли по визуально-аналоговой шкале – 90 мм.

Anamnesis morbi. Больной себя считает на протяжении 4 лет, когда появились боль и незначительное ограничение движений в правом плечевом суставе. За медицинской помощью не обращалась, лечение не получала. 1 год назад получила бытовую травму: упала с лестницы на вытянутую руку. Болевой синдром усилился, появилось значительное ограничение движений в правом плечевом суставе. Обратилась к ортопеду в поликлинику по месту жительства. Выставлен диагноз: плечелопаточный периартрит. Назначена консервативная терапия: приём нестероидных противовоспалительных препаратов, физиотерапия – без эффекта. Ограничение движений в суставе прогрессировало. Пациентка направлена на консультацию в клинику ИНЦХТ, где выставлен диагноз: Застарелое повреждение сухожилия надостной мышцы правого плеча. Комбинированная контрактура правого плечевого сустава. Болевой синдром. Было рекомендовано плановое оперативное лечение, пациентка была госпитализирована.

Status localis. На момент осмотра положение пациентки активное. Правая верхняя конечность без фиксации. Визуально область правого плечевого сустава не изменена. Кожные покровы обычной окраски, температуры, влажности. Дельтовидная область справа гипотрофирована – 1,0 см. Отмечается умеренная болезненность в проекции большого бугорка правой плечевой кости. Активные движения правого плечевого сустава ограничены, умеренно болезненные. Объём движений: сгибание 40°, отведение 40°, наружная ротация 30° (рис. 1). Симптом болезненности дуги справа положительный. Тест надостной мышцы (Jobe) положительный. На момент осмотра нейрососудистые нарушения в дистальных отделах правой верхней конечности отсутствовали. Функция по шкале UCLA составила 9 баллов.

Выполнена МРТ правого плечевого сустава. Головка плечевой кости расположена в вертикальном подвыви-

хе. В заднелатеральных и переднемедиальных отделах головки визуализируются субкортикальные кисты диаметром до 4 мм. Суставная щель сужена. Дегенеративные изменения акромиально-ключичного сустава (остеофиты по верхней поверхности и нижней части края сустава, сужение суставной щели). В сухожилии надостной мышцы определяется интерстициальный участок повышения МР-сигнала, занимающий всю толщу сухожилия. Жировая дегенерация надостной мышцы 3-й степени по Thomazeau. Остальные сухожилия вращательной манжеты не изменены. Сухожилие длинной головки двуглавой мышцы плеча без особенностей, расположено в бицеппитальной борозде. Мышцы, покрывающие плечевой сустав, без патологии. Свободные внутрисуставные тела не определяются.



Рис. 1. Пациентка А. Функция правой верхней конечности до оперативного лечения

Fig. 1. Patient A. Function of the right arm before surgical treatment

Учитывая вышеизложенное, пациентке установлен клинический диагноз: застарелый тотальный разрыв сухожилия надостной мышц справа (III степень по Patte). Вторичный верхний подвывих головки правой плечевой кости. Остеоартроз плечевого сустава, ключично-акромиального сустава II стадии справа. Комбинированная контрактура правого плечевого сустава. Регионарный остеопороз. Болевой синдром.

На основании клинической картины и лучевых методов диагностики пациентке предложено оперативное лечение: артроскопически-ассоциированная транспозиция сухожилия широчайшей мышцы спины на большой бугорок правой плечевой кости.

После предоперационной подготовки в асептических условиях, под проводниковой анестезией, в положении пациента «на вытяжении» через стандартные артроскопические порты осуществляется доступ к правому плечевому суставу. Выявлено: равномерная хондромалиция суставного отростка лопатки II степени по R.E. Outerbridge (1961). Тотальный разрыв сухожилия надостной мышцы III степени по Patte, сухожилие не адаптируется (рис. 2). При помощи шейвера костно-хрящевой дефект головки плечевой кости освежён до «красной росы».

Из отдельного линейного разреза по задне-подмышечной линии длиной 5,0 см осуществляется забор сухожилия широчайшей мышцы спины (рис. 3).

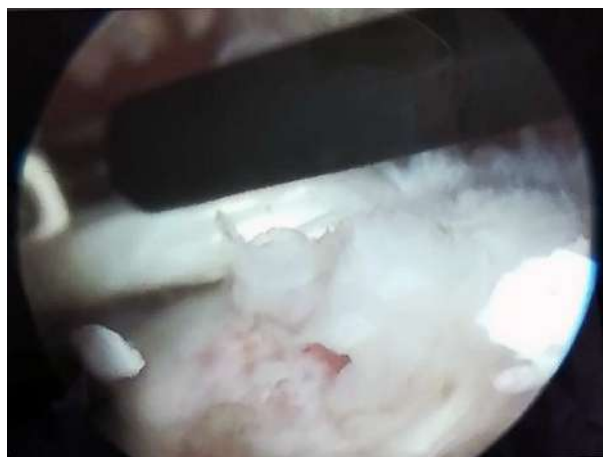


Рис. 2. Пациентка А. Дефект сухожилия надостной мышцы, артроскопический вид (III степень по Patte)

Fig. 2. Patient A. Supraspinatus tendon defect, arthroscopic approach (Patte stage III)



Рис. 3. Пациентка А. Вид сухожилия широчайшей мышцы спины

Fig. 3. Patient A. Latissimus tendon



Рис. 4. Пациентка А. Вид сухожилия широчайшей мышцы спины, адаптированного на головку плечевой кости якорным фиксатором

Fig. 4. Patient A. View of the latissimus dorsi tendon adapted to the humeral head with an anchor clamp

Сухожилие широчайшей мышцы спины отсекается от плечевой кости и прошивается нитью полиэстер 6/0. Прошитое сухожилие проводится через поддельтовидное пространство в субакромиальное пространство. При помощи сверла, в зоне дефекта головки плечевой кости формируется канал диаметром 6,5 мм, сухожилие широчайшей мышцы спины внедряется в канал головки плечевой кости и фиксируется винтом Swivelock Tenodesis 7,0 мм (рис. 4).

Плечевой сустав обильно промыт физиологическим раствором, осуществлён гемостаз по ходу операции. Выполнено послойное ушивание раны. Наложена асеп-

тическая повязка с раствором антисептика. Правая верхняя конечность иммобилизирована отводящей шиной по стандартной методике.

В послеоперационном периоде пациентка получала лечение: противовоспалительную терапию (нестероидные противовоспалительные препараты), антикоагулянтную терапию и эластичное бинтование нижних конечностей с целью профилактики венозного тромбоза и тромбоземболии. На 2-е сутки после оперативного лечения пациентка приступила к лечебно-физкультурному комплексу правого плечевого сустава на отводящей подушке. Положительную динамику, уменьшение болевого синдрома и улучшение функции стала отмечать на 7-е сутки после операции. Объём движений: сгибание 90°, отведение 90°, наружная ротация 50° (рис. 5).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Выполнение атроскопически-ассоциированной транспозиции сухожилия широчайшей мышцы спины пациентам с застарелыми тотальными разрывами сухожилия надостной мышц (III степень по Patte) позволяет восстановить функцию плечевого сустава. Улучшение функционального результата отмечается уже в раннем послеоперационном периоде. Учитывая вышесказанное, методикой выбора лечения пациентов с массивными разрывами сухожилий вращательной манжеты плеча можно считать транспозицию широчайшей мышцы спины, выполненную артроскопически-ассоциированным способом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Anastasopoulos PP, Alexiadis G, Spyridonos S, Fandridis E. Latissimus dorsi transfer in posterior irreparable rotator cuff tears. *Open Orthop J.* 2017; 11: 77-94. doi: 10.2174/1874325001711010077
2. Sambandam SN, Khanna V, Gul A, Mounasamy V. Rotator cuff tears: An evidence based approach. *World J Orthop.* 2015; 6(11): 902-918. doi: 10.5312/wjo.v6.i11.902
3. Čičak N, Klobučar H, Medančič N. Rotator cuff injury. *Medicina Fluminensis.* 2015; 51(1): 7-17.
4. Доколин С.Ю., Кузьмина В.И., Марченко И.В., Белых О.А., Найда Д.А. Артроскопический шов больших и массивных разрывов вращательной манжеты плечевого сустава: клинические результаты и данные МРТ. *Травматология и ортопедия России.* 2017; 23(3): 53-68. doi: 10.21823/2311-2905-2017-23-3-53-68
5. Juhan T, Stone M, Jalali O, et al. Irreparable rotator cuff tears: Current treatment options. *Orthop Rev (Pavia).* 2019; 11(3): 123-128. doi:10.4081/or.2019.8146

REFERENCES

1. Anastasopoulos PP, Alexiadis G, Spyridonos S, Fandridis E. Latissimus dorsi transfer in posterior irreparable rotator cuff tears. *Open Orthop J.* 2017; 11: 77-94. doi: 10.2174/1874325001711010077
2. Sambandam SN, Khanna V, Gul A, Mounasamy V. Rotator cuff tears: An evidence based approach. *World J Orthop.* 2015; 6(11): 902-918. doi: 10.5312/wjo.v6.i11.902
3. Čičak N, Klobučar H, Medančič N. Rotator cuff injury. *Medicina Fluminensis.* 2015; 51(1): 7-17.
4. Dokolin SYu, Kuzmina VI, Marchenko IV, Belykh OA, Naida DA. Arthroscopic suture of large and massive ruptures of the rotator cuff: clinical results and MRI data. *Traumatology and Orthopedics of Russia.* 2017; 23(3): 53-68. doi: 10.21823/2311-2905-2017-23-3-53-68. (In Russ.)
5. Juhan T, Stone M, Jalali O, et al. Irreparable rotator cuff tears: Current treatment options. *Orthop Rev (Pavia).* 2019; 11(3): 123-128. doi:10.4081/or.2019.8146



Рис. 5. Пациентка А. Объём движений на 7-е сутки после операции
Fig. 5. Patient A. The volume of movements on the 7th day after surgery

Сведения об авторах

Пономаренко Николай Сергеевич – кандидат медицинских наук, научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: Ponomarenko-ns@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6210-3492>

Монастырёв Василий Владимирович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: iscst@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4711-9490>

Куклин Игорь Александрович – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: iscst@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4733-9178>

Меньшова Дарья Васильева – аспирант, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: iscst@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1471-2482>

Information about the authors

Nikolay S. Ponomarenko – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: Ponomarenko-ns@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6210-3492>

Vasily V. Monastirev – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: iscst@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4711-9490>

Igor A. Kuklin – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: iscst@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4733-9178>

Darya V. Menshova – Postgraduate, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: iscst@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1471-2482>

Статья получена: 29.10.2020. Статья принята: 13.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 29.10.2020. Accepted: 13.11.2020. Published: 26.12.2020.

Использование алгоритма выбора хирургической тактики при перипротезной инфекции крупных суставов

Гришук А.Н., Леонова С.Н., Каめка А.Л.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Гришук Алексей Николаевич, e-mail: alexeygrishchuk@yandex.ru

Резюме

Обоснование. До настоящего времени отсутствует единое мнение об определении тактики хирургического лечения перипротезной инфекции.

Цель исследования. Оценить эффективность предложенного алгоритма выбора хирургической тактики у пациентов с перипротезной инфекцией тазобедренного и коленного суставов.

Материалы и методы. Проанализированы результаты лечения 67 пациентов с глубокой перипротезной инфекцией тазобедренного и коленного суставов (средний возраст $67,8 \pm 6,3$ года). У 20 пациентов тактика лечения была определена с использованием предложенного алгоритма выбора хирургической тактики при перипротезной инфекции. Предложенный алгоритм включает следующие этапы: балльная оценка трёх наиболее значимых прогностических показателей; определение степени риска сохранения инфекционного процесса в области протезированного сустава; оценка дополнительных критериев; определение хирургической тактики. У 48 пациентов при выборе хирургической тактики использовался стандартный подход.

Результаты. В группе, где использовался стандартный подход к выбору хирургической тактики, инфекционный процесс был купирован у 61,7 % пациентов. У пациентов, которым выбор тактики лечения проводили согласно алгоритму, удалось купировать перипротезную инфекцию в 90 % случаев, что явилось показателем его эффективности.

Заключение. Новым явилось применение предложенного алгоритма выбора хирургической тактики лечения перипротезной инфекции, основанного на оценке факторов риска сохранения инфекционного процесса, что позволяет определить оптимальный для каждого пациента вид оперативного вмешательства и способствует купированию инфекционного процесса в области протезированного сустава.

Ключевые слова: степень риска сохранения инфекционного процесса, тактика ревизионного эндопротезирования крупных суставов, перипротезная инфекция

Для цитирования: Гришук А.Н., Леонова С.Н., Камека А.Л. Использование алгоритма выбора хирургической тактики при перипротезной инфекции крупных суставов. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 199-204. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.24.

Using an Algorithm to Choose the Surgical Tactics for the Treatment of Periprosthetic Infection of Large Joints

Grishchuk A.N., Leonova S.N., Kameka A.L.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Aleksey N. Grishchuk, e-mail: alexeygrishchuk@yandex.ru

Abstract

Background. The known methods of choosing the surgical treatment of infectious complications of arthroplasty of large joints have their drawbacks.

Aim of the study. To assess the effectiveness of the proposed algorithm for choosing surgical tactics in patients with periprosthetic infection of the hip and knee joints.

Materials and methods. The analysis of the results of surgical treatment of 67 patients with deep periprosthetic infection of the hip and knee joints, who were in the clinic of the Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology from 2014 to 2019. The average age of the patients was 67.8 ± 6.3 years (from 36 to 81 years). 50.7 % were men. In 42 patients, the infectious process developed in the area of the hip joint endoprosthesis, in 25 – in the knee joint. The patients were divided into two groups depending on the method of choosing surgical tactics. The first group consisted of 47 patients in whom the choice of surgical tactics was performed as standard. In 20 patients of the second group, the treatment tactics were determined using the proposed algorithm.

The proposed algorithm for choosing surgical tactics for periprosthetic infection includes determining the degree of risk of maintaining the infectious process in the area of the prosthetic joint after the proposed surgical treatment and evaluating additional criteria.

Results. Analysis of the results of the treatment of patients with deep periprosthetic infection of the hip and knee joint showed that in patients of the first group, it was possible to arrest the infectious process in 61.7 % of cases, in the second group of patients, relief of periprosthetic infection was achieved in 90 % of cases.

Conclusion. The use of the proposed algorithm for choosing surgical tactics for periprosthetic infection, taking into account the risk factors for maintaining the infectious process and evaluating additional criteria, makes it possible to determine the type of surgical intervention that is optimal for each patient, and contributes to the relief of the infectious process in the area of the prosthetic joint.

Key words: degree of risk for the ongoing infectious process, tactics of revision arthroplasty of large joints, periprosthetic infection

For citation: Grishchuk A.N., Leonova S.N., Kameka A.L. Using an Algorithm to Choose the Surgical Tactics for the Treatment of Periprosthetic Infection of Large Joints. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 199-204. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.24.

ВВЕДЕНИЕ

Перипротезная инфекция развивается в 1–5 % случаев и является одним из наиболее тяжёлых осложнений после эндопротезирования тазобедренного и коленного суставов [1, 2]. Число случаев перипротезной инфекции в целом неуклонно растёт [2]. Несмотря на применение различных ревизионных конструкций и новых способов лечения, частота рецидивов перипротезной инфекции составляет 24–52 % [3, 4, 5].

До настоящего времени нет единого взгляда на определение тактики хирургического лечения перипротезной инфекции [2, 6, 7]. Известные методы выбора хирургического лечения инфекционных осложнений после эндопротезирования крупных суставов имеют свои недостатки. В одних способах недостатком является позднее определение тактики (после госпитализации или интраоперационно) [8, 9, 10]. В других источниках отсутствуют точные критерии выбора тактики лечения [7, 11].

Исходя из этого, нами был предложен алгоритм выбора хирургической тактики при перипротезной инфекции [12].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценить эффективность предложенного алгоритма выбора хирургической тактики у пациентов с перипротезной инфекцией тазобедренного и коленного суставов.

МЕТОДЫ

Был проведён анализ результатов хирургического лечения 67 пациентов (мужчин – 50,7 %) с глубокой перипротезной инфекцией тазобедренного и коленного суставов, находившихся в клинике ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (ИНЦХТ) с 2014 по 2019 гг. Средний возраст пациентов составил $67,8 \pm 6,3$ года (от 36 до 81 года). У 42 пациентов инфекционный процесс развивался в области эндопротеза тазобедренного сустава, у 25 – в области эндопротеза коленного сустава.

Тактика лечения пациентов с глубокой перипротезной инфекцией тазобедренного и коленного суставов в клинике ИНЦХТ включала выполнение следующих видов оперативных вмешательств: хирургическая санация с сохранением эндопротеза; одноэтапное ревизионное эндопротезирование; двухэтапное ревизионное эндопротезирование; удаление эндопротеза с формированием неоартроза или анкилоза сустава.

В зависимости от способа выбора хирургической тактики пациенты были разделены на две группы. В первую группу вошли 47 пациентов с перипротезной инфекцией тазобедренного и коленного суставов, их средний возраст составил $55 \pm 11,3$ года. Эти пациенты проходили лечение в клинике ИНЦХТ в 2014–2016 гг. Выбор хирургической тактики в данной группе пациентов выполнялся стандартно. При наличии стабильных компонентов эндопротеза выполнялась санационная операция; выбор между проведением одноэтапного или двухэтапного ревизионного эндопротезирования зависел от наличия спейсеров, возможности их изготовления и установки. Удаление эндопротеза выполнялось после неудачных попыток ревизионного эндопротезирования или в случае риска генерализации инфекционного процесса.

Во вторую группу вошли 20 пациентов с перипротезной инфекцией тазобедренного и коленного суставов

(средний возраст $67,8 \pm 1,02$ года), которым была оказана помощь в соответствии с планом научных исследований ИНЦХТ в 2017–2019 гг. (НИР 068 «Оптимизация лечебной тактики при гнойно-воспалительных заболеваниях»). Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ИНЦХТ (протокол № 4 от 06.03.2017).

При лечении данной группы пациентов использовался предложенный алгоритм выбора хирургической тактики при перипротезной инфекции [10, 12]. Предложенный алгоритм включает следующие этапы: балльная оценка трёх показателей (наличие предшествующих санационных операций на протезированном суставе; состояние мягких тканей в области протезированного сустава; индекс соотношения сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов крови); оценка дополнительных критериев (раннее инфицирование; стабильные и правильно ориентированные компоненты эндопротеза; продолжающийся инфекционный процесс после 3 попыток ревизионного эндопротезирования; невозможность замены эндопротеза); определение хирургической тактики (рис. 1).

Результаты лечения всех пациентов считали положительными при достижении купирования инфекционного процесса в области протезированного сустава в течение одного года и более после оперативного вмешательства по поводу перипротезной инфекции.

Статистическая обработка полученных данных выполнялась при помощи стандартных программ статистического анализа Microsoft Office Excel 2010 и пакета прикладных программ Statistica (StatSoft Inc., США). При сравнении полученных результатов в двух группах использовали критерий χ^2 Пирсона, проводили сравнение процентов с оценкой статистической значимости различий по t -критерию Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При сравнительном анализе результатов хирургического лечения в двух группах пациентов с перипротезной инфекцией крупных суставов было установлено, что во второй группе пациентов, где использовался алгоритм выбора хирургической тактики, было достигнуто купирование перипротезной инфекции у статистически значимо большего числа пациентов (табл. 1).

Таблица 1
Сравнительная оценка результатов хирургического лечения пациентов с перипротезной инфекцией крупных суставов в анализируемых группах

Table 1
Comparative evaluation of the results of surgical treatment of patients with periprosthetic infection of large joints in the analyzed groups

Перипротезная инфекция	Группы пациентов (n = 67)				p
	1-я группа (n = 47)		2-я группа (n = 20)		
	абс.	%	абс.	%	
Купирована	29	61,7	18	90	0,02
Не купирована	18	38,3	2	10	0,02
Всего	47	100	20	100	–

По критерию χ^2 была определена статистически значимая зависимость частоты случаев купирования перипротезной инфекции от использования алгоритма выбора хирургической тактики при перипротезной



Рис. 1. Алгоритм выбора хирургической тактики при перипротезной инфекции

Fig. 1. Algorithm of choosing surgical tactics for the treatment of periprosthetic infection

Результаты хирургического лечения пациентов 2-й группы с перипротезной инфекцией крупных суставов (n = 20) Таблица 2

Results of surgical treatment in patients of group 2 with periprosthetic infection of large joints (n = 20)

Перипротезная инфекция	Виды оперативных вмешательств						Всего	
	Санация с сохранением эндопротеза (n = 3)		Одноэтапное ревизионное эндопротезирование (n = 12)		Двухэтапное ревизионное эндопротезирование (n = 5)			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Купирована	2	66,7	12	100	4	80	18	90
Не купирована	1	33,3	0	0	1	20	2	10
Всего	3	100	12	100	5	100	20	100

инфекции. Уровень статистической значимости данной взаимосвязи соответствует $p < 0,05$.

Следующим этапом был проведён анализ результатов лечения 20 пациентов 2-й группы, у которых при выборе хирургической тактики использовался предложенный нами алгоритм. Пациентам второй группы, согласно алгоритму, было показано выполнение следующих видов операций: санационная операция – 2 пациентам; одноэтапное ревизионное эндопротезирование – 12 пациентам; двухэтапное ревизионное эндопротезирование – 5 пациентам; удаление эндопротеза с формированием неартроза тазобедренного сустава – 1 пациенту. По выбранной тактике хирургическое лечение проведено 19 пациентам. Пациент, которому было показано удаление эндопротеза тазобедренного сустава, отказался от данного вида вмешательства, поэтому ему была выполнена санация с сохранением эндопротеза. Результаты хирургического лечения пациентов 2-й группы представлены в таблице 2.

При выполнении одноэтапного ревизионного эндопротезирования перипротезная инфекция была купирована у всех пациентов. После двухэтапного ревизионного эндопротезирования инфекционный процесс в области

эндопротеза был купирован у 80 % пациентов, после санационной операции – у 66,7 % пациентов.

Выполнение хирургического лечения по предложенному алгоритму позволило купировать перипротезную инфекцию в данной группе пациентов в 94,7 % случаев (табл. 3).

Оценка результатов хирургического лечения у пациентов 2-й группы с перипротезной инфекцией крупных суставов (n = 20) Таблица 3

Evaluation of the results of surgical treatment in patients of group 2 with periprosthetic infection of large joints (n = 20)

Перипротезная инфекция	Тактика согласно алгоритму				p
	Да (n = 19)		Нет (n = 1)		
	абс.	%	абс.	%	
Купирована	18	94,7	0	0	< 0,005
Не купирована	1	5,3	1	100	< 0,005

Затем был проведён анализ результатов лечения пациентов первой группы, который показал, что при

Таблица 4

Результаты хирургического лечения пациентов 1-й группы с перипротезной инфекцией крупных суставов (n = 47)

Table 4

Results of surgical treatment in patients of group 1 with periprosthetic infection of large joints (n = 47)

Перипротезная инфекция	Виды оперативных вмешательств						Всего	
	Санация с сохранением эндопротеза (n = 2)		Одноэтапное ревизионное эндопротезирование (n = 36)		Двухэтапное ревизионное эндопротезирование (n = 9)			
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Купирована	1	50	22	61,1	6	66,7	29	61,7
Не купирована	1	50	14	38,9	3	33,3	18	38,3
Всего	2	100	36	100	9	100	47	100

разных видах оперативных вмешательств получен сопоставимый процент случаев купирования перипротезной инфекции (табл. 4).

Кроме того, тактика хирургического лечения пациентов 1-й группы была оценена ретроспективно по предложенному алгоритму. Совпадение выбранной хирургической тактики с тактикой, представленной в алгоритме, было отмечено у 61,7 % пациентов. Среди них в 93,1 % случаев перипротезная инфекция была купирована (табл. 5).

Таблица 5

Оценка результатов хирургического лечения у пациентов 1-й группы с перипротезной инфекцией крупных суставов (n = 47)

Table 5

Evaluation of the results of surgical treatment in patients of group 1 with periprosthetic infection of large joints (n = 47)

Перипротезная инфекция	Тактика согласно алгоритму				p
	Да (n = 29)		Нет (n = 18)		
	абс.	%	абс.	%	
Купирована	27	93,1	2	11,1	< 0,001
Не купирована	2	6,9	16	88,9	< 0,001

Из 18 пациентов, у которых тактика лечения не совпала с алгоритмом, только у двух удалось купировать перипротезную инфекцию.

Представленные данные являются подтверждением эффективности предложенного алгоритма.

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов хирургического лечения двух групп пациентов с перипротезной инфекцией коленного и тазобедренного суставов с применением предложенного алгоритма выбора хирургической тактики позволил определить его высокую эффективность. Выполнение хирургического лечения по предложенному алгоритму позволило купировать перипротезную инфекцию в 94,7 % случаев.

Предложенный алгоритм выбора хирургической тактики при перипротезной инфекции включает определение степени риска сохранения инфекционного процесса в области протезированного сустава после предполагаемого оперативного лечения. Для этого определяют три наиболее значимых показателя: наличие предшествующих санационных операций на протезированном суставе, состояние мягких тканей в области протезированного сустава и индекс соотношения сегментоядерных ней-

трофилов и моноцитов крови, – и оценивают их в баллах. Проведение неоднократных оперативных вмешательств увеличивает развитие рубцового процесса, ишемии тканей вокруг эндопротеза и повышает риск сохранения перипротезной инфекции. Состояние мягких тканей в области оперативного вмешательства оказывает влияние на результат операции, при этом выраженность местных проявлений инфекционного процесса увеличивает риск сохранения перипротезной инфекции. По соотношению сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов крови можно судить о проявлении инфекционного процесса и риске его сохранения.

После определения степени риска сохранения перипротезной инфекции, оценивают такие не менее важные критерии, как раннее инфицирование, стабильные и правильно ориентированные компоненты эндопротеза, продолжающийся инфекционный процесс после 3 попыток ревизионного эндопротезирования, невозможность замены эндопротеза. Оценка указанных критериев обеспечивает выбор одного из видов оперативного лечения: при низкой степени риска сохранения перипротезной инфекции это санация с сохранением эндопротеза или одноэтапное ревизионное эндопротезирование; при высокой степени риска – двухэтапное ревизионное эндопротезирование или удаление эндопротеза с формированием неоартроза или анкилоза. Использование данного алгоритма при перипротезной инфекции позволяет ещё на догоспитальном этапе определить оптимальную хирургическую тактику.

В анализируемых группах пациентов определён процент неудовлетворительных результатов, связанных с отсутствием купирования перипротезной инфекции. В группе пациентов, где тактика лечения определялась по предложенному алгоритму, в 2 из 20 (10 %) случаев не удалось купировать перипротезную инфекцию. У 1 пациента через 3 месяца после двухэтапного ревизионного эндопротезирования коленного сустава был диагностирован рецидив перипротезной инфекции. При анализе данного случая были отмечены эпизоды падения пациента на оперированную конечность, что могло привести к развитию гематомы, её нагноению и явиться причиной рецидива инфекции. Второму пациенту, который отказался от удаления эндопротеза тазобедренного сустава, была выполнена санационная операция, что не соответствовало алгоритму и не позволило купировать инфекционный процесс в зоне эндопротеза.

У пациентов 1-й группы при стандартном подходе к выбору хирургической тактики в 38,3 % случаев были получены неудовлетворительные результаты. Учитывая

тот факт, что предложенный алгоритм позволяет выбрать оптимальную хирургическую тактику, анализ в данной группе проводили с использованием алгоритма. Было определено, что 13 из 14 пациентов с некупированной перипротезной инфекцией, которым выполнялось одноэтапное ревизионное эндопротезирование, согласно алгоритму, было показано выполнение двухэтапного ревизионного эндопротезирования. Выбор неверной тактики не позволил купировать инфекционный процесс.

Из 3 пациентов с продолжающимся инфекционным процессом после двухэтапного ревизионного эндопротезирования в 2 случаях по алгоритму было показано удаление эндопротеза с формированием анкилоза коленного сустава и неартроза тазобедренного сустава. При этом в 1 случае имела место полиаллергия, в том числе на антибактериальные препараты, у второго пациента выявлены обширные дефекты вертлужной впадины. Использование спейсера с антибактериальным препаратом при полиаллергии, а также имплантация эндопротеза при наличии обширных костных дефектов не способствуют купированию перипротезной инфекции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ результатов проведенного лечения пациентов с глубокой перипротезной инфекцией тазобедренного и коленного суставов показал, что у пациентов 1-й группы, у которых выбор хирургической тактики выполнялся стандартно, удалось купировать инфекционный процесс в 61,7 % случаев, во 2-й группе пациентов, где тактика лечения определялась с использованием предложенного алгоритма, было достигнуто купирование перипротезной инфекции в 90 % случаев.

При соответствии хирургической тактики предложенному алгоритму возможно купирование перипротезной инфекции в 93,1–94,7 % случаев, что указывает на его высокую эффективность.

Использование предложенного алгоритма выбора хирургической тактики при перипротезной инфекции с учётом факторов риска сохранения инфекционного процесса и оценки дополнительных критериев позволяет определить оптимальный для каждого пациента вид оперативного вмешательства и способствует купированию инфекционного процесса в области протезированного сустава.

ЛИТЕРАТУРА

- Ежов И.Ю., Корыткин А.А., Бобров М.И., Загреков В.И., Шибашев А.В. Проблема гнойно-некротических и ранних гнойно-септических осложнений при эндопротезировании тазобедренного сустава. *Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова*. 2010; 5(1): 22–25.
- Yacovelli S, Parvizi J. Who should manage periprosthetic joint infection? The case for a multidisciplinary approach. *Травматология и ортопедия России*. 2019; 25(4): 28–32.
- Шубняков И.И., Божкова С.А., Артюх В.В., Ливенцов В.Н., Кочиш А.А., Афанасьев А.В. Ближайший результат лечения пациента с перипротезной инфекцией тазобедренного сустава. *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова*. 2017; (4): 52–55.
- Kuiper JWP, Rustenburg CME, Willems JH, Verberne SJ, Peters EJG, Saouti R. Results and patient reported outcome measures (PROMs) after one-stage revision for periprosthetic joint infection of the hip: a single-centre retrospective study. *J Bone Jt Infect*. 2018; 3(3): 143–149. doi: 10.7150/jbji.24366

5. Lange J, Troelsen A, Solgaard S, Otte KS, Jensen NK, Søbal-le K, et al. Cementless one-stage revision in chronic periprosthetic hip joint infection. Ninety-one percent infection free survival in 56 patients at minimum 2-year follow-up. *J Arthroplasty*. 2018; 33(4): 1160–1165. doi: 10.1016/j.arth.2017.11.024

6. Павлов В.В., Садовой М.А., Прохоренко В.М. Современные аспекты диагностики и хирургического лечения пациентов с перипротезной инфекцией тазобедренного сустава (обзор литературы). *Травматология и ортопедия России*. 2015; 1(75): 116–128.

7. Винклер Т., Трампуш А., Ренц Н., Перка К., Божкова С.А. Классификация и алгоритм диагностики и лечения перипротезной инфекции тазобедренного сустава. *Травматология и ортопедия России*. 2016; 1(79): 33–45.

8. Ермаков А.М., Ключин Н.М., Абабков Ю.В., Тряпичников А.С., Коюшков А.Н. Одноэтапное ревизионное эндопротезирование при лечении перипротезной инфекции тазобедренного сустава. *Гений ортопедии*. 2019; 25(2): 172–179.

9. Ошукков С.А. *Хирургическое лечение перипротезной инфекции тазобедренного и коленного суставов*: дис. ... канд. мед. наук. М.: 2017.

10. Леонова С.Н., Гришук А.Н., Камека А.Л. *Способ определения хирургической тактики ревизионного эндопротезирования крупных суставов при инфекционном осложнении*: Пат. № 2692960; МПК А61В 17/56 (2006.01). Заявл. 29.06.2018; опубл. 28.06.2019. № 2018123929.

11. Тихилов Р.М., Шаповалов В.М. *Осложнения после эндопротезирования тазобедренного сустава: Парипротезная инфекция*. URL: <http://bone-surgery.ru/view/oslozhneniya-posle-endoprotezirovaniya-tazobedrennogo-sustava-paraproteznay>.

12. Леонова С.Н., Камека А.Л., Гришук А.Н. *Алгоритм оказания помощи пациентам с инфекцией в области хирургического вмешательства при эндопротезировании крупных суставов*: медицинская технология. Иркутск: ИНХТ; 2019.

REFERENCES

- Ezhov IYu, Korytkin AA, Bobrov MI, Zagrekov VI, Shebachev AV. The problem of purulent-necrotic and early purulent-septic complications in hip arthroplasty. *Bulletin of Pirogov National Medical & Surgical Center*. 2010; 5(1): 22–25. (In Russ.)
- Yacovelli S, Parvizi J. Who should manage periprosthetic joint infection? The case for a multidisciplinary approach. *Травматология и ортопедия России*. 2019; 25(4): 28–32.
- Shubnyakov II, Bozhkova SA, Artyukh VV, Liventsov VN, Kochish AA, Afanasyev AV. Immediate outcome of a patient with a periprosthetic hip infection. *N.N. Priorov Journal of Traumatology and Orthopedics*. 2017; (4): 52–55. (In Russ.)
- Kuiper JWP, Rustenburg CME, Willems JH, Verberne SJ, Peters EJG, Saouti R. Results and patient reported outcome measures (PROMs) after one-stage revision for periprosthetic joint infection of the hip: a single-centre retrospective study. *J Bone Jt Infect*. 2018; 3(3): 143–149. doi: 10.7150/jbji.24366
- Lange J, Troelsen A, Solgaard S, Otte KS, Jensen NK, Søbal-le K, et al. Cementless one-stage revision in chronic periprosthetic hip joint infection. Ninety-one percent infection free survival in 56 patients at minimum 2-year follow-up. *J Arthroplasty*. 2018; 33(4): 1160–1165. doi: 10.1016/j.arth.2017.11.024
- Pavlov VV, Sadovoy MA, Prokhorenko VM. Modern aspects of diagnostics and surgical treatment of patients with periprosthetic hip joint infection (review of literature). *Traumatology and Orthopedics of Russia*. 2015; 1(75): 116–128. (In Russ.)
- Vinkler T, Trumpush A, Renz N, Perka K, Bozhkova SA. Classification and algorithm for diagnosis and treatment of periprosthetic hip infection. *Traumatology and Orthopedics of Russia*. 2016; 1(79): 33–45. (In Russ.)
- Ermakov AM, Klyushin NM, Ababkov YuV, Tryapichnikov AS, Koyushkov AN. One-stage revision arthroplasty in the treatment of periprosthetic hip joint infection. *Genij Ortopedii*. 2019; 25(2): 172–179. (In Russ.)

9. Oshkukov SA. *Surgical treatment of periprosthetic infection of the hip and knee joints*: dissertation of Cand. Sc. (Med.). Moscow; 2017. (In Russ.)

10. Leonova SN, Grishchuk AN, Kameka AL. *Method for determining surgical tactics of revision arthroplasty of large joints in case of infectious complication*: Patent of the Russian Federation N 2692960. (In Russ.)

11. Tikhilov RM, Shapovalov VM. *Complications after arthroplasty of the hip joint: Paraprosthesis infection*. URL: <http://bone-surgery.ru/view/oslozhneniya-posle-endoprotezirovaniya-tazobedrennogo-sustava-paraproteznay>. (In Russ.)

12. Leonova SN, Kameka AL, Grishchuk AN. *Algorithm for medical treatment of patients with surgical site infections after arthroplasty of large joints*: medical technology. Irkutsk; 2019. (In Russ.)

Сведения об авторах

Гришук Алексей Николаевич – кандидат медицинских наук, научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: alexeygrishchuk@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9119-7480>

Леонова Светлана Николаевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: svetlana.leonova.1963@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3675-6355>

Камека Алексей Леонидович – кандидат медицинских наук, научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: iscst@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6107-8851>

Information about the authors

Aleksey N. Grishchuk – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: alexeygrishchuk@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9119-7480>

Svetlana N. Leonova – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: svetlana.leonova.1963@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3675-6355>

Aleksey L. Kameka – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: iscst@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6107-8851>

Статья получена: 10.09.2020. Статья принята: 18.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 10.09.2020. Accepted: 18.11.2020. Published: 26.12.2020.

Использование аутотрансплантата из диафиза малоберцовой кости при хирургическом лечении пациентов с переломами проксимального отдела плечевой кости на фоне критического остеопороза

Монастырёв В.В.¹, Пономаренко Н.С.¹, Тишков Н.В.^{1,2}

¹ ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия);

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

Автор, ответственный за переписку: Монастырёв Василий Владимирович, e-mail: vasyliy.monastyrev@gmail.com

Резюме

Частота неудовлетворительных результатов хирургического лечения пациентов с переломами проксимального отдела плечевой кости остаётся высокой и достигает 40 %. Это связано в первую очередь с ранней нестабильностью металлоконструкции на фоне остеопороза и, как следствия, с несращением перелома и формированием ложного сустава. Цель исследования. Оценить эффективность и безопасность нового хирургического способа лечения пациентов с переломами проксимального отдела плечевой кости на фоне критического остеопороза. Сущность данного способа заключается в интрамедуллярном использовании аутотрансплантата из малоберцовой кости при выполнении накостного остеосинтеза перелома. В клинике ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» после одобрения локального этического комитета сформированы 2 группы по 10 пациентов: основная группа – пациенты, оперированные предлагаемым способом; группа клинического сравнения – пациенты, прооперированные по стандартной методике. Во всех клинических случаях на контрольных рентгенограммах переломы проксимального отдела плечевой кости консолидированы. При оценке в раннем послеоперационном периоде болевого синдрома в области плечевого сустава по ВАШ показатели в группах статистически значимо не отличались. Через 3 месяца после операции при оценке объёма движения в плечевом суставе (без участия лопатки) наблюдалось статистически значимое улучшение в основной группе: отведение – на 35° и наружная ротация – на 25° ($p < 0,05$). При оценке амплитуды движений оперированного плечевого сустава по шкале ASES через 3 месяца после операции наблюдается статистически значимое улучшение в основной группе – на 11,6 балла. По оценке функционального восстановления пациента по шкале DASH статистически значимо лучше показатели в основной группе, что указывает на полное восстановление функции плечевого сустава. Таким образом, применение предлагаемого нового способа, по сравнению с другими известными технологиями оперативного лечения переломов проксимального отдела плечевой кости, позволяет достичь более жёсткой и стабильной фиксации костных отломков при последствиях травмы и наличии регионарного остеопороза.

Ключевые слова: плечевой сустав, перелом проксимального отдела плечевой кости, хирургическое лечение, остеопороз

Для цитирования: Монастырёв В.В., Пономаренко Н.С., Тишков Н.В. Использование аутотрансплантата из диафиза малоберцовой кости при хирургическом лечении пациентов с переломами проксимального отдела плечевой кости на фоне критического остеопороза. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 205-210. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.25.

Using an Autograft from the Fibula Diaphysis in the Surgical Treatment of Patients with Fractures of the Proximal Humerus on the Background of Critical Osteoporosis

Monastyrev V.V.¹, Ponomarenko N.S.¹, Tishkov N.V.^{1,2}

¹ Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation);

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

Corresponding author: Vasily V. Monastyrev, e-mail: vasyliy.monastyrev@gmail.com

Abstract

The frequency of unsatisfactory results of surgical treatment of patients with a fracture of the proximal humerus remains high and is up to 40 %. This is primarily due to the early instability of the metal structure against the background of osteoporosis and as a consequence of non-fusion of the fracture and the formation of a false joint. The aim of the study was to evaluate the effectiveness and safety of a new surgical method for treating patients with a fracture of the proximal humerus against the background of critical osteoporosis. After the approval of the local ethics Committee, 2 groups of 10 patients were formed in the clinic: the patients of main group were operated by the proposed method; the group of clinical comparison was operated by the standard method. In all clinical cases, fractures of the proximal humerus were consolidated on control radiographs. VAS assessment the pain syndrome in the early postoperative period showed that there were no statistically significant differences in the shoulder joint area in the groups. Three months after surgery, when assessing the volume of movement in the shoulder joint (without the participation of the scapula), there was a statistically significant improvement in the main group: abduction – by 35° and external rotation – by 25° ($p < 0.05$). When assessing the range of motion of the operated shoulder joint using the ASES scale,

a statistically significant improvement was observed in the main group by 11.6 points after 3 months after surgery. According to the assessment of the patient's functional recovery according to the DASH scale, the indicators in the main group were statistically significantly better, which indicates a complete recovery of the shoulder joint function. Thus, the use of the proposed new method, in comparison with other known technologies for surgical treatment of fractures of the proximal humerus, allows achieving a more rigid and stable fixation of bone fragments in the aftermath of trauma and the presence of regional osteoporosis.

Key words: shoulder joint, fracture of proximal humerus, surgical treatment, osteoporosis

For citation: Monastirev V.V., Ponomarenko N.S., Tishkov N.V. Using an Autograft from the Fibula Diaphysis in the Surgical Treatment of Patients with Fractures of the Proximal Humerus on the Background of Critical Osteoporosis. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 205-210. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.25.

АКТУАЛЬНОСТЬ

По данным современной литературы, доля переломов проксимального отдела плечевой кости составляет 5,7 % от всех переломов [1, 2]. Следует отметить, что наиболее часто такие переломы встречаются в зимние месяцы и вызваны главным образом низкоэнергетической травмой. Так, по данным шведского регистра [3], доля пациентов с переломами проксимального отдела плечевой кости ежегодно составляла 18 случаев на 10 000 населения, и прирост числа пациентов напрямую связан с возрастом. Современные исследования показали, что рост частоты переломов среди лиц старшего возраста в первую очередь связан с повышенным риском развития остеопороза [4]. По данным американского регистра [5], в разных возрастных группах пациентов показатели заболеваемости были следующими: у пациентов моложе 49 лет – от 1 до 2 случаев на 10 000 населения; у пациентов от 50 до 64 лет – 7,5 случая на 10 000 населения; у пациентов старше 65 лет – 25,3 случая на 10 000 населения. В своём эпидемиологическом исследовании, проведённом в Нидерландах, K.C. Mahabier et al. выявили, что с 1982 по 2012 год доля пациентов с переломами проксимального отдела плечевой кости увеличилась на 277 %. Таким образом, основная доля пациентов приходится на лиц старше 65 лет с низкоэнергетической травмой, полученной преимущественно в зимнее время года, и с подтверждённым остеопорозом.

При обращении пациента за медицинской помощью принятие решения о лечении основывается на характере перелома, специфических характеристиках пациента, таких как возраст, сопутствующие заболевания, уровень физической активности. Так, при диагностике у пациента перелома проксимального отдела плечевой кости без и/или с минимальным смещением костных фрагментов в случае невысоких требований к физической активности хорошо зарекомендовал себя консервативный способ лечения. Однако при наличии у пациента оскольчатого перелома со смещением костных фрагментов тактика лечения может отличаться. При анализе современной литературы мы не обнаружили единого чёткого алгоритма для выбора тактики хирургического лечения переломов проксимального отдела плечевой кости у пациентов с остеопорозом.

Так, по данным анализа литературы, доля хирургического лечения, основанного на открытой репозиции фрагментов с накостным остеосинтезом пластиной с ограниченным контактом и фиксацией блокируемыми винтами, достигает 70 %. Однако, несмотря на выполнение данной хирургической технологии, частота неудовлетворительных результатов остаётся высокой и может достигать 40 % [6, 7]. Это связано в первую очередь с ранней нестабильностью металлоконструкции на фоне

остеопороза и, как следствие, с несращением перелома и формированием ложного сустава, что приводит к длительной нетрудоспособности и инвалидизации пациента.

Таким образом, восстановление функции травмированной верхней конечности, основанное на точной и стабильной фиксации фрагментов проксимального отдела плечевой кости, является приоритетным направлением в современной травматологии. Разработка новых, более эффективных способов хирургического лечения переломов проксимального отдела плечевой кости у пациентов с критическим остеопорозом явилась основанием для планирования данной работы.

ЦЕЛЬ НАСТОЯЩЕГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить эффективность и безопасность нового хирургического способа лечения пациентов с переломом проксимального отдела плечевой кости на фоне критического остеопороза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В клинике ФБГНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (ИНЦХТ) после одобрения локального этического комитета разработан и внедрён в клиническую практику новый способ хирургического лечения [8] (Патент № 2652573 от 26.04.2018), позволяющий при переломах проксимального отдела плечевой кости на фоне остеопороза дополнительно стабилизировать фрагменты с помощью аутотрансплантата из нижней трети диафиза малоберцовой кости, установленного интрамедуллярно в плечевой кости с фиксацией накостной пластиной и блокируемыми винтами. С целью оценки клинической эффективности и безопасности хирургического лечения пациентов с переломами проксимального отдела плечевой кости предварительно проведено пилотное исследование [9], результаты которого позволили определить статистическую мощность данного исследования с доверительным интервалом 90 % и определить клиническую эффективность предложенного способа лечения.

С целью формирования однородных групп сформированы критерии включения: травматический характер перелома; срок с момента травмы – до 6 недель; 2 и более фрагментов плечевой кости; смещение фрагментов более 5 мм; возраст пациента старше 60 лет; наличие остеопороза. Критерии исключения: отдалённость места жительства, ограничивающая контроль результатов исхода лечения; невозможность подписания информированного согласия на участие в исследовании.

На амбулаторном этапе [10] пациентам выполнялось обследование: клинический минимум анализов крови, ЭКГ, рентгенография плечевой кости в 2 проекциях и мультиспиральная компьютерная томография плечевого сустава с 3D реконструкцией головки плечевой кости.

Данное исследование позволило оценить количество фрагментов, пространственное расположение фрагментов, заинтересованность окружающих структур, точки денситометрии эпифиза, метафиза и диафиза плечевой кости. Кроме этого, в предоперационном периоде выполнялась денситометрия с целью определения исходного состояния плотности костной ткани.

После обследования пациенты госпитализировались в клинику ИНЦХТ, где данные пациента были зашифрованы и распределены независимым экспертом на 2 группы клинического сравнения: основная группа – 10 пациентов, оперированных предлагаемым способом; группа клинического сравнения – 10 пациентов, прооперированных по стандартной методике (открытая репозиция фрагментов плечевой кости и накостного остеосинтеза пластиной с ограниченным контактом и фиксацией блокируемыми винтами).

ТЕХНИКА ВЫПОЛНЕНИЯ ХИРУРГИЧЕСКОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА

Доступ к проксимальному отделу плечевой кости выполняли стандартным передненаружным разрезом кожи, подкожно-жировой клетчатки и фасции, при этом *v. cephalica* располагается латеральнее для предотвращения её травмирования. Далее, разделяя дельтовидную и двуглавую мышцы плеча, накладывали ранорасширитель, что обеспечивало достаточный обзор зоны перелома. Далее производилось экономное освежение краёв фрагментов с точной репозицией. Для временной фиксации фрагментов проводили спицы Киршнера. Вторым этапом хирургического лечения проводили забор ауторансплантата с диафиза малоберцовой кости. По методике, предложенной А.П. Барабашом [11], из двух небольших доступов в средней и нижней трети голени в проекции малоберцовой кости выполняли остеотомию. Далее бережно отделяли трансплантат от прилежащих мягких тканей. Длина ауторансплантата определялась таким образом, чтобы он мог перекрывать зону перелома плечевой кости с условием достаточной длины для его антеградного введения через головку плечевой кости и с сохранением функции голени. Ауторансплантат освобождали от мягких тканей, сохраняя его в форме замкнутой костной трубки. Затем в дистальном направлении обрабатывали костномозговой канал плечевой кости при помощи канюлированного сверла и развёрток, последовательно расширяя канал в соответствии с диаметром подготовленного ауторансплантата. Производили репозицию фрагментов плечевой кости и временную диафиксацию спицей Киршнера. После этого подготовленный ауторансплантат вводили антеградно в костномозговой канал плечевой кости, погружая его ниже кортикального слоя головки плечевой кости, что позволило минимизировать травматизацию костных фрагментов перелома и проксимального отдела плечевой кости. Использование цельного ауторансплантата в виде костной трубки позволило дополнительно армировать зону перелома и обеспечить первичную фиксацию костных отломков (рис. 1). После введения ауторансплантата накладывали накостную пластину с отверстиями, которую предварительно моделировали по индивидуальным особенностям наружного контура плечевой кости пациента. Дистальную часть пластины располагали дистальнее перелома с возможностью введения не менее трёх винтов через

её отверстия. При этом винты проводили через кортикальные слои плечевой кости и ауторансплантат, через проксимальные отверстия в пластине вводили винты в головку плечевой кости до кортикального слоя (рис. 2). Выполняли интраоперационный рентген-контроль для определения стабильности внутрикостного и накостного остеосинтеза перелома плечевой кости. Рану ушивали послойно, предварительно дренируя по Редону.



Рис. 1. Операционная рана при введении ауторансплантата малоберцовой кости

Fig. 1. Surgical wound with the introduction of a fibular autograft



Рис. 2. Операционная рана после выполнения остеосинтеза плечевой кости

Fig. 2. Surgical wound after osteosynthesis of the humerus

С целью оценки функциональных результатов в группе клинического сравнения применяли стандартную операцию, включающую: абсолютно идентичный таковому в основной группе доступ к области перелома плечевой кости; открытую репозицию фрагментов; наконечный остеосинтез пластиной с ограниченным контактом с фиксацией блокируемыми винтами (Locking Proximal Humerus Plate, LPHP) и блокируемыми винтами 3,5 мм по методике AO/ASIF.

В послеоперационном периоде верхнюю конечность фиксировали эластичным ортезом типа Дезо. При данной фиксации пациенту разрешалось на следующий день выполнять гигиенические процедуры со снятием ортеза и надевание нижнего белья. На следующий день после операции пациент переводился в профильное отделение. Обезболивание наркотическими анальгетиками на ночь выполнялось при выраженном болевом синдроме. Перевязку операционной раны и удаление дренажа проводили на следующий день после операции. Пациенту с 1-х суток разрешалось вставать с полной нагрузкой на оперированную нижнюю конечность (в основной группе) и выполнять изометрическую гимнастику верхней конечности. Все пациенты вне зависимости от группы получали низкомолекулярные гепарины во время пребывания в стационаре, а при выписке переводились на таблетированные формы антикоагулянтов.

На амбулаторное лечение пациенты выписывались из стационара в среднем через $6 \pm 2,1$ суток. В поликлинике по месту жительства выполнялись перевязки послеоперационных швов, снятие швов производили на 14-е сутки после операции. Прооперированную верхнюю конечность фиксировали ортезом в течение 4 недель, в последующем под контролем инструктора ЛФК разрешалось выполнение движения в плечевом суставе до болевого синдрома.

По протоколу исследования пациенты должны являться на контрольные осмотры через 1, 3, 6 месяцев и 1 год. Для оценки клинической эффективности хирургического лечения пациенты являлись в поликлинику ИНХТ к независимому эксперту (врач травматолог-ортопед), где оценивались: уровень боли (по ВАШ) в области хирургического лечения; результаты рентгенографии проксимального отдела плечевой кости (степень консолидации перелома); объем движения в оперированном плечевом суставе (сгибание/разгибание, отведение/приведение, наружная/внутренняя ротация), – и заполнялись анкеты DASH и ASES [12, 13]. Для статистической обработки данных применялась русскоязычная версия программы Statistica for Windows 10.0 (StatSoft Inc., США; лицензия № AXAR301F643210FA-C, правообладатель ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии») с использованием непараметрического критерия Манна – Уитни ($p > 0,05$; Mann – Whitney U-test).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В настоящее время на контрольный осмотр через 3 месяца после операции явились все пациенты. На контрольных рентгенограммах перелома проксимального отдела плечевой кости консолидированы.

При оценке в раннем послеоперационном периоде уровня боли в области плечевого сустава по ВАШ в основной группе и в группе клинического сравнения показатели значимо не отличались. На 1-е сутки после

операции уровень боли по ВАШ в среднем составлял $5,9 \pm 0,9$ см и к 7-м суткам после операции уменьшался до $1,3 \pm 0,43$ см, что позволяло выписывать пациентов на амбулаторное лечение. Уровень болевого синдрома по ВАШ в области забора аутоотрансплантата в основной группе на 1-е сутки после операции в среднем составлял $4,2 \pm 0,9$ см и к 3-м суткам после операции уменьшался до $1,1 \pm 0,43$ см. Нагрузку на оперированную нижнюю конечность пациентам в основной группе разрешали давать сразу после операции в полном объеме.

Всем пациентам в послеоперационном периоде разрешали снимать фиксирующий ортез для проведения гигиенических процедур и надевания нижнего белья. Соответственно, пациенты могли выполнять небольшие качательные движения оперированной верхней конечностью. Так, в основной группе после снятия эластичного ортеза с оперированной конечности пациенты могли выполнять движения, позволяющие перейти к самообслуживанию, а именно: сгибание – $76,88 \pm 10,06^\circ$, отведение – $93,23 \pm 5,98^\circ$ (табл. 1). Через 3 месяца после операции объем движения в оперированном плечевом суставе в основной группе улучшился: сгибание – на 45° , отведение – на 20° , – что позволило пациентам безболезненно выполнять повседневные движения оперированной верхней конечностью.

Таблица 1
Определение различий в исследуемых группах пациентов по критериям «сгибание» и «отведение», ° ($M \pm m$)

Table 1
Differences in the studied groups of patients according to the criteria of "flexion" and "abduction", ° ($M \pm m$)

Критерии	ОГ (n = 10)	ГКС (n = 10)	p
Сгибание			
1 мес. после операции	$76,88 \pm 10,06^*$	$24,71 \pm 9,06^*$	$\leq 0,05$
3 мес. после операции	$89,98 \pm 9,84^*$	$43,33 \pm 7,66^*$	$\leq 0,05$
Отведение			
1 мес. после операции	$93,23 \pm 5,98^*$	$45,88 \pm 5,74^*$	$\leq 0,05$
3 мес. после операции	$113,82 \pm 4,32^*$	$95,00 \pm 4,11^*$	$\leq 0,05$

Примечание. p – статистическая значимость различий между группами; * – различия между основной группой и группой клинического сравнения статистически значимы при $p \leq 0,05$.

При оценке по шкале ASES (American Shoulder And Elbow Surgeons) в основной группе мы наблюдали статистически значимо лучшие ($p < 0,05$) ответы на вопросы анкеты о повседневной жизни через 1 и 3 месяца после операции – на 15 и 11,6 балла соответственно.

При субъективной оценке функции оперированного плечевого сустава по шкале DASH в основной группе к 3-му месяцу после операции мы наблюдали практически полное восстановление повседневных движений (75 ± 10 баллов; $p < 0,05$), таких как: мыть или сушить волосы, заправить постель, надеть свитер и т. д.

Из нежелательных эффектов у 1 пациента в основной группе во время забора аутоотрансплантата малоберцовой кости произошло кровотечение из артерии (*r. perforans a. fibularis*), что потребовало расширения операционной раны и выполнения гемостаза. В послеоперационном периоде сосудистых изменений в нижней конечности у этого пациента мы не наблюдали. Рана зажила первичным натяжением. Уровень болевого синдрома (по ВАШ) в месте забора аутоотрансплантата не отличался от средних значений у других пациентов этой группы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Учитывая тот факт, что мы разрешили в раннем послеоперационном периоде снимать фиксирующий ортез с верхней конечности для проведения гигиенических процедур и надевания нижнего белья, пациенты субъективно увереннее себя чувствовали в основной группе. Это связано с тем, что дополнительная интрамедуллярная установка аутотрансплантата из малоберцовой кости стабильнее фиксирует фрагменты, и поэтому пациенты могли совершать небольшие объёмы движений с низким уровнем болевого синдрома. Таким образом, к тому моменту, когда разрешили полностью снимать фиксирующий ортез (4 недели после операции), у пациентов в основной группе объём движений был исходно лучше, чем в группе клинического сравнения. Уровень болевого синдрома по ВАШ в области забора аутотрансплантата сводился к нулю в день выписки из стационара и не влиял на длительность пребывания.

Статистически значимое улучшение показателей функции оперированной верхней конечности в основной группе по шкалам боли (ВАШ), DASH и ASES получено уже к 1-му месяцу после операции, что указывает на клиническую эффективность нового способа хирургического лечения пациентов с переломами проксимального отдела плечевой кости на фоне остеопороза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, применение предлагаемого нового способа, по сравнению с другими известными технологиями оперативного лечения пациентов с переломами проксимального отдела плечевой кости, показало лучшие результаты в ранние послеоперационные сроки за счёт первично стабильной фиксации перелома на фоне критического остеопороза. Учитывая достаточно жёсткую фиксацию фрагментов проксимального отдела плечевой кости за счёт дополнительной фиксации перелома ауто-трансплантатом из малоберцовой кости, восстановление функции в плечевом суставе возможно в ранние сроки без отрицательного влияния на зону перелома. Предлагаемый новый способ хирургического лечения позволяет значительно раньше вернуть пациентов к повседневной жизни после травмы.

Источник финансирования

Работа выполнялась в соответствии с планом научных исследований ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии».

Конфликт интересов

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Passaretti D, Candela V, Sessa P, Gumina S. Epidemiology of proximal humeral fractures: a detailed survey of 711 patients in a metropolitan area. *J Shoulder Elbow Surg.* 2017; 26(12): 2117-2124. doi: 10.1016/j.jse.2017.05.029
2. Ziegler P, Maier S, Stöckle U, Gühring M, Stuby FM. The treatment of proximal humerus fracture using internal fixation with fixed-angle plates. *Dtsch Arztebl Int.* 2019; 116(45): 757-763. doi: 10.3238/arztebl.2019.0757
3. Bergdahl C, Ekholm C, Wennergren D, Nilsson F, Möller M. Epidemiology and patho-anatomical pattern of 2,011 humeral frac-

tures: data from the Swedish Fracture Register. *BMC Musculoskelet Disord.* 2016; 17: 159. doi: 10.1186/s12891-016-1009-8

4. Katthagen JC, Schwarze M, Wamhoff M, Voigt C, Hurschler C, Lill H. Influence of plate material and screw design on stiffness and ultimate load of locked plating in osteoporotic proximal humeral fractures. *Injury*. 2016; 47(3): 617-624. doi: 10.1016/j.injury.2016.01.004
5. Karl JW, Olson PR, Rosenwasser MP. The epidemiology of upper extremity fractures in the United States, 2009. *J Orthop Trauma*. 2015; 29(8): e242-e244. doi: 10.1097/бот.0000000000000312
6. Mellstrand Navarro C, Brolund A, Ekholm C, Heintz E, Hoxha Ekström E, Josefsson PO, et al. Treatment of humerus fractures in the elderly: A systematic review covering effectiveness, safety, economic aspects and evolution of practice. *PLoS One*. 2018; 13(12): e0207815. doi: 10.1371/journal.pone.0207815
7. Shi X, Liu H, Xing R, Mei W, Zhang L, Ding L, et al. Effect of intramedullary nail and locking plate in the treatment of proximal humerus fracture: an update systematic review and meta-analysis. *J Orthop Surg Res*. 2019; 14(1): 285. doi: 10.1186/s13018-019-1345-0
8. Монастырев В.В., Васильев В.Ю., Пусева М.Э., Цалко А.С. Способ хирургического лечения перелома проксимального отдела плечевой кости: Пат. № 2652573 Рос. Федерация; МПК А61В 17/56 (2006.01). № 2016151977; заявл. 27.12.2016; опубл. 26.04.2018. Бюл. № 12.
9. Монастырев В.В., Пономаренко Н.С., Пусева М.Э., Евсюкова А.Е. Новый способ хирургического лечения пациентов с переломом проксимального отдела плечевой кости на фоне критического остеопороза. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(6): 89-94. doi: 10.29413/ABS.2019-4.6.13
10. Монастырев В.В., Пономаренко Н.С., Михайлов И.Н., Бальжинмаев Д.Б. Диагностика и лечение пациентов с переломом проксимального отдела плечевой кости. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2018; 154(3): 66-71.
11. Барабаш А.П., Барабаш А.А., Пусева М.Э. Способ взятия аутооттрансплантата для костной аутопластики: Пат. № 2166296 Рос. Федерация; МКИ А61В 17/56. № 98104055; заявл. 21.04.99; опубл. 03.08.2000, Бюл. № 13.
12. *Микрохирургия кисти*. URL: <http://www.xn----etboabbakenyxcauqj7a0r.xn--p1ai/vopros-vracu/dash>.
13. Липина М.М., Лычагин А.В., Архипов С.В., Калинин Е.Б., Алиев Р.И., Явльева Р.Х., и др. Адаптация основных опросников, применяемых для оценки состояния и функции плечевого сустава при боли в суставе различной этиологии. *Кафедра травматологии и ортопедии*. 2018; 4(34): 44-50.

REFERENCES

1. Passaretti D, Candela V, Sessa P, Gumina S. Epidemiology of proximal humeral fractures: a detailed survey of 711 patients in a metropolitan area. *J Shoulder Elbow Surg.* 2017; 26(12): 2117-2124. doi: 10.1016/j.jse.2017.05.029
2. Ziegler P, Maier S, Stöckle U, Gühring M, Stuby FM. The treatment of proximal humerus fracture using internal fixation with fixed-angle plates. *Dtsch Arztebl Int.* 2019; 116(45): 757-763. doi: 10.3238/arztebl.2019.0757
3. Bergdahl C, Ekholm C, Wennergren D, Nilsson F, Möller M. Epidemiology and patho-anatomical pattern of 2,011 humeral fractures: data from the Swedish Fracture Register. *BMC Musculoskelet Disord.* 2016; 17: 159. doi: 10.1186/s12891-016-1009-8
4. Katthagen JC, Schwarze M, Warnhoff M, Voigt C, Hurschler C, Lill H. Influence of plate material and screw design on stiffness and ultimate load of locked plating in osteoporotic proximal humeral fractures. *Injury.* 2016; 47(3): 617-624. doi: 10.1016/j.injury.2016.01.004
5. Karl JW, Olson PR, Rosenwasser MP. The epidemiology of upper extremity fractures in the United States, 2009. *J Orthop Trauma.* 2015; 29(8): e242-e244. doi: 10.1097/60t.0000000000000312
6. Mellstrand Navarro C, Brolund A, Ekholm C, Heintz E, Hoxha Ekström E, Josefsson PO, et al. Treatment of humerus fractures in the elderly: A systematic review covering effectiveness, safety, economic aspects and evolution of practice. *PLoS One.* 2018; 13(12): e0207815. doi: 10.1371/journal.pone.0207815

7. Shi X, Liu H, Xing R, Mei W, Zhang L, Ding L, et al. Effect of intramedullary nail and locking plate in the treatment of proximal humerus fracture: an update systematic review and meta-analysis. *J Orthop Surg Res.* 2019; 14(1): 285. doi: 10.1186/s13018-019-1345-0
8. Monastyrev VV, Vasilyev VYu, Puseva ME, Tsalko AS. *Method of surgical treatment of a fracture of the proximal humerus*: Patent N 2652573 of the Russian Federation. (In Russ.).
9. Monastyrev VV, Ponomarenko NS, Puseva ME, Evsukova AE. New method of surgical treatment of patients with a fracture of the proximal humerus on the background of critical osteoporosis. *Acta biomedica scientifica.* 2019; 4(6): 89-94. doi: 10.29413/ABS.2019-4.6.13. (In Russ.)
10. Monastyrev VV, Ponomarenko NS, Mikhaylov IN, Balzhinimaev DB. Diagnosis and treatment of patients with a fracture of the proximal humerus. *Siberian Medical Journal (Irkutsk).* 2018; 154(3): 66-71. (In Russ.)
11. Barabash AP, Barabash AA, Puseva ME. *Method of taking and autograft for bone autoplasty*: Patent N 2166296 of the Russian Federation. (In Russ.)
12. *Hand microsurgery*. URL: <http://www.xn----etboabbake-nyxcauqj7a0r.xn--p1ai/vopros-vracu/dash>. (In Russ.)
13. Lipina MM, Lychagin AV, Arkhipov SV, Kalinsky EB, Aliev RI, Yavlieva RKh, et al. Adaptation of the main questionnaires used to assess the condition and function of the shoulder joint in case of joint pain of various etiologies. *The Department of Traumatology and Orthopedics.* 2018; 4(34): 44-50. (In Russ.)

Сведения об авторах

Монастырёв Василий Владимирович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: vasilyi.monastyrev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4711-9490>

Пonomarenko Николай Сергеевич – кандидат медицинских наук, научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: Ponomarenko-ns@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6210-3492>

Тишков Николай Валерьевич – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий научно-клиническим отделом травматологии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; ассистент кафедры травматологии, ортопедии и нейрохирургии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: zdrav@iscst.ru

Information about authors:

Vasily V. Monastyrev – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: vasilyi.monastyrev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4711-9490>

Nikolay S. Ponomarenko – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: Ponomarenko-ns@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6210-3492>

Nikolay V. Tishkov – Cand. Sc. (Med.), Docent, Head of the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Teaching Assistant at the Department of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, ассистент кафедры травматологии, ортопедии и нейрохирургии, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: zdrav@iscst.ru

Статья получена: 22.10.2020. Статья принята: 01.12.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 22.10.2020. Accepted: 01.12.2020. Published: 26.12.2020.

Комбинированный чрескостный остеосинтез перелома диафиза плечевой кости при нарушениях репаративного процесса (клинический случай)

Тишков Н.В.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Тишков Николай Валерьевич, e-mail: zdrav@iscst.ru

Резюме

Лечение последствий диафизарных переломов плечевой кости, несмотря на появление современных эффективных методов внутреннего остеосинтеза, не потеряло своей актуальности. Методом выбора при лечении ложных суставов и замедленно консолидирующихся переломов плечевой кости остаётся чрескостный остеосинтез. Накопленный нами опыт использования аппаратов внешней фиксации при лечении переломов, основанный на применении метода унифицированного обозначения чрескостного остеосинтеза, позволил систематизировать и описать хирургическую технику комбинированного чрескостного остеосинтеза при лечении переломов диафиза плечевой кости с нарушениями репаративных процессов в сочетании с продольной кортикотомией зоны ложного сустава, а также оценить её эффективность. В статье представлен случай успешного хирургического лечения пациента с ложным суставом диафиза плечевой кости методом комбинированного чрескостного остеосинтеза в сочетании с продольной кортикотомией зоны ложного сустава. Дано описание техники чрескостного остеосинтеза. Представленный клинический случай показывает, что применение комбинированного чрескостного остеосинтеза с учётом метода унифицированного обозначения чрескостного остеосинтеза позволяет не только определить оптимальную компоновку аппарата и позиций проведения чрескостных элементов, но и использовать данный метод для определения оптимальной зоны выполнения продольной кортикотомии.

Ключевые слова: чрескостный остеосинтез, плечевой сустав, перелом диафиза плечевой кости, хирургическое лечение

Для цитирования: Тишков Н.В. Комбинированный чрескостный остеосинтез перелома диафиза плечевой кости при нарушениях репаративного процесса (клинический случай). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 211-215. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.26.

Combined Transosseous Osteosynthesis of Fracture of Humerus Diaphysis in Case of Reparative Process Disorder (Clinical Observation)

Tishkov N.V.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Nikolay V. Tishkov, e-mail: zdrav@iscst.ru

Abstract

The treatment of the consequences of diaphyseal fractures of the humerus, despite the emergence of modern effective methods of internal osteosynthesis, has not lost its relevance. Transosseous osteosynthesis remains the method of choice in the treatment of pseudoarthrosis and delayed consolidating fractures of the humerus. The experience we have accumulated in the use of external fixation devices in the treatment of fractures, based on the use of the method of unified designation of transosseous osteosynthesis, made it possible to systematize and describe the surgical technique of combined transosseous osteosynthesis in the treatment of fractures of the humerus diaphysis with impaired reparative processes in combination with longitudinal corticotomy of the pseudoarthrosis zone, and evaluate its effectiveness. The article presents a case of successful surgical treatment of a patient with a pseudoarthrosis of the humerus diaphysis by the method of combined transosseous osteosynthesis in combination with longitudinal corticotomy of the pseudoarthrosis zone. A description of the technique of transosseous osteosynthesis is given. The presented clinical case shows that the use of combined transosseous osteosynthesis, taking into account the method of unified designation of transosseous osteosynthesis, makes it possible not only to determine the optimal arrangement of the apparatus and the positions of the transosseous elements, but also to use this method to determine the optimal area for performing longitudinal corticotomy.

Key words: transosseous osteosynthesis, shoulder joint, fracture of humerus diaphysis, surgical treatment

For citation: Tishkov N.V. Combined Transosseous Osteosynthesis of Fracture of Humerus Diaphysis in Case of Reparative Process Disorder (Clinical Observation). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 211-215. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.26.

ВВЕДЕНИЕ

Переломы плечевой кости составляют от 2,2 до 2,9 % среди всех переломов костей скелета [1]. Удельный вес ложных суставов составляет от 15,7 до 57,6 %, а образующиеся при этом анатомо-функциональные нарушения в 11,6–44,9 % случаев становятся причинами стойкой инвалидности [2]. Ложные суставы

при переломах плечевой кости образуются в 3,3–13 % случаев [3]. В структуре причин формирования ложных суставов ятрогенные ошибки и осложнения составляют от 15,3 до 39,5 % [4].

Одним из передовых методов лечения ложных суставов плечевой кости остаётся метод чрескостного остеосинтеза [1, 4, 5, 6, 7].

Одним из необходимых элементов при лечении ложных суставов плечевой кости является стимуляция регенерации костной ткани. Из существующего многообразия методик заслуживает внимание механическое воздействие на костную рану, в том числе и выполнение продольной кортикотомии в условиях стабильной фиксации [8, 9].

Накопленный нами опыт использования аппаратов внешней фиксации, основанный на применении метода унифицированного обозначения чрескостного остеосинтеза [10], позволил систематизировать и предложить технологию комбинированного чрескостного компрессионного остеосинтеза [11] в сочетании с выполнением продольной кортикотомии в зоне ложного сустава, позволяющей стимулировать репаративный процесс, а также оценить её клиническую эффективность.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

На клиническом примере продемонстрировать возможности лечения ложного сустава диафиза плечевой кости методом комбинированного компрессионного чрескостного остеосинтеза в сочетании с продольной кортикотомией.

КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР

Пациентка Д., 34 года, поступила в клинику ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (ИНЦХТ) 23.04.2018 с диагнозом: Ложный сустав с/3-н/3 диафиза левой плечевой кости (M84.2). Комбинированная контрактура левого локтевого сустава. Регионарный остеопороз.

В анамнезе травма, полученная 02.01.2017: в быту при падении получила закрытый оскольчатый перелом левой плечевой кости. Пациентка проходила лечение по месту жительства. 11.01.2017 выполнена операция: открытая репозиция и остеосинтез левой плечевой кости

пластиной. Перелом не консолидировался, беспокоили болевой синдром, нарушение функции левой верхней конечности. 29.01.2018 по месту жительства выполнено удаление металлоконструкции. При обращении в клинику ИНЦХТ диагностирован ложный сустав левой плечевой кости (рис. 1)

04.05.2018 в клинике ИНЦХТ выполнена операция.

Техника операции

Перед операцией непосредственно на операционном столе при помощи устройства деления сегмента определены уровень повреждения и предполагаемые места установки внешних опор и проведения чрескостных элементов. Для выполнения остеосинтеза использованы сектор и кольцевые опоры аппарата Илизарова. Подбор диаметра колец выполнен согласно стандартным рекомендациям.

После обработки операционного поля на II уровне плечевой кости на позиции 11 ч в направлении спереди назад и на III уровне плечевой кости на позиции 9 ч в направлении снаружи внутрь под углом 90° к длинной оси кости сформированы каналы (сверлом диаметром 3,0 мм), проходящие через обе кортикальные пластинки, и введены 2 винтовых стержня (диаметром 5,0 мм). Проведённые чрескостные элементы фиксированы при помощи консольных приставок в секторе аппарата внешней фиксации, расположенном перпендикулярно длинной оси кости. Сформирована проксимальная опора чрескостного аппарата. При помощи соединительных стержней установлены кольцевые опоры аппарата на IV и VI уровнях плечевой кости, на VIII уровне установлена опора, составляющая 3/4 кольца. На VIII уровне плечевой кости, в плоскости внешней опоры, проведена спица с упорной площадкой в направлении 3-9 перпендикулярно дистальному отломку, закреплена фиксаторами (натяжение 110 кг). На VII уровне на позиции 8 ч сверлом



Рис. 1. Пациентка Д. Рентгенограммы левой плечевой кости при обращении в ИНЦХТ

Fig. 1. Patient D. X-ray scans of the left humerus at the admission to Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology

диаметром 3,0 мм сформирован канал, проходящий через обе кортикальные пластинки, в направлении снаружи внутрь, сзади наперёд под углом 110°, открытым к локтевому суставу. Введён винтовой стержень диаметром 5,0 мм и закреплён в дистальной базовой опоре при помощи консольных приставок. В проекции промежуточных кольцевых опор на IV уровне в позиции 9 ч и на VI уровне в позиции 8 ч под углом 90° сверлом диаметром 3,0 мм сформированы каналы в направлении снаружи-

внутри и проведены стержни 5,0 мм, которые закреплены при помощи консольных приставок. Дана продольная компрессия между опорами на IV и VI уровнях. После обработки операционного поля в проекции ложного сустава на V уровне в позиции 10 ч в направлении спереди назад, снаружи внутрь долотом 2,0 см выполнена продольная кортикотомия зоны ложного сустава. На кожу наложен шов, асептическая повязка, спиртовые шарики в месте выхода чрескостных элементов.

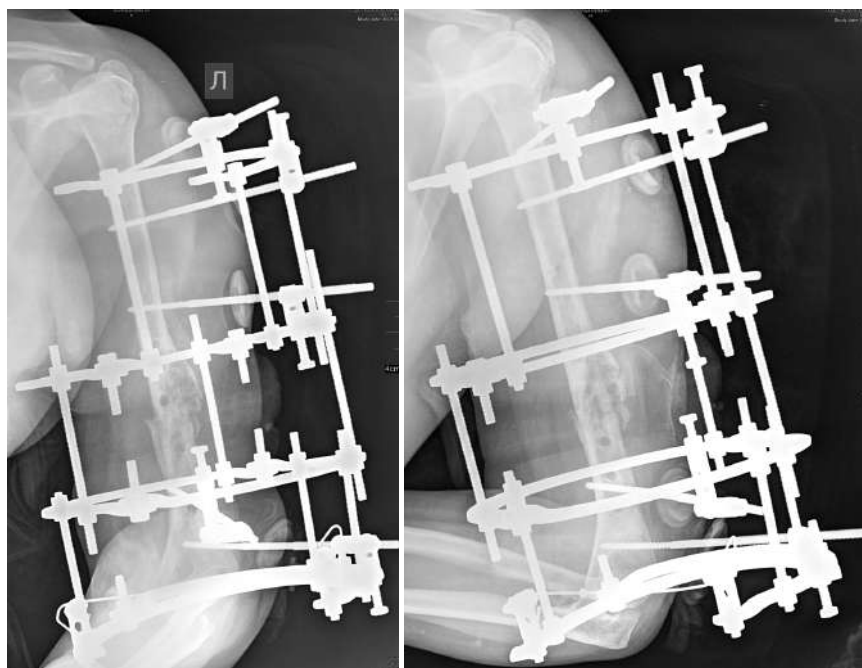


Рис. 2. Пациентка Д. Рентгенограммы левой плечевой кости после комбинированного чрескостного остеосинтеза, продольной кортикотомии зоны ложного сустава

Fig. 2. Patient D. X-ray scans of the left humerus after combined transosseous osteosynthesis, longitudinal corticotomy of the false joint area

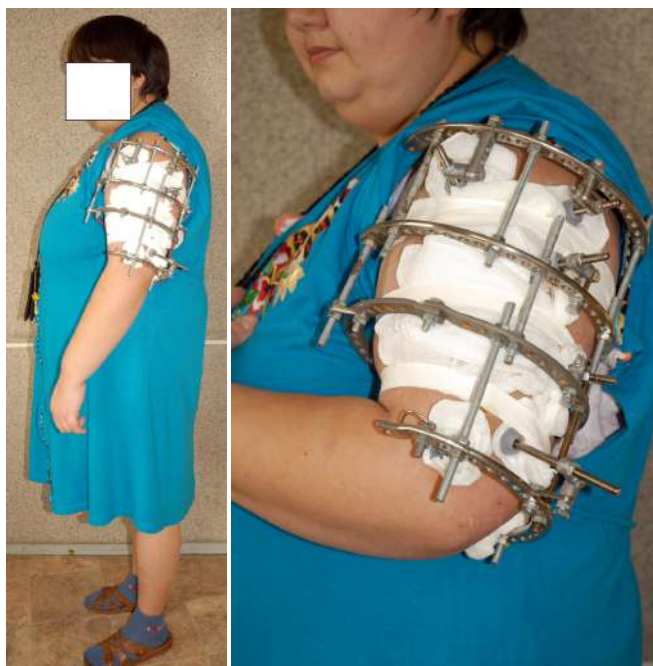


Рис. 3. Пациентка Д. в аппарате внешней фиксации. Функция движения в локтевом суставе

Fig. 3. Patient D. in an external fixation device. Elbow movement function



Рис. 4. Пациентка Д., рентгенограммы левой плечевой кости после демонтажа чрескостного аппарата

Fig. 4. Patient D., X-ray scans of the left humerus after removal of the external fixation device

Схема чрескостного остеосинтеза левой плечевой кости выглядит следующим образом:

II, 11, 90°; III, 9, 90° — IV, 9, 90° — ← VI, 8, 90° — VII, 8, 110°; VIII, 9-3
1/2 160 160 160 3/4 160

Послеоперационный период без особенностей. На 14-е сутки пациентка выписана из стационара на амбулаторное лечение (рис. 2, 3).

Пациентка наблюдалась амбулаторно по месту жительства. Срок фиксации в аппарате составил 164 дня. На момент прекращения фиксации двигательная функция левой верхней конечности восстановлена (рис. 4).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение комбинированного чрескостного остеосинтеза при лечении ложного сустава диафиза плечевой кости с соблюдением рекомендованных позиций для введения чрескостных элементов и оптимальной компоновки чрескостного аппарата позволяет стабильно фиксировать отломки на протяжении всего периода фиксации в чрескостном аппарате с возможностью сохранения функции движения в плечевом и локтевом суставах. Сочетание компрессии и продольной кортикотомии в зоне ложного сустава позволяет добиться ускоренной консолидации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Миронов С.П., Котельников Г.П. (ред.). *Травматология: национальное руководство*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2008.
2. Миронов С.П., Котельников Г.П. (ред.). *Ортопедия: национальное руководство*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2008.
3. Шумада И.В., Рыбчук О.И., Жила Ю.С. *Лечение ложных суставов и дефектов диафизов трубчатых костей*. К.: Здоров'я; 1985.

4. Балаян В.Д. *Лечение ложных суставов длинных костей конечностей с использованием стимуляции костеобразования в условиях стабильной фиксации*: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Саратов; 2011.

5. Губин А.В., Борзунов Д.Ю. Парадигма Илизарова. *Гений ортопедии*. 2012; (4): 5-9.

6. Шевцов В.И. Лечение ложных суставов трубчатых костей методом управляемого чрескостного остеосинтеза. *Гений ортопедии*. 1996; (4): 30-34.

7. Шевцов В.И., Макушин В.Д., Куфтырев Л.М. *Псевдоартрозы, дефекты длинных костей верхней конечности и контруктуры локтевого сустава (базовые технологии лечения аппаратом Илизарова)*. Курган: Зауралье; 2001.

8. Барабаш А.П., Гражданов К.А., Барабаш Ю.А., Балаян В.Д. Лечение последствий переломов диафиза плечевой кости с использованием различных методов стимуляции костеобразования в условиях стабильной фиксации отломков. *Гений ортопедии*. 2012; (2): 77-81.

9. Тишков Н.В. Чрескостный остеосинтез в лечении переломов костей голени с нарушениями репаративного процесса. *Научные достижения и современные технологии в Российской травматологии и ортопедии: Материалы Объединённой Всероссийской научно-образовательной конференции, посвящённой памяти профессора А.Н. Горячева, и VII научно-образовательной конференции травматологов и ортопедов ФМБА России*. 2017: 116-117.

10. Соломин Л.Н. (ред.). *Основы чрескостного остеосинтеза*. М.: БИНОМ; 2014.

11. Тишков Н.В., Пусева М.Э., Монастырев В.В., Михайлов И.Н., Пономаренко Н.С., Рудаков А.Н. *Комбинированный чрескостный остеосинтез переломов плечевой кости с нарушениями репаративного процесса: методические рекомендации по применению новой медицинской технологии*. Иркутск; 2019.

REFERENCES

1. Mironov SP, Kotelnikov GP. (ed.). *Traumatology: national guidelines*. Moscow: GEOTAR-Media; 2008. (In Russ.)

2. Mironov SP, Kotelnikov GP. (ed.). *Orthopedics: national guidelines*. Moscow: GEOTAR-Media; 2008. (In Russ.)
3. Shumada IV, Rybchuk OI, Zhila YuS. *Treatment of false joints and defects in the diaphysis of tubular bones*. Kiev: Zrrovje; 1985. (In Russ.)
4. Balayan VD. *Treatment of false joints of long bones using stimulation of bone formation under conditions of stable fixation: Abstract of the Dissertation of Cand. Sc. (Med.)*. Saratov; 2011. (In Russ.)
5. Gubin AV, Borzunov DYU. Ilizarov's paradigm. *Genij ortopedii*. 2012; (4): 5-9. (In Russ.)
6. Shevtsov V.I. Treatment of pseudoarthrosis of tubular bones using controlled transosseous osteosynthesis. *Genij ortopedii*. 1996; (4): 30-34. (In Russ.)
7. Shevtsov VI, Makushin VD, Kuftyrev LM. *Pseudoarthrosis, defects of the long bones of the upper limb and contractures of the elbow joint (basic treatment technologies using Ilizarov apparatus)*. Kurgan: Trans-Urals; 2001. (In Russ.)
8. Barabash AP, Grazhdanov KA, Barabash YuA, Balayan VD. Treatment of the consequences of fractures of the humerus diaphysis using various methods of stimulating bone formation under conditions of stable fixation. *Genij ortopedii*. 2012; (2): 77-81. (In Russ.)
9. Tishkov NV. Transosseous osteosynthesis in the treatment of lower limb fractures under conditions of reparative process disorders. *Nauchnye dostizheniya i sovremennye tekhnologii v Rossiyskoy travmatologii i ortopedii: Materialy Objedinennoy Vserossiyskoy nauchno-obrazovatel'noy konferentsii, posvyashchennoy pamyati professora A.N. Goryacheva, i VII nauchno-obrazovatel'noy konferentsii travmatologov i ortopedov FMBA Rossii*. 2017: 116-117. (In Russ.)
10. Solomin LN. (ed.). *Principles of transosseous osteosynthesis*. Moscow: BINOM; 2014. (In Russ.)
11. Tishkov NV, Puseva ME, Monastirev V., Mikhaylov IN, Ponomarenko NS, Rudakov AN. *Combined transosseous osteosynthesis of humerus fractures under conditions of reparative process disorders*. Irkutsk; 2019. (In Russ.)

Сведения об авторе

Тишков Николай Валерьевич – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий научно-клиническим отделом травматологии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: zdrav@iscst.ru

Information about the author

Nikolay V. Tishkov – Cand. Sc. (Med.), Docent, Head of the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: zdrav@iscst.ru

Статья получена: 27.10.2020. Статья принята: 18.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.
Received: 27.10.2020. Accepted: 18.11.2020. Published: 26.12.2020.

Лечение пациентов с повреждениями вращательной манжеты плеча (обзор литературы)

Меньшова Д.В., Кузлин И.А., Пономаренко Н.С.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Пономаренко Николай Сергеевич, e-mail: Ponomarenko-ns@mail.ru

Резюме

Доля повреждений вращательной манжеты плеча занимает одно из ведущих мест в структуре повреждений опорно-двигательного аппарата. История изучения данной патологии началась около 5 веков назад и продолжается по настоящее время. Однако попытки ввести общепринятую классификацию повреждений не увенчались успехом. С развитием научно-технического прогресса появилось множество методов консервативного и хирургического лечения. Среди консервативных методов лечения, направленных на уменьшение болевого синдрома и улучшение качества жизни, используются инъекции кортикостероидов, гиалуроновой кислоты, аутоплазматерапия. Но, к сожалению, данные методы лечения не направлены на восстановление функции плечевого сустава. Хирургические методы лечения повреждений вращательной манжеты разнообразны. Это и классическая реинсерция повреждённого сухожилия, и артроскопические методы лечения. При массивных разрывах осуществляют реконструктивно-пластические операции с переносом сухожилий подостной, малой круглой или широчайшей мышцы спины, а также используют аутотрансплантаты или аллотрансплантаты. Однако, несмотря на большое количество методов лечения, чёткие алгоритмы ведения пациентов с данной патологией отсутствуют и процент неудовлетворительных исходов лечения остаётся высоким.

Ключевые слова: вращательная манжета плеча, сухожилие надостной мышцы, массивные разрывы

Для цитирования: Меньшова Д.В., Кузлин И.А., Пономаренко Н.С. Лечение пациентов с повреждениями вращательной манжеты плеча (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 216-223. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.27.

Treatment of Patients with Rotator Cuff Injuries (Review of Literature)

Menshova D.V., Kuklin I.A., Ponomarenko N.S.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Nikolay S. Ponomarenko, e-mail: Ponomarenko-ns@mail.ru

Abstract

The proportion of injuries to the rotator cuff of the shoulder occupies one of the leading places in the structure of injuries to the musculoskeletal system. The history of the study of this pathology began about five centuries ago and continues to the present day. However, attempts to introduce a generally accepted classification of injuries have not been crowned with success. With the development of scientific and technological progress, many methods of conservative and surgical treatment have appeared. Among the conservative methods of treatment aimed at reducing pain and improving the quality of life, injections of corticosteroids, hyaluronic acid, and autoplasm therapy are used. But, unfortunately, these treatment methods are not aimed at restoring the function of the shoulder joint. Surgical treatments for rotator cuff injuries are varied. This includes both the classic reinsertion of the damaged tendon and arthroscopic treatments. In case of massive ruptures, reconstructive plastic surgery is performed with the transfer of the tendons of the infraspinatus, small round or latissimus dorsi muscle, and autografts or allografts are also used. However, despite the large number of treatment methods, there are no clear algorithms for managing patients with this pathology, and the percentage of unsatisfactory treatment outcomes remains high.

Key words: rotator cuff, supraspinatus tendon, massive ruptures

For citation: Menshova D.V., Kuklin I.A., Ponomarenko N.S. Treatment of Patients with Rotator Cuff Injuries (Review of Literature). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 216-223. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.27.

ВВЕДЕНИЕ

История изучения повреждений вращательной манжеты плеча началась около 5 веков назад. А. Везалий в XVI веке впервые описал и определил функции надостной, подостной и подлопаточной мышц и ввёл термин «вращатели плеча и играющие роль в поднятии плеча». [1]. Е. Duplay в 1872 г. впервые ввёл термин «плечелопаточный периартрит». По его мнению, это состояние возникало после острой травмы и было связано с повреждением сумки плечевого сустава. Duronea (1873), Pinguad и Charvot (1879) считали, что в основе боли лежит не травматическая теория, а ревматическая или неврогенная патология. С открытием рентгеновских лучей

в 1896 г. А. Stieda (1908) и G. Holzkecht (1912) выявили на рентгенограммах оссификаты вокруг большого бугорка плечевой кости. L. Wrede (1912) и S. Canale (1909) выявляли отложения кальция не только на рентгенограммах, но и во время оперативных вмешательств [2].

Большой вклад в изучение повреждений вращательной манжеты плеча внёс Е. Codman. В 1906 г. при обследовании пациентов он пришёл к выводу, что невозможность отвести руку связана с разрывами сухожилия надостной мышцы, а не с проблемами подакромиально-поддельтовидной сумки. Работая на кафедре анатомии, бостонский хирург описал строение подакромиальной сумки, а также дал название мышечному комплексу,

окружающему плечевой сустав, – «the musculotendinous rotator cuff of the shoulder». В 1906 и 1911 гг. E. Codman разделил болезненное плечо на четыре формы: I – гиперпагический синдром; II – замороженное плечо; III – синдром столкновения; IV – синдром утраты активных движений в плечелопаточном суставе или псевдопаралич. Четвёртая форма часто встречается при обширных разрывах ротаторной манжеты плеча. Данная классификация в настоящее время не утратила своей актуальности. В 1909 г. он успешно прооперировал двух пациентов с полными разрывами вращательной манжеты плеча, что подтверждало его теоретические рассуждения [3].

В 1931 г. A.W. Meyer предположил, что боль возникает из-за трения надостной и подостной мышц о нижнюю поверхность акромиального отростка лопатки [4]. J.R. Armstrong в 1949 г., полагаясь на теорию A.W. Meyer, предложил выполнять акромионэктомию, но данную операцию выполнил B. Diamond. По мнению некоторых авторов, данное оперативное вмешательство является травматичным. Так, H. McLaughlin и E. Asherman в 1951 г. предложили выполнять боковую акромионэктомию [5]. C.S. Neer в 1972 г., изучая сухожилия коротких ротаторов плеча, пришёл к выводу, что они вступают в конфликт с акромиальным отростком лопатки, ключично-акромиальным сочленением и клювовидно-акромиальной связкой. Данную патологию он назвал «импинджмент-синдром». При дальнейшем изучении данного синдрома, C.S. Neer выделил три стадии. Первая стадия характеризуется отёком и кровоизлиянием в ткани манжеты и поддельтовидно-подакромиальную сумку. Данная стадия характерна для пациентов младше 25 лет. Для второй стадии характерны необратимые изменения в виде фиброза и тендинита как следствие многократных механических воздействий. Характерный возраст пациентов – 25–40 лет. Третья стадия – нарушение целостности сухожилий вращательной манжеты – чаще затрагивает пациентов в возрасте старше 40 лет. Также C.S. Neer отметил, что возникновение «импинджмент-синдрома» возможно при наклоне передней части акромиального отростка. L.U. Bigliani et al. продолжили изучать формы отростка и выделили три типа: первый тип – прямой; второй тип – изогнутый; третий тип – крючковидный. Полные разрывы вращательной манжеты плеча определялись при крючковидной форме акромиона. J. Edelson и C. Taitz на основании своих исследований не выявили связи между формой акромиального отростка и повреждением сухожилий манжеты [6, 7, 8].

ЭТИОЛОГИЯ ПОВРЕЖДЕНИЙ ВРАЩАТЕЛЬНОЙ МАНЖЕТЫ ПЛЕЧА

Наиболее часто встречающийся механизм травмы повреждений вращательной манжеты плеча – это падение на вытянутую руку. В 84 % случаев повреждается надостная мышца, в 78 % – подлопаточная, в 39 % – подостная. В 22 % случаев глубина разрыва не превышает 3 см, в 36 % – составляет 3–5 см, в 42 % – более 5 см [9].

В литературе описана новая теория возникновения разрывов вращательной манжеты плеча – теория дегенерации-микротравматизации. Выявлена корреляция между возрастом пациентов и повреждением манжеты. S. Tempelhof обследовал 400 пациентов различного возраста, выполнив им УЗИ плечевого сустава. У обследованных лиц в возрасте 50–59 лет разрывы определялись

в 13 % случаев, в возрасте 60–69 лет – в 20 %, в возрасте 70–79 лет – в 31 %, в возрасте 80–89 лет – в 51 %. Гистологические исследования показали наличие дегенеративных изменений сухожилий, заключающихся в изменении синтеза коллагена, наличии гипоксии, окислительного стресса и нарушении кровообращения. При таких изменениях даже минимальная травма может привести к разрыву [10].

КЛАССИФИКАЦИЯ ПОВРЕЖДЕНИЙ ВРАЩАТЕЛЬНОЙ МАНЖЕТЫ ПЛЕЧА

В настоящее время не существует общепринятой классификации повреждений вращательной манжеты. Для диагностики боли в плечевом суставе в первую очередь применяют рентгенографию. В 1990 г. K. Hamada предложил рентгенологическую классификацию массивных разрывов вращательной манжеты плеча. В основе данной классификации лежит акромиогломерулярный интервал (AHI): I стадия – AHI > 6 мм; II стадия – AHI < 5 мм; III стадия – вогнутая деформация акромиона; IV стадия – вертлужная впадина сужена; V стадия – коллапс головки плечевой кости. Клиническая полезность данной классификации снизилась из-за появления МРТ-диагностики [11].

В 1977 г. C.S. Neer впервые предложил стадии патологических повреждений вращательной манжеты: стадия I – геморрагия и отёк; стадия II – фиброз; стадия III – разрыв манжеты. Данная классификация, основанная на гистологическом исследовании, не получила распространения [6, 7]. В 1982 г. R.H. Cofield предложил классифицировать повреждения вращательной манжеты в зависимости от размера повреждения: малые – менее 1 см, средние – от 1 до 3 см, большие – от 3 до 5 см, массивные – более 5 см [12]. В 1990 г. H. Ellman, учитывая недостатки классификации C. Neer, предложил свой вариант: 1-я степень – разрыв глубиной менее 3 мм; 2-я степень – от 3 до 6 мм; 3-я степень – более 6 мм. Также он считал, что 3-я степень характеризуется повреждением более 50 % сухожилия [13]. В 1990 г. D. Patte разработал две классификации в разных плоскостях: фронтальной и сагиттальной. Во фронтальной плоскости он выделил три стадии, зависящие от ретракции сухожилия: I стадия – культя сухожилия расположена около места прикрепления; II стадия – культя расположена на уровне головки плеча; III стадия – культя расположена на уровне гленоида. В сагиттальной плоскости D. Patte выделил 6 сегментов: 1-й сегмент – изолированное повреждение сухожилия подлопаточной мышцы; 2-й сегмент – изолированный разрыв клювовидно-плечевой связки; 3-й сегмент – изолированный разрыв сухожилия надостной мышцы; 4-й сегмент – полный разрыв надостной мышцы и частичный (1/2) разрыв сухожилия подостной мышцы; 5-й сегмент – полный разрыв сухожилий над- и подостной мышц; 6-й сегмент – полный разрыв сухожилий надостной, подостной и подлопаточной мышц гленоида [14].

В 1993 г. H. Ellman и G. Gartsman предложили классификацию по форме разрывов: серповидный, формы обратной L, L-образный, T-образный, массивный разрыв вращательной манжеты. Данная классификация характеризует массивные разрывы манжеты [13]. S. Snyder et al. предложили свою классификацию для частичных и полных повреждений манжеты: 0 степень – нормальное состояние; I степень – минимальное поверхностное раздражение со стороны синовиальной оболочки или бурсы

или небольшое разволокнение капсулы на небольшом участке (обычно менее 1 см); II степень – значительное разволокнение и повреждение некоторых волокон вращательной манжеты в дополнение к повреждению синовиальной оболочки, поверхности, обращенной к бурсе или капсулы (обычно менее 2 см); III степень – более тяжелое повреждение вращательной манжеты, включая разволокнение и фрагментацию сухожильных волокон, часто вовлекающее всю поверхность сухожилия (обычно менее 3 см); IV степень – очень тяжелое повреждение, при котором, наряду с разволокнением и фрагментацией ткани сухожилия, имеется лоскутный разрыв, часто распространяющийся на несколько сухожилий [15].

С распространением МРТ- и КТ-диагностики появились классификации по степени жировой дистрофии. В 1995 г. D. Goutallier опубликовал следующую классификацию: 0-я стадия – нормальная мышечная ткань; 1-я стадия – незначительные жировые прослойки; 2-я стадия – жировая дистрофия менее 50 %; 3-я стадия – жировая дистрофия составляет 50 %; 4-я стадия – жировая дистрофия более 50 % [13]. В 1996 г. H. Thomazeau et al. предложили классификацию жировой дистрофии надостной мышцы на основании картины МРТ: 1-я стадия – норма или незначительная атрофия (объем мышцы 60–100 %); 2-я стадия – умеренная атрофия (объем мышцы 40–60 %); 3-я стадия – тяжелая атрофия (объем мышцы менее 40 %) [16].

ДИАГНОСТИКА ПОВРЕЖДЕНИЙ ВРАЩАТЕЛЬНОЙ МАНЖЕТЫ ПЛЕЧА

Эффективность лечения пациентов с повреждением вращательной манжеты плеча во многом зависит от своевременной диагностики. Клиническое обследование пациента начинается со сбора анамнеза и физикального осмотра. Во время беседы необходимо обращать внимание на длительность заболевания, механизм повреждения, наличие травм или стрессовых нагрузок в анамнезе. Ведущий симптом, доставляющий беспокойство пациентам, – это боль. Во время клинического осмотра на фоне болевого синдрома могут снижаться сила и определяться ограничение движений в плечевом суставе. Основные диагностические тесты – тест Jobe (при разогнутом предплечье верхняя конечность пациента фиксируется в положении 90° отведения, 30° горизонтального сгибания и во внутренней ротации; врач оказывает сопротивление этому движению, создавая давление на проксимальный отдел плеча); тест падающей руки (врач отводит руку пациента до 120°, а затем просит пациента удержать её в таком положении и медленно опустить); тест отрыва Gerber (рука пациента заведена за спину и ротирована кнутри, кисть тыльной стороной прижата к спине; пациент старается оторвать кисть от спины кзади, преодолевая сопротивление врача); симптом горизонтального положения (при массивных повреждениях пациент не может самостоятельно отвести руку от туловища и удержать её в положении отведения) [17].

Золотым стандартом диагностики в травматологии и ортопедии является рентгенография. Рентгенографию плечевого сустава необходимо выполнять в передне-задней и аксиллярной проекциях, но для диагностики повреждений вращательной манжеты данный метод не специфичен [18]. При массивных разрывах манжеты по данным рентгенограмм можно измерить расстояние

от головки плечевой кости до акромиального отростка. В норме, по данным литературы, оно составляет 11 мм, уменьшение этого интервала менее чем до 6 мм указывает на наличие разрыва [19].

Наиболее информативными методиками диагностики являются УЗИ и МРТ плечевого сустава. Ультразвуковое исследование при патологии плечевого сустава несёт небольшую информативность. Данная методика является альтернативой при невозможности выполнения МРТ. Основными УЗИ-критериями разрывов вращательной манжеты плеча являются: тотальное или локальное отсутствие визуализации сухожилия; обширная гематома; фокальное истончение ротаторной манжеты. При диагностике полных разрывов выполнение УЗИ и МРТ обладает 100 % чувствительностью при специфичности 80 %, при частичных разрывах – 80 % чувствительностью при 84 % специфичности [20, 21].

В настоящее время наиболее информативным методом диагностики патологий плечевого сустава является магнитно-резонансная томография. Данный метод позволяет исследовать прежде всего мягкотканые структуры. Частичные повреждения вращательной манжеты плеча – это повреждения фиброзных волокон сухожилий. МРТ-картина демонстрирует участки гиперинтенсивного сигнала. Однако необходимо понимать, что при морфологических аномалиях происходит уменьшение толщины сухожилия. В таких ситуациях разрывы плохо поддаются диагностике из-за дифференциации дегенеративных изменений сухожилий от его разрыва. Полные повреждения характеризуются визуализацией нарушения целостности сухожилия, наличием жидкости, а также мышечной атрофией и замещением жировой тканью в зависимости от давности травмы. G. Sharma et al. в своём исследовании оценивали диагностическую ценность МРТ в выявлении разрывов вращательной манжеты, сопоставляя данные с данными артроскопии плечевого сустава. При полных повреждениях чувствительность составила 89,6 %, специфичность – 100 %, положительная прогностическая ценность – 100 %, отрицательная прогностическая ценность – 83,3 %. При частичных повреждениях чувствительность составила 100 %, специфичность – 86,6 %, положительная прогностическая ценность – 78,9 %, отрицательная прогностическая ценность – 100 %. Точность при полных повреждениях достигала 91,3 %, при частичных – 91,1 %. Данное исследование подтверждает высокую информативность МРТ-диагностики, но поскольку данный метод не входит в программу обязательного медицинского страхования, это снижает его доступность [22, 23, 24].

КОНСЕРВАТИВНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ПОВРЕЖДЕНИЙ ВРАЩАТЕЛЬНОЙ МАНЖЕТЫ ПЛЕЧА

Лечение пациентов с повреждением вращательной манжеты плеча можно разделить на консервативное и хирургическое. Основные определяющие факторы – это возраст и уровень активности. Для пациентов со свежими травматическими повреждениями и высоким уровнем активности показано оперативное лечение. Пациентам с застарелыми повреждениями, дегенеративными изменениями, низкой степенью активности и противопоказаниями к оперативному лечению можно проводить консервативную терапию. Консервативное лечение направлено на уменьшение болевого синдрома, улучшение

функциональных возможностей, восстановление объёма пассивных движений и, следовательно, на улучшение уровня жизни. В.А. Goldberg et al. провели анализ консервативной терапии 46 пациентов с полнослойными разрывами вращательной манжеты. Лечение состояло из обучения пациентов физическим упражнениям, направленным на укрепление мышц плечевого сустава. Средний срок наблюдения составил 2,5 года. 59 % пациентов отмечали улучшение, 30 % испытывали неудовлетворительные результаты и 11 % не отметили никаких изменений. В данном исследовании нет сравнительной когорты, следовательно, полученные результаты не являются точными [25].

В 1993 г. D.J. Bokor et al. опубликовали результаты неоперативного лечения 53 пациентов (средний возраст 62 года) с полными разрывами вращательной манжеты. Терапия включала приём нестероидных противовоспалительных препаратов, лечебную физкультуру и инъекции глюкокортикостероидов. Через 3 месяца после терапии 86 % пациентов отмечали удовлетворительный результат, через 6 месяцев терапии удовлетворены результатами были только 56 % пациентов. В данном исследовании отсутствуют данные о размерах повреждений сухожилий, интерпретация результатов недостаточно точная [26].

Группа исследователей MOON Shoulder Group наблюдала 452 пациентов с полнослойными разрывами ротаторной манжеты плеча в течение 2 лет. Пациентам проводился комплекс физических упражнений, направленных на активную тренировку мышц плечевого пояса, физиотерапия. Сроки обследования – 6 и 12 недель. 25 % пациентов отдали предпочтение хирургическим методам лечения в срок 6–12 недель. 75 % пациентов были удовлетворены лечением после 2 лет наблюдения. Недостаток данного исследования заключается в том, что не было проведено ни одного МРТ-исследования, что могло бы повысить уровень доказательности [27].

Ещё один способ консервативного лечения – это инъекции кортикостероидов в поддельтовидное пространство. Данный метод способствует облегчению боли и, как следствие, увеличению объёма движений. В 2002 г. V.D. Vad et al. в течение 2 лет изучали консервативное лечение кортикостероидами. Были набраны две группы пациентов. Одна группа получала инъекции стероидных препаратов в подакромиальное пространство, второй группе введение стероидов не осуществлялось. Было выяснено, что в группе пациентов с введением препаратов гормонов болевой синдром был ниже, и восстановление объёма движений происходило быстрее, чем в группе сравнения. 65 % пациентов из группы без введения стероидов были удовлетворены лечением, тогда как в первой группе наблюдения улучшение отмечали 74 % пациентов. Объём движений был одинаков в обеих группах, но в группе консервативной терапии с введением гормонов максимальный объём движений был достигнут через 5,3 месяца, а второй группе потребовалось больше времени – 9,3 месяца [28].

С.М. Alvarez et al. в 2005 г. опубликовали данные рандомизированного клинического обследования пациентов, в котором сравнивали результаты инъекций Ксилокаина и кортикостероидов (Бетаметазона) с результатами инъекции только Ксилокаина в поддельтовидное пространство у пациентов с хроническим тендинитом или частичными разрывами вращательной

манжеты плеча. В результате данных исследований они пришли к выводу, что обе группы исследования показали хороший результат в сравнении с исходным. Статистически значимых различий в данных группах отмечено не было. Это исследование поставило под сомнение использование инъекций кортикостероидов в лечении пациентов с разрывами вращательной манжеты [29]. Изучение субакромиальных инъекций кортикостероидов изучали на модели повреждений вращательной манжеты крыс. B. Tillander et al. оценивали эффекты повторных субакромиальных инъекций стероидов в дозе, эквивалентной человеческой, с интервалом в 1 неделю. В результате микро- и макроскопических исследований они пришли к выводу, что сухожилия после 3 инъекций не имели патологических изменений. После 5 инъекций в сухожилиях наблюдались морфологические изменения: макроскопически они становились белыми и менее гладкими, микроскопически в сухожилиях определялись зоны некроза и фрагментации коллагеновых волокон. A. Akpinar et al. также изучали влияние стероидов на модели крыс. В течение 8 недель с интервалом в 2 недели первой группе крыс они вводили метилпреднизолон, второй группе – бетаметазон, третьей группе – физиологический раствор. При исследовании сухожилий было отмечено, что в обеих группах после курса инъекций сухожилия были более мягкими и белыми, по сравнению с контрольной группой. Гистологически отмечались зоны некроза и фрагментации коллагеновых волокон. На основании данных исследований можно прийти к выводу, что длительное использование стероидов с коротким интервалом приводит к разрушению сухожилий [30].

В последние годы для лечения повреждений вращательной манжеты активно используется гиалуроновая кислота. Y. Shibata et al. провели рандомизированное исследование 78 пациентов и сравнивали эффект от субакромиальных инъекций гиалуроната натрия с эффектом от инъекций дексаметазона. Введение препаратов проводилось 1 раз в неделю в течение 5 недель. Срок наблюдения составил 6 месяцев. В группе лечения гиалуронатом натрия доля удовлетворительных результатов составила 39,5 %, в группе стероидов – 35 %. По сравнению с другими исследованиями, это низкая частота удовлетворительных результатов [31].

Новый способ консервативного лечения – богатая тромбоцитами плазма (PRP). V.C. Sengodan et al. пролечили 20 пациентов PRP-терапией под контролем УЗИ. Подсчёт результатов был основан на визуально-аналоговых шкалах. Исследование показало улучшение у 17 пациентов. Также у пациентов на 8-й неделе после лечения проводилось контрольное ультразвуковое исследование, которое показало хорошие результаты заживления. Однако данный анализ остаётся сомнительным, так как изучалась небольшая группа пациентов и отсутствовала группа сравнения [32].

ОПЕРАТИВНОЕ ЛЕЧЕНИЕ ПОВРЕЖДЕНИЙ ВРАЩАТЕЛЬНОЙ МАНЖЕТЫ ПЛЕЧА

В настоящее время существует большое количество различных хирургических методик по восстановлению целостности вращательной манжеты плеча. Первое оперативное лечение вращательной манжеты плеча было выполнено в 1911 г. A. Codman. По его мнению, вовремя установленный диагноз и проведённое хирургическое

лечение приводят к устранению боли и восстановлению функции сустава. A. Codman предложил для восстановления разрывов сухожилий вращательной манжеты проводить классическую реинсерцию открытым способом [3, 33]. J. Debeure в 1961 г. предложил свой способ лечения разрывов надостной мышцы. Он заключался в поднадкостничной мобилизации мышечного брюшка надостной мышцы и её перемещении для закрытия дефекта [34]. G. Ha'eri и A. Wiley в 1980 г. при анализе хирургического лечения 37 пациентов выявили 60 % удовлетворительных результатов. У пациентов, прооперированных по методике J. Debeure, отмечалось уменьшение болевого синдрома, но восстановления функции плечевого сустава не происходило [35]. D. Patte в 1974 г. и D. Goutallier в 1983 г. «дополнили» операцию J. Debeure перемещением подостной и малой круглой мышц. В 1972 г. R. Cofield закрывал дефект сухожилием подлопаточной мышцы. Исходы были удовлетворительными в 84,66 % случаев при лечении 26 пациентов. Данная методика являлась хорошим способом для закрытия обширных повреждений [2].

Начало артроскопических операций было положено в 1985 г., когда E.M. Goble и W.K. Somers разработали якорный фиксатор [36]. H. Ellman в 1987 г. описал артроскопическую технику акромиопластики. В настоящее время артроскопическое восстановление целостности сухожилий вращательной манжеты плеча занимает ведущее место в структуре хирургических способов лечения описываемой патологии [12]. Артроскопия плечевого сустава имеет ряд преимуществ: снижение травматизации ткани, минимализация доступа, уменьшение сроков нахождения в стационаре и косметический эффект [37]. Но, к сожалению, при наличии массивных разрывов вращательной манжеты выбор хирургического лечения вызывает трудности. В 1995 г. C.A. Rockwood et al. при лечении массивных разрывов вращательной манжеты плеча предложили выполнять артроскопический дебридмент с субакромиальной декомпрессией. Были прооперированы 50 пациентов. При наблюдении в течение 6,5 лет у 83 % из них наблюдались хорошие результаты, уменьшение боли и увеличение объёма движений [38]. Артроскопический дебридмент с субакромиальной декомпрессией стоит выполнять пациентам с сохранением движений в плечевом суставе, пожилым пациентам для уменьшения болевого синдрома. Данное оперативное вмешательство не направлено на восстановление функции сустава.

J.M. Fenlin et al. в 2002 г. разработали новый способ восстановления целостности вращательной манжеты плеча – туберопластику. Данное оперативное вмешательство направлено на создание конгруэнтности акромиально-плечевого сочленения, удаление оссификатов и изменение формы бугристости. В его исследовании принял участие 21 пациент, и в 95 % случаев были получены удовлетворительные результаты. 68 % пациентов отмечали уменьшение болевого синдрома [39]. В 2004 г. M. Scheibel et al. предложили артроскопическую туберопластику, которая была названа «обратной артроскопической субакромиальной декомпрессией». Авторами с использованием данного способа были пролечены 25 пациентов с удовлетворительными результатами, уменьшением болевого синдрома и восстановлением функций сустава [40]. В своём исследовании L. Verhelst et al. наблюдали 34 пациентов после туберопластики.

Отмечались удовлетворительные результаты, но длина акромиально-плечевого сочленения уменьшилась на 2,58 мм, а также увеличилась степень глено-плечевого остеоартрита [41]. На основании литературных данных можно прийти к выводу, что данная методика уменьшает болевой синдром, восстанавливает объём движений, но также может привести к уменьшению акромиально-плечевого интервала, что способствует миграции головки.

S. Burkhart et al. в 1997 г. провели эксперимент на 16 трупных плечевых суставах. Они искусственно создали разрывы сухожилий вращательной манжеты, затем сшили их обычной чрескостной методикой. Далее сшитые сухожилия подвергали нагрузкам с частотой 130 мм/с с силой 180 Н. В 100 % случаев отмечены повторные разрывы. После 25 циклов нагрузок отмечался дефект 5 мм, после 188 циклов – 10 мм. На основании своего эксперимента S. Burkhart et al. сделали вывод, что после циклических нагрузок сшитый сухожильный комплекс возвращается к своей прежней длине [42].

Для лечения пациентов с невосстановимыми массивными разрывами вращательной манжеты плеча были разработаны различные реконструктивные методики. Повреждение двух и более сухожилий или разрыв более 5 мм принято считать массивными. Массивные разрывы, осложнённые жировой дистрофией, дегенерацией или лизисом сухожилия, остеопорозом, требуют специальных хирургических методик. В 1988 С. Gerber et al. предложили методику переноса широчайшей мышцы спины на бугорок плечевой кости. У 14 пациентов с дефектом надостной и подостной мышц развился подвывих головки плеча, отсутствовали такие движения, как отведение и сгибание. Биомеханически суть операции заключается в том, что изменяется вектор силы, сухожилие широчайшей мышцы спины удерживает головку плечевой кости, даёт возможность дельтовидной мышце эффективно отвечать за отведение. Удовлетворительные результаты были получены у 28,57 % пациентов. В 1992 г. С. Gerber et al. прооперировали 16 пациентов и отметили у 80 % из них положительный эффект [43]. В настоящее время описано много спорных результатов после переноса широчайшей мышцы спины. Частота клинических неудач варьирует от 10 до 50 % [2, 33, 43, 44, 45].

Методика, которая не получила большого распространения, – это транспозиция большой грудной мышцы. Транспозиция большой грудной мышцы была впервые описана в 1997 г. M.A. Wirth и C.A. Rockwood. В исследовании A. Gavrilidis et al. пациенты, прооперированные с использованием транспозиции большой грудной мышцы, были повторно осмотрены через 37 месяцев. По данным МРТ-исследований у 15 % из них был установлен разрыв трансплантата. Сочетание разрывов подлопаточной и надостной мышцы обуславливало неблагоприятный исход лечения [46].

В настоящее время предпочтение отдаётся замещению дефектов аллотрансплантатами. Чаще всего используются аллотрансплантаты дермального матрикса (GraftJacket, Wright, Medical, Arlington и др.) Трансплантат крепится матрацными швами по границе ретрагированного сухожилия и латерально к анкерам. Трансплантат стимулирует регенерацию в мягких тканях [15]. В исследовании J.L. Bond et al. использовались аллотрансплантаты GraftJacket. У 15 из 16 пациентов были отмечены удовлетворительные исходы. Осложнений не наблюдалось.

Однако в исследовании не было контрольной группы сравнения, соответственно, данные результаты остаются спорными. Последние клинические рекомендации AAOS выступили против использования ксенотрансплантатов. По данным литературы, частота отторжения аллотрансплантатов составляет 36 % [47, 48].

Ещё один метод лечения массивных разрывов вращательной манжеты плеча – это использованием трансплантата широчайшей фасции бедра. Был проведён ретроспективный анализ 59 пациентов, прооперированных данной методикой. Повторный осмотр был проведён через 1 год после хирургического лечения. 70 % пациентов были удовлетворены результатами проведённого лечения [59]. Преимущество этого метода заключается в том, что отторжения аутоотрансплантатов происходят реже.

Также методикой выбора при неоперабельных массивных разрывах сухожилий вращательной манжеты является реверсивное эндопротезирование плечевого сустава. Но, по мнению некоторых авторов, эндопротезирование не подходит для лечения молодых и активных пациентов, так как существуют функциональные ограничения, а также происходит быстрое изнашивание эндопротеза, и, соответственно, возникает необходимость в повторных ревизионных оперативных вмешательствах [47].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ литературных данных показал, что, несмотря на революцию в области реконструктивной хирургии плечевого сустава, в настоящее время вопрос об оптимальной методике хирургического лечения невосстановимых массивных повреждений сухожилий вращательной манжеты плеча остаётся открытым.

ЛИТЕРАТУРА

1. Везалий А. *Эпитоме. Извлечение из своих книг о строении человеческого тела*. М.: Медицина; 1974.
2. Аскерко Э.А. *Практическая хирургия ротаторной манжеты плеча*. Витебск: БГМУ; 2005.
3. Codman EA. *The shoulder: Rupture of the supraspinatus tendon and other lesions in or about the subacromial bursa*. Boston: Thomas Todd Co.; 1934.
4. Meyer AW. The minute anatomy of attrition lesions. *J Bone Joint Surg*. 1931; 13: 341-348.
5. Armstrong JR. Excision of the acromion in treatment of the supraspinatus syndrome. Report of ninety-five excision. *J Bone Joint Surg*. 1949; 31B(3): 436-442.
6. Neer CS. Anterior acromioplasty for the chronic impingement syndrome in the shoulder: a preliminary report. *J Bone Joint Surg*. 1972; 54A: 41-50.
7. Neer CS II. Impingement lesions. *Clin Orthop*. 1983; (173): 70-77.
8. Bigliani LU, Ticker JB, Flatow EL, Soslowsky LJ, Mow VC. Relationship of acromial architecture and diseases of the rotator cuff. *Orthopade*. 1991; 20: 302-309.
9. Mall NA, Lee AS, Chahal J, Sherman SL, Romeo AA, Verma NN et al. An evidence-based examination of the epidemiology and outcomes of traumatic rotator cuff tears. *Arthroscopy*. 2013; 29(2): 366-376.
10. Nho SJ, Yadav H, Shindle MK, Macgillivray JD. Rotator cuff degeneration: etiology and pathogenesis. *Am J Sports Med*. 2008; 36: 987-993.
11. Brolin TJ, Updegrave GF, Horneff JG. Classifications in brief: Hamada classification of massive rotator cuff tears. *Clin Orthop Relat Res*. 2017; 475 (11): 2819-2823. doi: 10.1007/s11999-017-5340-7
12. Čičak N, Klobučar H, Medančić N. Rotator cuff injury. *Medicina Fluminensis*. 2015; 51(1): 7-17.
13. Ellman H. Diagnosis, and treatment of incomplete rotator cuff tears. *Clin Orthop Relat Res*. 1990; (254): 64-74.
14. Patte D. Classification of rotator cuff lesions. *Clin Orthop Relat Res*. 1990; 254: 81-86.
15. Джонсон Д.Г., Амендо А., Барбер Ф.А., и др. *Оперативная артроскопия*. М.: Издательство Панфилова; 2015.
16. Thomazeau H, Rolland Y, Lucas C, Duval JM, Langlais F. Atrophy of the supraspinatus belly. *Acta Orthop Scand*. 1996; 67(3): 264-268.
17. Букуп К. *Клиническое исследование костей, суставов и мышц. Тесты – симптомы – диагноз*. М.: Медицинская литература; 2007.
18. McConville OR, Iannotti JP. Partial thickness tears of the rotator cuff: evaluation and management. *J Am Acad Orthop Surg*. 1999; 7: 32-43.
19. Hamada K, Fukuda H, Mikasa M, et al. Roentgenographic findings in massive rotator cuff tears. A long-term observation. *Clin Orthop Relat Res*. 1990; 254: 92-96.
20. Еськин Н.А., Миронов С.П., Орлецкий А.К. Ультрасонография повреждений ротаторной манжеты. *Кремлевская медицина. Клинический вестник*. 2007; (1): 88-91.
21. Финк Л.И. *УЗИ-диагностика и МРТ в выявлении повреждений мягкотканых и костных структур плечевого сустава*: дис. ... канд. мед. наук. Томск; 2010.
22. Гажонова В.Е., Емельяненко М.В., Онищенко М.П., Соина Т.А., Абельцев В.П. Оптимизация лучевого алгоритма при патологии сухожилия надостной мышцы плечевого сустава. *Кремлевская медицина. Клинический вестник*. 2017; (3): 35-44.
23. Шаях А.Б.С. МРТ-диагностика повреждений вращательной манжеты плечевого сустава. *Радиология – практика*. 2002; (1): 32-35.
24. Sharma G, Bhandary S, Khandige G, Kabra U. MR imaging of rotator cuff tears: correlation with arthroscopy. *J Clin Diagn Res*. 2017; 11(5): TC24-TC27.
25. Goldberg BA, Nowinski RJ, Matsen FA. Outcome of non-operative management of full-thickness rotator cuff tears. *Clin Orthop Relat Res*. 2001; (382): 99-107.
26. Bokor DJ, Hawkins RJ, Huckell GH, Angelo RL, Schickendantz MS. Results of nonoperative management of full-thickness tears of the rotator cuff. *Clin Orthop Relat Res*. 1993; (294): 103-110.
27. Kuhn JE, Dunn WR, Sanders R, An Q, Baumgarten KM, Bishop JY, et al. Effectiveness of physical therapy in treating atraumatic full-thickness rotator cuff tears: a multicenter prospective cohort study. *J Shoulder Elbow Surg*. 2013; 10(5): 1150-1154.
28. Vad VD, Warren RF, Altchek DW, O'Brien SJ, Rose HA, Wickiewicz TL. Negative prognostic factors in managing massive rotator cuff tears. *Clin J Sport Med*. 2002; 12(3): 151-157.
29. Alvarez CM, Litchfield R, Jackowski D, Griffin S, Kirkley A. A prospective, double-blind, randomized clinical trial comparing subacromial injection of betamethasone and xylocaine to xylocaine alone in chronic rotator cuff tendinosis. *Am J Sports Med*. 2005; 33(2): 255-262.
30. Wei AS, Callaci JJ. The effect of corticosteroid on collagen expression in injured rotator cuff tendon. *J Bone Joint Surg Am*. 2006; 88(6): 1331-1338. doi: 10.2106/JBJS.E.00806
31. Shibata Y, Midorikawa K, Emoto G, Naito M. Clinical evaluation of sodium hyaluronate for the treatment of patients with rotator cuff tear. *J Shoulder Elbow Surg*. 2001; 10(3): 209-216. doi: 10.1067/mse.2001.113501
32. Fukuda H. Partial-thickness rotator cuff tears: a modern view on Codman's classic. *J Shoulder Elbow Surg*. 2000; 9(2): 163-168.
33. Архипов С.В., Кавалерский Г.М. *Плечо. Современные хирургические технологии*. М.: Медицина; 2009.
34. Макаревич Е.Р., Белецкий А.В. *Лечение поврежденной вращательной манжеты плеча*. Мн.: БГУ; 2001.
35. Haeri GB, Wiley AM. Shoulder impingement syndrome. Results of operative release. *Clin Orthop*. 1982; (68): 128-222.

36. Goble EM, Somers WK, Clark R, Olsen RE. The development of suture anchors for use in soft tissue fixation to bone. *Am J Sports Med.* 1994; 22: 236-239.

37. Van der Zwaal P, Thomassen BJW, Nieuwenhuijse MJ, Lindenburg R, Swen JWA, van Arkel ERA. Clinical outcome in all-arthroscopic versus mini-open rotator cuff repair in small to medium-sized tears: a randomized controlled trial in 100 patients with 1-year follow-up. *Arthroscopy.* 2013; 1(1): 1-8.

38. Rockwood CA Jr., Williams GR Jr., Burkhead WZ Jr. Debridement of degenerative, irreparable lesions of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg Am.* 1995; 77(6): 857-866.

39. Fenlin JM Jr., Chase JM, Rushton SA, Frieman BG. Tuberosplasty: creation of an acromioclavicular articulation-a treatment option for massive, irreparable rotator cuff tears. *J Shoulder Elbow Surg.* 2002; 11(2): 136-142.

40. Scheibel M, Lichtenberg S, Habermeyer P. Reversed arthroscopic subacromial decompression for massive rotator cuff tears. *J Shoulder Elbow Surg.* 2004; 13(3): 272-278.

41. Verhelst L, Vandekerckhove PJ, Sergeant G, Liekens K, Van Hoonacker P, Berghs B. Reversed arthroscopic subacromial decompression for symptomatic irreparable rotator cuff tears: mid-term follow-up results in 34 shoulders. *J Shoulder Elbow Surg.* 2010; 19(4): 601-608.

42. Кубашев А.А. Артроскопическое лечение повреждений вращательной манжеты плечевого сустава однократным и чрескостным швами: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2016.

43. Gerber C, Vinh TS, Hertel R, Hess CW. Latissimus dorsi transfer for the treatment of massive tears of the rotator cuff. A preliminary report. *Clin Orthop.* 1988; (323): 51-61.

44. Li X. Editorial commentary: Is it time to abandon the latissimus dorsi tendon transfer as a salvage procedure for patients with large irreparable rotator cuff tears that failed primary repair? *Arthroscopy.* 2020; 36(1): 95-98.

45. John R, Coady CM, Wong I. Revision of a failed latissimus dorsi transfer for a massive rotator cuff tear with arthroscopic anatomic bridging reconstruction using an acellular human dermal matrix allograft. *Arthrosc Tech.* 2019; 8(10): e1171-e1179. doi: 10.1016/j.eats.2019.06.007

46. Oh JH, Park MS, Rhee SM. Treatment strategy for irreparable rotator cuff tears. *Clin Orthop Surg.* 2018; 10: 119-134. doi: 10.4055/cios.2018.10.2.119

47. Bond JL, Dopirak RM, Higgins J, Burns J, Snyder SJ. Arthroscopic replacement of massive, irreparable rotator cuff tears using a GraftJacket allograft: technique and preliminary results. *Arthroscopy.* 2008; 24: 403-409.

48. Karuppaiah K, Sinha J. Scaffolds in the management of massive rotator cuff tears: current concepts and literature review. *EFFORT Open Rev.* 2019; 4(9): 557-566. doi: 10.1302/2058-5241.4.180040

49. Kokubu T, Mifune Y, Inui A, Kuroda R. Arthroscopic rotator cuff repair with graft augmentation of fascia lata for large and massive tears. *Arthrosc Tech.* 2016; 5(6): e1235-e1238.

REFERENCES

1. Vesalius A. *Epitome. Extract from own books about the structure of the human body.* Moscow: Meditstina; 1974. (In Russ.)

2. Askerko EA. *Practical surgery of rotator cuff.* Vitebsk: VGMU; 2005. (In Russ.)

3. Codman EA. *The shoulder: Rupture of the supraspinatus tendon and other lesions in or about the subacromial bursa.* Boston: Thomas Todd Co.; 1934.

4. Meyer AW. The minute anatomy of attrition lesions. *J Bone Joint Surg.* 1931; 13: 341-348.

5. Armstrong JR. Excision of the acromion in treatment of the supraspinatus syndrome. Report of ninety-five excision. *J Bone Joint Surg.* 1949; 31B(3): 436-442.

6. Neer CS. Anterior acromioplasty for the chronic impingement syndrome in the shoulder: a preliminary report. *J Bone Joint Surg.* 1972; 54A: 41-50.

7. Neer CS II. Impingement lesions. *Clin Orthop.* 1983; (173): 70-77.

8. Bigliani LU, Ticker JB, Flatow EL, Soslowsky LJ, Mow VC. Relationship of acromial architecture and diseases of the rotator cuff. *Orthopade.* 1991; 20: 302-309.

9. Mall NA, Lee AS, Chahal J, Sherman SL, Romeo AA, Verma NN et al. An evidence-based examination of the epidemiology and outcomes of traumatic rotator cuff tears. *Arthroscopy.* 2013; 29(2): 366-376.

10. Nho SJ, Yadav H, Shindle MK, Macgillivray JD. Rotator cuff degeneration: etiology and pathogenesis. *Am J Sports Med.* 2008; 36: 987-993.

11. Brolin TJ, Updegrave GF, Horneff JG. Classifications in brief: Hamada classification of massive rotator cuff tears. *Clin Orthop Relat Res.* 2017; 475 (11): 2819-2823. doi: 10.1007/s11999-017-5340-7

12. Čičak N, Klobučar H, Medančić N. Rotator cuff injury. *Medicina Fluminensis.* 2015; 51(1): 7-17.

13. Ellman H. Diagnosis, and treatment of incomplete rotator cuff tears. *Clin Orthop Relat Res.* 1990; (254): 64-74.

14. Patte D. Classification of rotator cuff lesions. *Clin Orthop Relat Res.* 1990; 254: 81-86.

15. Johnson DG, Amendo A, Barber FA, et al. *Operative arthroscopy.* Moscow: Izdatelstvo Panfilova; 2015. (In Russ.)

16. Thomazeau H, Rolland Y, Lucas C, Duval JM, Langlais F. Atrophy of the supraspinatus belly. *Acta Orthop Scand.* 1996; 67(3): 264-268.

17. Buckup K. *Clinical tests for the musculoskeletal system: Examinations – signs – phenomena.* Moscow: Meditstinskaya literatura; 2007. (In Russ.)

18. McConville OR, Iannotti JP. Partial thickness tears of the rotator cuff: evaluation and management. *J Am Acad Orthop Surg.* 1999; 7: 32-43.

19. Hamada K, Fukuda H, Mikasa M, et al. Roentgenographic findings in massive rotator cuff tears. A long-term observation. *Clin Orthop Relat Res.* 1990; 254: 92-96.

20. Eskin NA, Mironov SP, Orletskiy AK. Ultrasonography of rotator cuff injuries. *Kremlin Medicine Journal.* 2007; (1): 88-91. (In Russ.)

21. Fink LI. *Ultrasound diagnostics and MRI in detecting damage to the soft tissue and bone structures of the shoulder joint: Dissertation of Cand. Sc. (Med.).* Tomsk; 2010. (In Russ.)

22. Gazhonova VE, Emelyanenko MV, Onishchenko MP, Soina TA, Abeltsev VP. Optimization of the radiologic algorithm for pathology of the tendon of the supraspinatus muscle. *Kremlin Medicine Journal.* 2017; (3): 35-44. (In Russ.)

23. Shayakh ABS. MRI diagnostics of rotator cuff injuries. *Radiology – Practice.* 2002; (1): 32-35. (In Russ.)

24. Sharma G, Bhandary S, Khandige G, Kabra U. MR imaging of rotator cuff tears: correlation with arthroscopy. *J Clin Diagn Res.* 2017; 11(5): TC24-TC27.

25. Goldberg BA, Nowinski RJ, Matsen FA. Outcome of non-operative management of full-thickness rotator cuff tears. *Clin Orthop Relat Res.* 2001; (382): 99-107.

26. Bokor DJ, Hawkins RJ, Huckell GH, Angelo RL, Schickendantz MS. Results of nonoperative management of full-thickness tears of the rotator cuff. *Clin Orthop Relat Res.* 1993; (294): 103-110.

27. Kuhn JE, Dunn WR, Sanders R, An Q, Baumgarten KM, Bishop JY, et al. Effectiveness of physical therapy in treating atraumatic full-thickness rotator cuff tears: a multicenter prospective cohort study. *J Shoulder Elbow Surg.* 2013; 10(5): 1150-1154.

28. Vad VD, Warren RF, Altchek DW, O'Brien SJ, Rose HA, Wickiewicz TL. Negative prognostic factors in managing massive rotator cuff tears. *Clin J Sport Med.* 2002; 12(3): 151-157.

29. Alvarez CM, Litchfield R, Jackowski D, Griffin S, Kirkley A. A prospective, double-blind, randomized clinical trial comparing subacromial injection of betamethasone and xylocaine to xylocaine alone in chronic rotator cuff tendinosis. *Am J Sports Med.* 2005; 33(2): 255-262.

30. Wei AS, Callaci JJ. The effect of corticosteroid on collagen expression in injured rotator cuff tendon. *J Bone Joint Surg Am*. 2006; 88(6): 1331-1338. doi: 10.2106/JBJS.E.00806
31. Shibata Y, Midorikawa K, Emoto G, Naito M. Clinical evaluation of sodium hyaluronate for the treatment of patients with rotator cuff tear. *J Shoulder Elbow Surg*. 2001; 10(3): 209-216. doi: 10.1067/mse.2001.113501
32. Fukuda H. Partial-thickness rotator cuff tears: a modern view on Codman's classic. *J Shoulder Elbow Surg*. 2000; 9(2): 163-168.
33. Arkhipov SV, Kavalersky GM. *Shoulder. Modern surgical technologies*. Moscow: Meditsina; 2009. (In Russ.)
34. Makarevich ER, Beletsky AV. Treatment of rotator cuff injuries. Minsk: BGU; 2001. (In Russ.)
35. Ha'eri GB, Wiley AM. Shoulder impingement syndrome. Results of operative release. *Clin Orthop*. 1982; (68): 128-222.
36. Goble EM, Somers WK, Clark R, Olsen RE. The development of suture anchors for use in soft tissue fixation to bone. *Am J Sports Med*. 1994; 22: 236-239.
37. Van der Zwaal P, Thomassen BJW, Nieuwenhuijs MJ, Lindenburg R, Swen JWA, van Arkel ERA. Clinical outcome in all-arthroscopic versus mini-open rotator cuff repair in small to medium-sized tears: a randomized controlled trial in 100 patients with 1-year follow-up. *Arthroscopy*. 2013; 1(1): 1-8.
38. Rockwood CA Jr., Williams GR Jr., Burkhead WZ Jr. Debridement of degenerative, irreparable lesions of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg Am*. 1995; 77(6): 857-866.
39. Fenlin JM Jr., Chase JM, Rushton SA, Frieman BG. Tubero-plasty: creation of an acromioclavicular articulation—a treatment option for massive, irreparable rotator cuff tears. *J Shoulder Elbow Surg*. 2002; 11(2): 136-142.
40. Scheibel M, Lichtenberg S, Habermeyer P. Reversed arthroscopic subacromial decompression for massive rotator cuff tears. *J Shoulder Elbow Surg*. 2004; 13(3): 272-278.
41. Verhelst L, Vandekerckhove PJ, Sergeant G, Liekens K, Van Hoonacker P, Berghs B. Reversed arthroscopic subacromial decompression for symptomatic irreparable rotator cuff tears: mid-term follow-up results in 34 shoulders. *J Shoulder Elbow Surg*. 2010; 19(4): 601-608.
42. Kubashev AA. *Arthroscopic treatment of rotator cuff injuries with single-row and transosseous sutures*: Abstract of the Dissertation of Cand. Sc. (Med.). Moscow, 2016. (In Russ.)
43. Gerber C, Vinh TS, Hertel R, Hess CW. Latissimus dorsi transfer for the treatment of massive tears of the rotator cuff. A preliminary report. *Clin Orthop*. 1988; (323): 51-61.
44. Li X. Editorial commentary: Is it time to abandon the latissimus dorsi tendon transfer as a salvage procedure for patients with large irreparable rotator cuff tears that failed primary repair? *Arthroscopy*. 2020; 36(1): 95-98.
45. John R, Coady CM, Wong I. Revision of a failed latissimus dorsi transfer for a massive rotator cuff tear with arthroscopic anatomic bridging reconstruction using an acellular human dermal matrix allograft. *Arthrosc Tech*. 2019; 8(10): e1171-e1179. doi: 10.1016/j.eats.2019.06.007
46. Oh JH, Park MS, Rhee SM. Treatment strategy for irreparable rotator cuff tears. *Clin Orthop Surg*. 2018; 10: 119-134. doi: 10.4055/cios.2018.10.2.119
47. Bond JL, Dopirak RM, Higgins J, Burns J, Snyder SJ. Arthroscopic replacement of massive, irreparable rotator cuff tears using a GraftJacket allograft: technique and preliminary results. *Arthroscopy*. 2008; 24: 403-409.
48. Karuppaiah K, Sinha J. Scaffolds in the management of massive rotator cuff tears: current concepts and literature review. *EFFORT Open Rev*. 2019; 4(9): 557-566. doi: 10.1302/2058-5241.4.180040
49. Kokubu T, Mifune Y, Inui A, Kuroda R. Arthroscopic rotator cuff repair with graft augmentation of fascia lata for large and massive tears. *Arthrosc Tech*. 2016; 5(6): e1235-e1238.

Сведения об авторах

Меньшова Дарья Васильевна – аспирант, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: iscst@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1471-2482>

Куклин Игорь Александрович – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: iscst@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4733-9178>

Пonomarenko Николай Сергеевич – кандидат медицинских наук, научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: Ponomarenko-ns@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6210-3492>

Information about the authors

Darya V. Menshova – Postgraduate, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: iscst@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1471-2482>

Igor A. Kuklin – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: iscst@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4733-9178>

Nikolay S. Ponomarenko – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: Ponomarenko-ns@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6210-3492>

Статья получена: 05.11.2020. Статья принята: 23.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 05.11.2020. Accepted: 23.11.2020. Published: 26.12.2020.

Применение комбинированного остеосинтеза в практике травматолога при диафизарных повреждениях предплечья

Пусева М.Э.^{1,2}, Бутаев Ч.З.¹, Рудаков А.Н.¹

¹ ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия);

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

Автор, ответственный за переписку: Пусева Марина Эдуардовна, e-mail: puseva@rambler.ru

Резюме

В статье представлен опыт хирургического лечения редко встречающейся патологии верхней конечности – ложного сустава средней трети диафиза лучевой кости с дефектом костной ткани в сочетании с ложным суставом средней и нижней трети диафиза локтевой кости предплечья. Определение обоснованной и продуманной тактики лечения имеет большое значение при лечении пациентов, направленном на восстановление анатомии и функции поврежденной верхней конечности. Особенностью данного случая является формирование нескольких ложных суставов на разных уровнях костей предплечья, наличие костного дефекта 2,5 см, потребовавшего замещения его аутоотрансплантатом, и выполненного ранее оперативного вмешательства с применением чрескостного остеосинтеза. Примененная тактика оперативного лечения состояла из нескольких этапов: наkostный остеосинтез локтевой кости с выполнением вскрытия костномозговых каналов локтевой кости; замещение костного дефекта в зоне ложного сустава лучевой кости аутоотрансплантатом из гребня подвздошной кости с применением комбинированного напряжённого остеосинтеза в сочетании с чрескостным остеосинтезом. Результаты хирургического лечения ложных суставов и дефектов костной ткани зависят от правильно выбранной, согласно показаниям, тактики лечения и грамотного выполнения выбранной тактики лечения. Исползованная в данной клинической ситуации оперативная тактика лечения позволила создать условия для сращения отломков лучевой и локтевой костей, а также заместить дефект лучевой кости, в результате чего были успешно восстановлены анатомия и функция поврежденного сегмента.

Ключевые слова: напряжённый остеосинтез, чрескостный остеосинтез, ложный сустав, диастаз, костная аутопластика, лучевая кость, локтевая кость

Для цитирования: Пусева М.Э., Бутаев Ч.З., Рудаков А.Н. Применение комбинированного остеосинтеза в практике травматолога при диафизарных повреждениях предплечья. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 224-229. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.28.

Using Combined Osteosynthesis in Trauma Practice in the Treatment of Diaphyseal Forearm Injuries

Puseva M.E.^{1,2}, Butaev Ch.Z.¹, Rudakov A.N.¹

¹ Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation);

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

Corresponding author: Marina E. Puseva, e-mail: puseva@rambler.ru

Abstract

The article presents the experience of surgical treatment of a rare pathology of the upper limb – the pseudarthrosis of the middle third of the radial shaft with a bone defect in combination with the pseudarthrosis of the middle and lower third of the shaft of the ulna of the forearm. Determination of reasonable and well-considered treatment tactics is of great importance in the treatment of patients aimed at restoring the anatomy and function of the injured upper limb. A feature of this case is the formation of several false joints at different levels of the forearm bones, the presence of a bone defect of 2.5 cm, which required its replacement with an autograft, and a previously performed surgical intervention using transosseous osteosynthesis. The applied tactics of surgical treatment consisted of several stages: bone osteosynthesis of the ulna with opening of the medullary canals of the ulna; replacement of a bone defect in the area of the pseudarthrosis of the radius with an autograft from the iliac crest using combined stress osteosynthesis in combination with transosseous osteosynthesis. The results of surgical treatment of false joints and bone defects depend on the correct treatment tactics, according to the indications, and the correct implementation of the selected treatment tactics. The surgical tactics of treatment used in this clinical situation made it possible to create conditions for the fusion of fragments of the radius and ulna bones, as well as to replace the defect of the radius, as a result of which the anatomy and function of the damaged segment were successfully restored.

Key words: tension-band osteosynthesis, transosseous osteosynthesis, pseudarthrosis, diastasis, bone autoplasty, radius, ulna

For citation: Puseva M.E., Butaev Ch.Z., Rudakov A.N. Using Combined Osteosynthesis in Trauma Practice in the Treatment of Diaphyseal Forearm Injuries. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 224-229. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.28.

По данным литературы, доля переломов диафизов костей предплечья составляет от 17,5 до 68,2 % среди всех переломов верхней конечности [1]. Для переломов двухкостного сегмента характерно разнообразие смещений отломков (по длине, ширине, под углом и ротационные смещения), что усложняет лечение с применением любых технологий. Среди оперативных методик восстановления диафизарных переломов костей предплечья наиболее широко используется погружной остеосинтез. К недостаткам данного вида остеосинтеза относятся: травматичность, неуправляемость костных отломков в период реабилитации, косметический дефект, необходимость повторного вмешательства (удаление фиксатора, иногда – реостеосинтез) и увеличение риска инфекционных осложнений.

Также имеют место такие неблагоприятные последствия, как замедленная консолидация или несращение после оперативного лечения переломов диафизов предплечья – до 15–22 % случаев, среди которых в 23–71 % случаев на отдалённых сроках формируются ложные суставы, диастазы или происходит сращение в неправильном положении. Даже после повторного лечения у пациентов в 12–42 % случаев встречаются неудовлетворительные результаты в виде застарелых деформаций костей предплечья или несросшихся переломов и псевдоартрозов [2].

Чрескостный остеосинтез при лечении диафизарных переломов костей предплечья составляет не более 12%, хотя некоторые авторы считают, что потребность в нем больше, порядка 65% [3]. Однако применяемые в медицинской практике технологии чрескостного остеосинтеза ограничены не только трудоёмкостью его исполнения, требующей от хирургов мастерства, но и неудобством ухода и дискомфортом от аппарата внешней фиксации (АВФ), риском инфекционных осложнений, связанных с неправильным уходом за чрескостными фиксаторами, развитием контрактур в смежных с сегментом суставах из-за прохождения чрескостных элементов через мышцы и их нестабильности [4, 5]. Но в определённых клинических ситуациях выбор в пользу внеочагового чрескостного остеосинтеза очевиден: например, при открытом характере перелома, когда наличие в ране погружного фиксатора увеличивает риск возможности инфекционных осложнений, или при наличии необходимости динамического воздействия на область костных отломков для стимуляции замедленного сращения, что может обеспечить только чрескостный остеосинтез.

Целью работы является демонстрация успешного результата лечения ложного сустава диафиза лучевой и локтевой кости путём реконструкции предплечья с применением наkostного, чрескостного и напряжённого чрескостного остеосинтеза, дополненного свободной костной пластикой, после неблагоприятного результата лечения.

Новизна заключается в эффективном и обоснованном применении нескольких методик хирургического лечения: наkostный остеосинтез и чрескостный остеосинтез стержневой компоновки в сочетании с напряжённым чрескостным остеосинтезом, дополненным свободной костной пластикой аутоотрансплантатом из гребня подвздошной кости. Использование комплексного подхода привело к положительному результату и восстановлению анатомии и функции предплечья и возвращению пациента к трудовой деятельности.

Всё вышеизложенное поясняем клиническим примером.

Пациентка М., 36 лет, поступила в травматолого-ортопедическое отделение ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (ИНЦХТ) с диагнозом М84.1 Ложный сустав средней трети диафиза лучевой кости, средней и нижней трети диафиза локтевой кости левого предплечья. Аппарат внешней фиксации на предплечье и кисти слева, интрамедуллярные металлоконструкции. Комбинированная контрактура левого локтевого сустава. Остеопороз.

Жалобы при поступлении: на боли в левом предплечье, дискомфорт от наличия АВФ на предплечье, невозможность пользоваться левой верхней конечностью.

Из анамнеза: травма получена 15.07.2017 в результате ДТП. Пациентка была доставлена в городскую больницу по месту травмы с диагнозом: Открытый перелом костей левого предплечья. При поступлении выполнены первичная хирургическая обработка ран предплечья, комбинированный чрескостный остеосинтез костей левого предплечья, репозиция. Послеоперационный период протекал без особенностей на фоне первичного заживления кожных ран. Регулярно посещала контрольные осмотры. По месту проводимого лечения никаких манипуляций с АВФ левой верхней конечности не проводилось.

В ноябре 2017 г. (через 4 месяца с момента травмы и выполненной операции) пациентка самостоятельно обратилась в поликлинику ИНЦХТ по причине отсутствия динамики в сращении отломков лучевой и локтевой костей предплечья. На амбулаторном приёме установлен диагноз: Консолидирующийся в неправильном положении открытый фрагментарно-оскольчатый перелом костей левого предплечья, фиксация АВФ и интрамедуллярными спицами.

В плановом порядке после прохождения обязательного клинического обследования 24.01.2018 (через 6 месяцев со дня получения травмы) пациентка поступила в травматолого-ортопедическое отделение № 1 ИНЦХТ.

При осмотре левого предплечья: кожные покровы чистые, с наличием множественных рубцов розового цвета неправильной формы, размерами до 2,5 см, без признаков воспаления. Имеется гипотрофия мышц левого предплечья на протяжении до 1,0 см.

АВФ стабилен в режиме фиксации. Схема его монтажа:

Лучевая кость I,9,90 – II,2,90 – 2-5 пястные кости 2-8; 3-9
Локтевая кость I,6,90 II,7,90
 150 150 150

В местах выхода чрескостных элементов отделяемого нет. Движения в лучезапястном суставе отсутствуют, так как имеется подсистема АВФ на кисти. В локтевом суставе сгибание/разгибание 100/10/0 (ограничены проксимальной базой АВФ), ротационные движения отсутствуют, так как чрескостные элементы (спицы) фиксировали обе кости.

Заключение по результатам рентгенографии левого предплечья при поступлении: ложный сустав средней трети диафиза лучевой кости, средней и нижней трети диафиза локтевой кости левого предплечья. АВФ на предплечье и кисти слева, интрамедуллярные металлоконструкции. Регионарный остеопороз (рис. 1).

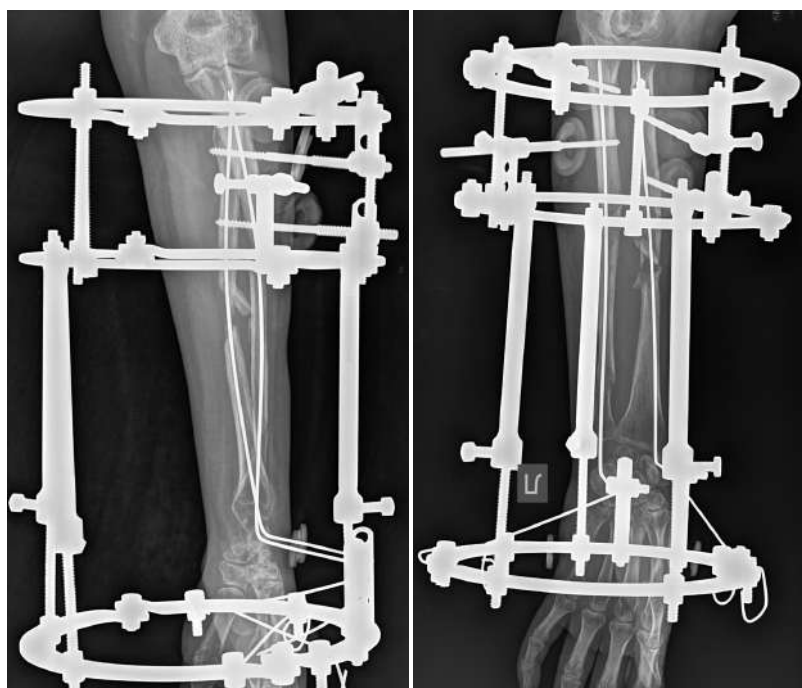


Рис. 1. Пациентка М. Рентгенограмма левого предплечья при поступлении
Fig. 1. Patient M. Preoperative X-ray scan of left forearm



Рис. 2. Пациентка М. Рентгенограмма левого предплечья после демонтажа аппарата внешней фиксации
Fig. 2. Patient M. X-ray scan of left forearm after removal of external fixation device

После клинито-рентгенологического обследования был установлен диагноз: М84.1 Ложный сустав средней трети диафиза лучевой кости, средней и нижней трети диафиза локтевой кости левого предплечья. Аппарат внешней фиксации на предплечье и кисти слева, интрамедуллярные металлоконструкции. Комбинированная контрактура левого локтевого сустава. Остеопороз.

После проведенного обсуждения пациентке в предоперационном периоде выполнен демонтаж

ранее установленного АВФ ввиду отсутствия репозиционных возможностей аппарата. После демонтажа АВФ определялась патологическая подвижность в области средней трети предплечья во всех плоскостях, сопровождающаяся болью. Выполнены гипсовая иммобилизация и контрольная рентгенография левого предплечья в стандартных проекциях (рис. 2).

Заключение рентгенографии левого предплечья после демонтажа АВФ: ложный сустав средней трети

диафиза лучевой кости, средней и нижней трети диафиза локтевой кости левого предплечья. Остеопороз.

После подготовки мягких тканей, заживления ран от удалённых чрескостных элементов выполнено оперативное лечение.

1-й этап – остеосинтез локтевой кости

Выполнен доступ к локтовому суставу средней трети диафиза локтевой кости, концы костных отломков неконгруэнтны. Произведена моделирующая резекция концов отломков до создания конгруэнтности, костномозговые каналы вскрыты, выполнены репозиция и остеосинтез пластиной с угловой стабильностью, имеющей 7 отверстий для винтов, под винты 3,5 мм. Пластина фиксирована к кости при помощи 6 винтов – по 3 винта в дистальный и проксимальный отломки. Остеосинтез стабилен. Из этого же доступа визуализировался консолидирующийся ложный сустав нижней трети диафиза локтевой кости, патологической подвижности не определялось. По тыльной поверхности диафиза локтевой кости этой зоны имелся дефект костной ткани до 1/4 окружности кости. Учитывая отсутствие патологической подвижности и малых размеров дефекта, от дополнительной фиксации решено воздержаться. С целью стимуляции регенерации нижней трети диафиза локтевой кости при помощи спицы $d = 1,0$ мм выполнены реваскуляризирующие перфорации краёв дефекта кости.

2-й этап – остеосинтез лучевой кости

Проекционным доступом с иссечением рубца визуализирована зона ложного сустава средней трети левой лучевой кости, выполнена его резекция. Дефект костной ткани составил 2,5 см. Для восстановления первоначальной длины лучевой кости и замещения её дефекта решено выполнить свободную костную аутопластику.

Из гребня подвздошной кости взят трансплантат размерами $2,5 \times 1,5 \times 1,0$ см, обработан, в нём сделан канал сверлом $d = 3,2$ мм.

По технологии комбинированного напряжённого остеосинтеза (КНО) [6] выполнен остеосинтез лучевой кости с замещением дефекта аутоотрансплантатом. Через дистальный отломок лучевой кости ретроградно проведена спица, имплантирован аутоотрансплантат, спица выведена в проксимальной трети проксимального отломка лучевой кости. Установлена подсистема для КНО на лучевой кости

VIII,11,90

$\frac{1}{2}$ 140

Спица фиксирована к подсистеме в дистракционном зажиме, дана компрессия в зоне контакта отломков лучевой кости с аутоотрансплантатом путём натяжения осевой спицы.

На лучевой кости смонтирован АВФ по схеме:

VIII,7,90; III,6,90

$\frac{1}{6}$ 160 $\frac{1}{6}$ 160

Подсистема КНО лучевой кости соединена при помощи резьбовых штанг с АВФ лучевой кости. Дана компрессия в АВФ [6, 7].

Таким образом, выполнен сочетанный остеосинтез повреждения диафиза обеих костей левого предплечья (рис. 3).

В послеоперационном периоде на амбулаторном этапе выполнялись перевязки мест выхода чрескостных элементов с обработкой 70% раствором спирта через день. Швы сняты на 14-е сутки с момента операции. В течении 4 недель выполнялась иммобилизация косыночной повязкой, была рекомендована изометрическая гимнастика пальцев кисти.



Рис. 3. Пациентка М. Рентгенограмма левого предплечья после операции

Fig. 3. Patient M. Postoperative X-ray scan of left forearm

Пациентка регулярно (1 раз в месяц) посещала контрольные осмотры, на которых выполнялась поддерживающая компрессия по осевой спице и по штангам АВФ в зоне консолидирующегося аутотрансплантата лучевой кости на 1 мм.

С 5-й недели фиксации в АВФ пациентка начала разработку движений в лучезапястном, локтевом суставах и ротационные движения предплечья.

Амплитуда движений в смежных суставах после 3 месяцев фиксации в АВФ составила: в локтевом суставе 100/10/0; в лучезапястном суставе – 35/0/0, ротация – 40/0/15, схват кисти полный.

Через 6 месяцев фиксации выполнен демонтаж АВФ и подсистемы КНО лучевой кости и удаление металлоконструкции локтевой кости. Выполнена рентгенография левого предплечья.

Заключение рентгенографии левого предплечья: Консолидированный аутотрансплантат средней трети диафиза левой лучевой кости. Консолидированный ложный сустав средней и нижней трети диафиза левой локтевой кости. Регионарный остеопороз (рис. 4).



Рис. 4. Пациентка М. Рентгенограмма левого предплечья после демонтажа АВФ и удаления металлоконструкций

Fig. 4. Patient M. X-ray scan of left forearm after removal of external fixation device and hardware

Амплитуда в смежных суставах после демонтажа АВФ: в локтевом суставе 140/5/0; в лучезапястном суставе – 35/0/20, ротация 80/0/25, схват кисти полный.

Таким образом, комбинация нескольких технологий: накостного, чрескостного остеосинтеза с применением костной пластики, – позволила восстановить анатомию и функцию повреждённого двухкостного сегмента. Современные технологии чрескостного остеосинтеза позволяют выполнять не только первичную стабилизацию переломов, как было представлено в клиническом случае, но и реконструктивные операции с применением аутотрансплантатов с целью замещения костных дефектов. В хирургической практике не следует пренебрегать возможностью комбинировать хирургические технологии, которые ошибочно считаются взаимоисключающими.

ЛИТЕРАТУРА

1. Левченко К.К., Бейдик О.В., Карнаев Х.С., Лукпанова Т.Н., Шоломова Е.И. Чрескостный остеосинтез диафизарных переломов костей предплечья. *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2008; 2(20): 105-109.
2. Грубер Н.М., Цой И.В. Возможные осложнения хирургического лечения переломов костей предплечья и способы их коррекции. *Практическая медицина*. 2013; 1-2(69): 45-47.
3. Ли А.Д., Баширов Р.С. *Руководство по чрескостному компрессионно-дистракционному остеосинтезу*. Томск: Красное знамя; 2002.
4. Бейдик О.В., Анников В.В., Трошкин Ю.В., Левченко К.К., Афанасьев Д.В., Голобурдин Ю.В. Экспериментальное обоснование применения стержневого чрескостного остеосинтеза трубчатых костей. *Морфофункциональные аспекты регенерации и адаптационной дифференцировки структурных компонентов опорно-двигательного аппарата в условиях механического воздействия: Материалы международной научно-практической конференции*. Курган; 2004: 40-42.
5. Пусева М.Э., Михайлов И.Н., Бутаев Ч.З., Рудаков А.Н. Ложный сустав диафиза лучевой кости в сочетании с застарелыми вывихами головок лучевой и локтевой костей (клинический случай). *Травматология и ортопедия России*. 2013; 4(70): 80-84.
6. Соломин Л.Н. *Основы чрескостного остеосинтеза аппаратом Г.А. Илизарова*. СПб.: МОР-САР АВ; 2005.
7. Барабаш А.П., Соломин Л.Н. *Комбинированный напряженный остеосинтез*. Благовещенск; 1992.

REFERENCES

1. Levchenko KK, Beydik OV, Karneyev KhS, Lukpanova TN, Sholomova EI. Transosseous osteosynthesis of diaphyseal fractures of the forearm bones. *Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2008; 2(20): 105-109. (In Russ.)
2. Gruber NM, Tsoi IV. Possible complications of surgical treatment of forearm fractures and methods of their correction. *Practica Medicine*. 2013; 1-2(69): 45-47. (In Russ.)
3. Li AD, Bashirov RS. *Guidelines for transosseous compression-distraction osteosynthesis*. Tomsk: Krasnoye znamya; 2002. (In Russ.)
4. Beydik OV, Annikov VV, Troshkin YuV, Levchenko KK, Afanasyev DV, Goloburdin YuV. Experimental validation of using nail transosseous osteosynthesis of tubular bones. *Morfofunktsional'nye aspekty regeneratsii i adaptatsionnoy differentsirovki strukturnykh komponentov oporno-dvigatel'nogo apparata v usloviyakh mekhanicheskogo vozdeystviya: Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii*. Kurgan; 2004: 40-42. (In Russ.)
5. Puseva ME, Mikhaylov IN, Butaev ChZ, Rudakov AN. False joint of the radial shaft in combination with chronic dislocations of the radial and ulna heads (clinical case). *Traumatology and Orthopedics of Russia*. 2013; 4(70): 80-84. (In Russ.)
6. Solomin LN. *Basic principles of transosseous osteosynthesis using Ilizarov device*. Saint Petersburg: MOR-SAR AV; 2005. (In Russ.)
7. Barabash AP, Solomin LN. *Combined tension-band osteosynthesis*. Blagoveshchensk; 1992. (In Russ.)

Сведения об авторах

Бутаев Чингиз Захирович – младший научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, врач травматолог-ортопед травматолого-ортопедического отделения № 1, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: chingiz-2307@mail.ru

Пусева Марина Эдуардовна – кандидат медицинских наук, доцент, заведующая травматолого-ортопедическим отделением № 1, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; доцент кафедры травматологии, ортопедии и нейрохирургии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: puseva@rambler.ru

Рудаков Алексей Николаевич – врач травматолог-ортопед травматолого-ортопедического отделения № 1, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: Stalker_38@mail.ru

Information about the authors

Chingiz Z. Butaev – Junior Research Officer at the Clinical Research Department of Traumatology, Trauma Orthopaedist at the Unit of Traumatology and Orthopedics N 1, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: chingiz-2307@mail.ru

Marina E. Puseva – Cand. Sc. (Med), Docent, Head of the Unit of Traumatology and Orthopedics N 1, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Associate Professor at the Department of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: puseva@rambler.ru

Aleksey N. Rudakov – Trauma Orthopaedist at the Unit of Traumatology and Orthopedics N 1, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: Stalker_38@mail.ru

Статья получена: 03.11.2020. Статья принята: 23.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 03.11.2020. Accepted: 23.11.2020. Published: 26.12.2020.

Применение нового способа подготовки аутооттрансплантата для пластики передней крестообразной связки

Леонова С.Н., Монастырёв В.В., Пономаренко Н.С.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Монастырёв Василий Владимирович, e-mail: vasyliy.monastyrev@gmail.com

Резюме

Важным этапом артроскопической пластики передней крестообразной связки является подготовка аутооттрансплантата.

Цель исследования. Оценить ближайшие результаты применения нового способа подготовки аутооттрансплантата при пластике передней крестообразной связки.

Материалы и методы. Проанализированы результаты лечения 28 пациентов с застарелым полным травматическим разрывом передней крестообразной связки (средний возраст пациентов $27,5 \pm 6,66$ года). Артроскопическая пластика передней крестообразной связки у 18 пациентов была выполнена по технологии All-inside с использованием системы фиксации Tightrope «Arthrex». У 10 пациентов хирургическое лечение проводилось по аналогичной технологии, отличие составляло лишь способ подготовки аутооттрансплантата. Способ включал предварительное определение необходимой для каждого конкретного пациента толщины и длины аутооттрансплантата. Необходимая толщина аутооттрансплантата была равна расстоянию между медиальным и латеральным межмышечковыми бугорками межмышечкового возвышения большеберцовой кости. Необходимую длину аутооттрансплантата получают при сложении расстояния между точками прикрепления передней крестообразной связки к большеберцовой и бедренной костям с длинами высверливаемых костных каналов для фиксации аутооттрансплантата, минус 5 мм, учитываемых на растяжение аутооттрансплантата при его фиксации. Затем выполняют забор аутосухожилий полусухожильной и тонкой мышцы на общей сухожильной ножке и формируют аутооттрансплантат необходимых для пациента размеров.

Результаты. Сравнение ближайших результатов артроскопической пластики передней крестообразной связки по таким критериям, как сохранение болевого синдрома, синовиты коленного сустава, ограничение объема движений в коленном суставе, ощущение нестабильности коленного сустава, разрывы и отрывы аутооттрансплантата, неудовлетворенность пациентов результатами лечения, показало клиническую эффективность предложенного способа подготовки аутооттрансплантата.

Заключение. Новым явился индивидуальный расчёт необходимых для конкретного пациента размеров аутооттрансплантата, что позволило улучшить клинические результаты.

Ключевые слова: передняя крестообразная связка, способ подготовки аутооттрансплантата, артроскопическая пластика

Для цитирования: Леонова С.Н., Монастырёв В.В., Пономаренко Н.С. Применение нового способа подготовки аутооттрансплантата для пластики передней крестообразной связки. *Acta biomechanica scientifica*. 2020; 5(6): 230-234. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.29.

Using a New Method for Preparing an Autograft for Anterior Cruciate Ligament Plasty

Leonova S.N., Monastyrev V.V., Ponomarenko N.S.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Vasily V. Monastyrev, e-mail: vasyliy.monastyrev@gmail.com

Abstract

Background. Currently, work continues to improve the methods of arthroscopic reconstruction of the anterior cruciate ligament with an autograft, aimed at reducing the risk of postoperative failure.

Aim of the study. To assess the immediate results of using a new method of preparing an autograft for anterior cruciate ligament plasty.

Materials and methods. The analysis of the results of surgical treatment of 28 patients with old complete traumatic rupture of the anterior cruciate ligament, who were treated in the Department of traumatology and orthopedics of the Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, was carried out. The patients were men aged 18 to 40 years. The common thing for all patients was the All-inside arthroscopic plasty of the anterior cruciate ligament.

Two groups of patients were formed depending on the method of preparation of the autograft. The first group consisted of 18 patients in whom a well-known technique was used, including the formation of a four-bundle autograft from one tendon of the semitendinosus muscle. In 10 patients of the second group, a new method of preparing an autograft was used, including the stage of preliminary determination of the required length and thickness of the autograft, and the stage of forming an autograft from the tendon of the semitendinosus and gracilis muscles on the common tendon pedicle.

Results. Comparative analysis of the immediate results of arthroscopic plasty of the anterior cruciate ligament with an autograft in case of its old complete traumatic injury revealed a significantly lower number of undesirable consequences when using a new method of preparing an autograft. In two cases, persistence of the pain syndrome associated with arthritic changes in the joint was observed, in one patient there was a restriction of movements in the knee

joint, no synovitis, a sensation of instability of the knee joint, ruptures and detachments of the autograft were found. All patients were satisfied with the achieved result.

Conclusion. A new method of preparing an autograft for plasty of the anterior cruciate ligament allows achieving anatomical reconstruction of the anterior cruciate ligament, optimal function of the knee joint, reducing pain, significantly reducing the risk of developing knee instability, ruptures and abruptions of the autograft in the postoperative period due to an individual approach, increasing the strength of the autograft and the strength of its fixation in the bone canals.

Key words: anterior cruciate ligament, method for preparing an autograft, arthroplasty

For citation: Leonova S.N., Monastyrev V.V., Ponomarenko N.S. Using a New Method for Preparing an Autograft for Anterior Cruciate Ligament Plasty. *Acta biomecnica scientifica*. 2020; 5(6): 230-234. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.29.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время продолжается работа по усовершенствованию способов артроскопического восстановления передней крестообразной связки (ПКС) аутоотрансплантатом, направленная на снижение риска развития послеоперационных неудач. Итогом проводимых исследований является решение определённых проблем, связанных с: выбором аутосухожилий; прочностью и размерами аутоотрансплантатов; формированием костных каналов для аутоотрансплантата и их позиционированием; прочностью фиксации трансплантата в костных каналах; выбором фиксаторов и др. [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7].

Важный этап, от которого зависят результаты хирургического лечения повреждений передней крестообразной связки, – это подготовка аутоотрансплантата. Ставя перед собой задачу анатомического восстановления передней крестообразной связки, мы разработали и применили в клинике новый способ подготовки аутоотрансплантата для пластики передней крестообразной связки.

Цель работы: оценить ближайшие результаты применения нового способа подготовки аутоотрансплантата при пластике передней крестообразной связки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под нашим наблюдением находились 28 пациентов с застарелым полным травматическим разрывом передней крестообразной связки, проходивших лечение в травматолого-ортопедическом отделении ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии». Все пациенты были мужчины в возрасте от 18 до 40 лет (средний возраст $27,5 \pm 6,66$ года).

В исследование не были включены пациенты: с сопутствующими повреждениями других связочных структур коленного сустава; с деформирующим артрозом коленного сустава 2-й и более степени; со свежими повреждениями передней крестообразной связки; с давностью травмы более 1 года.

Обязательным методом обследования для всех пациентов являлась рентгенография повреждённого коленного сустава в двух проекциях, которая выполнялась на аппарате DX-D 300 (Agfa, Бельгия) до и после операции. По рентгенограммам определяли целостность костных структур, наличие и степень деформирующего артроза, контролировали расположение фиксаторов аутоотрансплантата. Также пациентам выполнялась магнитно-резонансная томография (МРТ) коленного сустава на магнитно-резонансном томографе Magnetom Espree (Siemens, Германия), которая позволяла в дооперационном периоде определить повреждение ПКС и других структур коленного сустава. По МРТ в послеоперационном периоде проводилась оценка расположения и целостности аутоотрансплантата, диаметра костных каналов, лизиса вокруг аутоотрансплантата.

Общим для всех пациентов было выполнение артроскопической пластики передней крестообразной связки по технологии All-inside с ретроградным рассверливанием каналов в бедренной и большеберцовой костях и использованием системы фиксации Tightrope (Arthrex, Германия). Забор аутосухожилий выполняли из заднемедиального доступа в подколенной области, а при формировании аутоотрансплантата по краям прошивали каждый пучок сухожилия обвивным швом. В послеоперационном периоде обязательно выполнялась фиксация конечности ортезом и проводился курс реабилитации.

В зависимости от методики подготовки аутоотрансплантата были сформированы две группы пациентов. Первую группу составили 18 пациентов с застарелым полным разрывом передней крестообразной связки (средний возраст $27,5 \pm 6,6$ года, давности травмы $5,8 \pm 3,49$ месяца), которым выполнялась пластика передней крестообразной связки по известной методике [5, 6, 7], включающей формирование аутоотрансплантата из одного сухожилия полусухожильной мышцы, сложенного в четыре пучка, и последующее просверливание костных каналов по размерам полученного аутоотрансплантата. У 10 пациентов второй группы с застарелым полным разрывом передней крестообразной связки (средний возраст $30,5 \pm 6,6$ года, давность травмы $7,38 \pm 3,49$ месяца) для пластики ПКС был использован новый способ подготовки аутоотрансплантата (патент № 2727744 от 16.04.2020), включающий следующие несколько этапов.

Первый этап – определение необходимой длины и толщины аутоотрансплантата

Во время артроскопии культю повреждённой передней крестообразной связки удаляют полностью при помощи шейвера или холодноплазменного аблятора, отмечают точки её прикрепления к бедренной и большеберцовой костям для высверливания по ним костных каналов.

Затем из полости сустава определяют необходимые толщину и длину аутоотрансплантата для пластики передней крестообразной связки. Необходимая толщина аутоотрансплантата определяется как расстояние между медиальным и латеральным межмыщелковыми бугорками межмыщелкового возвышения большеберцовой кости (1).

Для определения необходимой длины аутоотрансплантата через сквозной канал в большеберцовой кости измеряют внутрисуставное расстояние между точками прикрепления передней крестообразной связки к большеберцовой и бедренной кости (2). От точек прикрепления передней крестообразной связки рассверливают каналы для фиксации аутоотрансплантата: в большеберцовой кости (3) длиной 30 мм, в бедренной кости (4) – длиной 25 мм, диаметр каналов на 0,5 мм меньше необходимой толщины аутоотрансплантата (рис. 1).

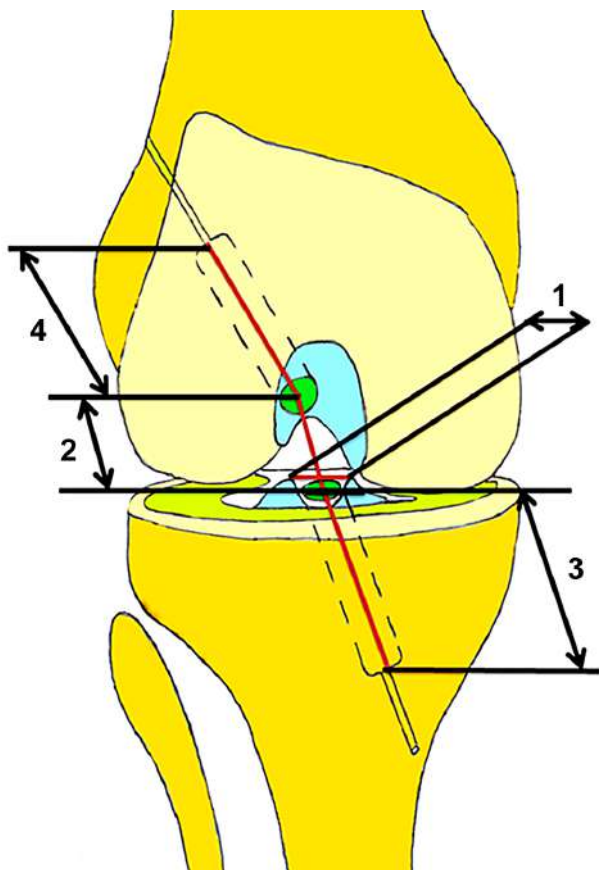


Рис. 1. Схема расчёта необходимой длины и толщины ауто трансплантата

Fig. 1. Scheme for calculating the required length and thickness of the autograft

К расстоянию между точками прикрепления передней крестообразной связки к большеберцовой и бедренной костям (2) прибавляют длины высверливаемых костных каналов для фиксации ауто трансплантата (3 и 4), отнимают 5 мм, учитываемых на растяжение ауто трансплантата при его фиксации, и получают необходимую длину ауто трансплантата.

Второй этап – формирование ауто трансплантата передней крестообразной связки

После определения индивидуальных для каждого пациента необходимых размеров ауто трансплантата передней крестообразной связки приступают к забору ауто сухожилий. Для этого выполняют доступ по задне-медиальной поверхности в подколенной области, выделяют сухожилие полусухожильной и тонкой мышц. После отсечения проксимальной части каждого сухожилия от мышцы проводят их в тенотом, который перемещают в дистальном направлении, и одновременно отсекают оба сухожилия вместе с общей сухожильной ножкой от большеберцовой кости. Из образованного единого длинного сухожилия формируют ауто трансплантат с предварительно определённой необходимой длиной и толщиной.

Получение необходимой длины сухожильного ауто трансплантата осуществляют во время складывания сухожилия в пучки при помощи измерительной линейки и натяжения держателей на препаровочном столике. Для контроля получения необходимой толщины ауто тран-

сплантата используют измеритель, проводя сложное в пучки сухожилие через отверстие заданного диаметра.

Затем выполняют пластику передней крестообразной связки сформированным ауто трансплантатом.

Результаты лечения всех исследуемых пациентов были оценены через 3 месяца после операции.

Статистическая обработка количественных данных выполнялась при помощи программы Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). При сравнительном анализе полученных результатов между группами определяли среднюю арифметическую величину (M) и стандартное отклонение ($\pm$ SD), использовали t-критерий Стьюдента. Критический уровень значимости $p < 0,05$.

Исследование одобрено комитетом по этике ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии».

РЕЗУЛЬТАТЫ

При сравнении результатов артроскопической пластики передней крестообразной связки в двух группах пациентов была определена клиническая эффективность предложенного способа подготовки ауто трансплантата. Эффективность проведённого лечения оценивалась по следующим критериям: сохранение болевого синдрома; наличие синовитов коленного сустава; ограничение объёма движений в коленном суставе; ощущение нестабильности коленного сустава; разрывы и отрывы ауто трансплантата; неудовлетворённость результатами лечения у пациентов (табл. 1).

У пациентов первой группы, у которых выполнялась пластика ПКС ауто трансплантатом из одного сухожилия полусухожильной мышцы по известной методике, в большинстве случаев отмечалось возникновение синовитов коленного сустава в период наблюдения после операции, по поводу чего проводились курсы консервативной терапии. У 44 % пациентов сохранялся болевой синдром, связанный с воспалением в суставе. Кроме того, пациенты данной группы жаловались на ощущение нестабильности коленного сустава при ходьбе. У 7 из 18 пациентов выявлялось ограничение движений в коленном суставе. Неудовлетворённость результатом лечения отметили 3 пациента, у которых клинически определялись симптомы передней нестабильности коленного сустава, что было расценено как отрыв ауто трансплантата в зоне фиксации в бедренном канале. При этом пациенты указывали на незначительную физическую нагрузку (занятия лечебной физкультурой, ходьба по лестнице), после которой на сроках 1,5–2 месяца после операции развилась нестабильность в суставе.

Во второй группе пациентов после пластики ПКС с использованием нового способа подготовки ауто трансплантата в 2 случаях наблюдалось сохранение болевого синдрома, связанного с артрозными изменениями сустава. У 1 пациента отмечено ограничение движений в коленном суставе. За 3 месяца наблюдения не было выявлено синовитов, ощущений нестабильности коленного сустава, разрывов и отрывов ауто трансплантата. Все пациенты были удовлетворены достигнутым результатом.

Сравнительный анализ ближайших результатов артроскопической пластики передней крестообразной связки ауто трансплантатом при её застарелом полном травматическом повреждении позволил выявить статистически значимо меньшее количество нежелательных последствий при использовании нового способа подготовки ауто трансплантата.

Таблица 1

Сравнительная оценка результатов артроскопической пластики передней крестообразной связки аутооттрансплантатом по отдельным показателям через 3 месяца после операции

Table 1

Comparative evaluation of the results of arthroplasty of the anterior cruciate ligament with an autograft by individual indicators 3 months after the surgery

Показатель	Группы пациентов (n = 28)			
	1 группа (n = 18)		2 группа (n = 10)	
	абс.	%	абс.	%
Сохранение болевого синдрома	8	44,4	2	20
Синовиты коленного сустава	10	55,5	0	0
Ограничение объёма движений в коленном суставе	7	38,9	1	10
Ощущение нестабильности коленного сустава	5	27,8	0	0
Разрывы и отрывы аутооттрансплантата	3	16,7	0	0
Не удовлетворены результатом лечения	3	16,7	0	0
M ± SD	6 ± 2,83*	–	0,5 ± 0,84	–

Примечание. * – различия между группами статистически значимы при $p < 0,01$.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Артроскопическая пластика передней крестообразной связки у пациентов, составивших первую группу, выполнялась в полном соответствии с известной современной технологией. Несмотря на это, были получены результаты, не совсем удовлетворяющие как пациентов, так и самих хирургов. Возникновение ощущения нестабильности коленного сустава, отрывов аутооттрансплантата, а также синовитов, болевого синдрома, ограничение движений в коленном суставе у пациентов первой группы, на наш взгляд, были обусловлены недостаточными размерами аутооттрансплантата, а также недостаточно плотной фиксацией его в костном канале.

У пациентов второй группы был использован новый способ подготовки аутооттрансплантата, что привело к изменению протокола известной технологии пластики передней крестообразной связки, но позволило улучшить результаты лечения.

Основным преимуществом нового способа является то, что производится точный расчёт необходимых для каждого конкретного пациента параметров аутооттрансплантата, соответствующих индивидуальным размерам передней крестообразной связки. Забор двух сухожилий – полусухожильной и тонкой мышц на общей ножке – позволяет получить цельное длинное сухожилие и сформировать аутооттрансплантат любой необходимой длины и толщины, например, восьмипучковый. Это способствует улучшению прочности аутооттрансплантата, снижению риска его разрывов, анатомическому восстановлению передней крестообразной связки.

Для фиксации аутооттрансплантата формируют костные каналы меньшего диаметра, чем толщина аутооттрансплантата, что позволяет добиться плотного контакта и повышает прочность фиксации трансплантата. В результате уменьшается риск развития нестабильности, синовитов, отрывов аутооттрансплантата, оптимизируются процессы регенерации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование предложенного способа подготовки аутооттрансплантата, включающего предварительное

определение его длины и толщины, даёт возможность заранее спланировать, сколько сухожилий или какое сухожилие необходимо забрать для пластики передней крестообразной связки, а также сформировать аутооттрансплантат, соответствующий индивидуальным размерам передней крестообразной связки конкретного пациента.

Новый способ подготовки аутооттрансплантата для пластики передней крестообразной связки позволяет достичь анатомического восстановления передней крестообразной связки, оптимальной функции коленного сустава, уменьшить болевой синдром, значительно снизить риск развития нестабильности коленного сустава, разрывов и отрывов аутооттрансплантата в послеоперационном периоде за счёт индивидуального подхода, повышения прочности аутооттрансплантата и прочности его фиксации в костных каналах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сластилин В.В., Файн А.М., Ваза А.Ю. Использование трансплантата из сухожилий подколенных мышц для пластики передней крестообразной связки (преимущества, проблемы и пути их решения). *Трансплантология*. 2017; 9(4): 317-324.
2. Рикун О.В., Хоминец В.В., Федотов А.О. Современные тенденции в хирургическом лечении пациентов с разрывами передней крестообразной связки (обзор литературы). *Травматология и ортопедия России*. 2017; 23(4): 134-145.
3. Сластилин В.В., Ярыгин Н.В., Паршиков М.В., Сычевский М.В., Файн А.М. Модификация способа подготовки и установки четырехпучкового аутооттрансплантата из сухожилия полусухожильной мышцы при пластике передней крестообразной связки. *Гений ортопедии*. 2019; 25(3): 277-284. doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-3-277-284
4. Леонова С.Н., Монастырев В.В., Пономаренко Н.С. Использование нового подхода к артроскопической аутопластике передней крестообразной связки при ее травматическом повреждении. *Полутравма*. 2019; (4): 52-57.
5. Grafton RD, Lyon DL, Hallet B. *High strength suture material*: Patent US6716234B2.
6. Grafton RD, Schmieling R. *High strength suture with coating and colored trace*: Patent US7029490.
7. Morrison DS, Hacker RL. *Stiff tipped suture*: Patent US7147651.

REFERENCES

1. Slastilin VV, Fine AM, Vaza AYU. Using hamstring tendon graft for anterior cruciate ligament reconstruction (advantages, problems and solutions). *The Russian Journal of Transplantation*. 2017; 9(4): 317-324. (In Russ.)
2. Rikun OV, Khominets VV, Fedotov AO. Current trends in the surgical treatment of patients with ruptures of the anterior cruciate ligament (literature review). *Traumatology and Orthopedics of Russia*. 2017; 23(4): 134-145. (In Russ.)
3. Slastilin VV, Yarygin NV, Parshikov MV, Sychevsky MV, Fine AM. Modification of the method of preparation and installation of a four-fascicle autograft from the semitendinosus tendon

- for anterior cruciate ligament plasty. *Genij ortopedii*. 2019; 25(3): 277-284. doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-3-277-284. (In Russ.)
4. Leonova SN, Monastyrev VV, Ponomarenko NS. Using a new approach to arthroscopic autoplasty of the anterior cruciate ligament in case of its traumatic injury. *Polytrauma*. 2019; (4): 52-57. (In Russ.)
5. Grafton RD, Lyon DL, Hallet B. *High strength suture material*: Patent US6716234B2.
6. Grafton RD, Schmieling R. *High strength suture with coating and colored trace*: Patent US7029490.
7. Morrison DS, Hacker RL. *Stiff tipped suture*: Patent US7147651.

Сведения об авторах

Леонова Светлана Николаевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: svetlana.leonova.1963@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3675-6355>

Монастырёв Василий Владимирович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: vasily.monastyrev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4711-9490>

Пonomarenko Николай Сергеевич – кандидат медицинских наук, научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: Ponomarenko-ns@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6210-3492>

Information about the authors

Svetlana N. Leonova – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: svetlana.leonova.1963@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3675-6355>

Vasily V. Monastyrev – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: vasily.monastyrev@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4711-9490>

Nikolay S. Ponomarenko – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: Ponomarenko-ns@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6210-3492>

Статья получена: 11.09.2020. Статья принята: 18.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 11.09.2020. Accepted: 18.11.2020. Published: 26.12.2020.

Проблемы хирургического лечения молоткообразной деформации пальцев стопы (обзор литературы)

Косарева М.А., Леонова С.Н.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1)

Автор, ответственный за переписку: Леонова Светлана Николаевна, e-mail: svetlana.leonova.1963@mail.ru

Резюме

Введение. Актуальность проблемы хирургического лечения молоткообразной деформации пальцев стопы обусловлена частотой встречаемости патологии, наличием неудовлетворительных результатов и послеоперационных осложнений.

Цель работы. Анализ научной литературы, посвящённой проблемам хирургического лечения молоткообразной деформации пальцев стопы.

Материалы. Проанализированы отечественные и зарубежные научные публикации о классификации и хирургическом лечении молоткообразной деформации пальцев стопы.

Результаты. Представлен анализ классификаций молоткообразной деформации пальцев стопы и нестабильности плюснефаланговых суставов и анализ методов лечения, направленных на устранение различных проявлений деформации, с описанием возникших осложнений. Проведена систематизация методов коррекции молоткообразной деформации пальцев стопы.

Заключение. Анализ литературных данных позволил определить, что проблемы лечения молоткообразной деформации пальцев стопы связаны с отсутствием классификации, которая бы отражала состояние переднего отдела стопы каждого конкретного пациента и позволяла выбрать оптимальные эффективные методы лечения, а также алгоритма выбора тактики хирургического лечения молоткообразной деформации, в котором систематизированы методы лечения в зависимости от проявлений деформации всего переднего отдела стопы.

Ключевые слова: молоткообразная деформация пальцев стопы, классификация, хирургическое лечение

Для цитирования: Косарева М.А., Леонова С.Н. Проблемы хирургического лечения молоткообразной деформации пальцев стопы (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 235-242. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.30.

Problems of Surgical Treatment of Hammer Toes (Review of Literature)

Kosareva M.A., Leonova S.N.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Svetlana N. Leonova, e-mail: svetlana.leonova.1963@mail.ru

Abstract

Introduction. The urgency of the problem of surgical treatment of hammer-like deformity of the toes is due to the incidence of pathology, the presence of unsatisfactory results and postoperative complications.

Objective. Analysis of scientific literature devoted to the problems of surgical treatment of hammer deformities of the toes.

Materials. Analyzed domestic and foreign scientific publications on the classification and surgical treatment of hammer toes.

Results. The article presents an analysis of the classifications of hammer-like deformity of the toes and instability of the metatarsophalangeal joints and an analysis of treatment methods aimed at eliminating various manifestations of deformity, with a description of the complications that have arisen. The systematization of methods for correcting hammer-like deformity of the toes was carried out.

Conclusion. Analysis of the literature data allowed us to determine that the problems of treating hammer-like deformity of the toes are associated with the lack of a classification that would reflect the condition of the forefoot of each individual patient and allow choosing the optimal effective methods of treatment, as well as an algorithm for choosing tactics for surgical treatment of hammer-like deformity, which systematizes the methods treatment depending on the manifestations of deformity of the entire forefoot.

Key words: hammer toes, classification, surgical treatment

For citation: Kosareva M.A., Leonova S.N. Problems of Surgical Treatment of Hammer Toes (Review of Literature). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 235-242. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.30.

ВВЕДЕНИЕ

Молоткообразную деформацию малых пальцев стопы относят к одному из видов деформаций переднего отдела стопы, которые возникают на фоне поперечного плоскостопия [1]. Наряду с вальгусным отклонением первого пальца стопы (*hallux valgus*), молоткообразная деформация является довольно распространённой патологией.

Молоткообразная деформация пальцев стопы может быть как изолированной, так и сопряжённой с *hallux valgus* [2]. Проведённый нами предварительный ретроспективный анализ результатов обследования 84 пациентов с молоткообразной деформацией пальцев стопы, проходивших лечение в клинике ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» в 2017 году, показал, что сопряжённая деформация встре-

чается в 97,6 % случаев, и лишь в 2 случаях имела место изолированная молоткообразная деформация пальцев стопы. Из числа сопряжённых деформаций наиболее часто встречалось сочетание *hallux valgus* и молоткообразной деформации второго пальца, что составило 64,3 % случаев. Сопряжённые деформации других пальцев стопы встречались значительно реже. Полученные нами результаты подтверждают данные о том, что чаще деформации подвергается второй палец, реже – третий, четвёртый и пятый пальцы стопы.

При молоткообразной деформации пациента беспокоят выраженный косметический дефект, боль в переднем отделе стопы, усиливающаяся при ходьбе, болезненные омозолелости и гиперкератозы на тыльной и подошвенной поверхностях стопы, нарушение функции опоры и ходьбы, ограничение передвижения и общения, проблемы с подбором и ношением стандартной обуви.

По определению А.М. Привалова, молоткообразную деформацию можно представить следующим образом: палец разогнут в дистальном межфаланговом суставе (ДМФС), согнут в проксимальном межфаланговом суставе (ПМФС), разогнут (или согнут) в плюснефаланговом суставе (ПФС) [1].

Согласно классификации Американского колледжа хирургии стопы и голеностопного сустава (American College of Foot and Ankle Surgeons, ACFAS), молоткообразная деформация пальца (*hammer toe*) сопровождается разгибательной контрактурой плюснефалангового сустава, сгибательной контрактурой проксимального межфалангового сустава и переразгибанием в дистальном межфаланговом суставе [3]. Кроме молоткообразной, различают ещё два вида деформации пальцев: когтеобразную деформацию (*claw toe*), проявляющуюся разгибательной контрактурой ПФС, сгибательной контрактурой ПМФС и ДМФС, и дистальную форму молоткообразной деформации пальца (*mallet toe*), при которой отмечается разгибательная контрактура в ПФС и ПМФС и сгибательная контрактура в ДМФС пальца.

Актуальность проблемы хирургического лечения молоткообразной деформации пальцев стопы обусловлена частотой встречаемости патологии, наличием неудовлетворительных результатов и послеоперационных осложнений, частота которых может достигать 36 % [4]. По заключению ряда исследователей, неудовлетворённость пациентов результатами хирургического вмешательства составляет 10–46 % [5].

ВОПРОСЫ КЛАССИФИКАЦИИ МОЛОТКООБРАЗНОЙ ДЕФОРМАЦИИ ПАЛЬЦЕВ СТОПЫ

Существует отечественная клинко-рентгенологическая классификация молоткообразной деформации пальцев стопы, предложенная М.И. Кусликом в 1987 г., согласно которой выделяют три степени деформации [6]. Одним из недостатков данной классификации является то, что не представляется возможным точно определить степень деформации. Так, при наличии подвывиха в плюснефаланговом суставе, что рентгенологически соответствует третьей степени деформации, у части пациентов можно пассивно выпрямить палец (клинически – первая степень деформации).

Также разработана рабочая классификация молоткообразной деформации пальцев стоп, по которой деформации делят на фиксированные (с контрактурой

в суставах) и нефиксированные (без контрактуры), сгибательные (деформация ПМФС) и сгибательно-разгибательные (деформация ПМФС и ПФС), без нестабильности и с нестабильностью в ПФС (отведением, приведением) [7, 8]. Согласно данной классификации, авторы предлагают выбор известных методов хирургической коррекции молоткообразной деформации пальцев стоп.

На наш взгляд, известные классификации являются неполными, они не отражают всех проявлений молоткообразной деформации пальцев стопы. В классификации должно быть отражено состояние такого анатомического образования, как подошвенная связка капсулы плюснефалангового сустава (плантарная пластинка). Повреждение плантарной пластинки играет важную роль в развитии молоткообразной деформации пальцев стопы. Уплотнение поперечного свода стопы, а также деформация первого пальца приводят к перегрузке головки малой плюсневой кости, дегенеративным изменениям в плюснефаланговом суставе, повреждению плантарной пластинки и возникновению нестабильности в плюснефаланговом суставе [9, 10, 2]. При тыльно-подошвенной нестабильности малого плюснефалангового сустава наступают капсульно-связочный и сухожильно-мышечный дисбаланс, тыльное отведение или разгибание пальца в плюснефаланговом суставе, формирование молоткообразной деформации с подвывихом или вывихом пальца. Имеется анатомическая классификация разрывов плантарной пластинки, которая даёт подробное представление о картине её повреждения по степеням от G0 до G4 [11, 12, 13]. Клиническую картину нестабильности малого плюснефалангового сустава позволяет оценить тест Hamilton – Thompson [14]. При этом классификация степеней повреждения плантарной пластинки по Hamilton – Thompson представляется следующим образом: G0 – плюснефаланговый сустав стабилен; G1–G2 – в плюснефаланговом суставе имеется подвывих (нарушение осей пальца и плюсны); G3 – плюснефаланговый сустав легко «смещается», имеется полный вправимый или неригидный вывих основной фаланги пальца; G4 – плюснефаланговый сустав смещён, имеется полный не вправимый или ригидный вывих основной фаланги пальца. При проведении магнитно-резонансной томографии и ультразвукового исследования возможно определение степени повреждения плантарной пластинки по характерным изменениям в плюснефаланговом суставе [15].

Известна классификация нестабильности второго плюснефалангового сустава по С. Nery [16], согласно которой выделяют пять степеней деформации в плюснефаланговом суставе по конгруэнтности в суставе и соответствующим клиническим проявлениям: боль, отёк, опороспособность пальца, тест «выдвижного ящика», подвывих и вывих в суставе.

В классификации должна учитываться информация о наличии или отсутствии перегрузочной метатарзалгии. Перегрузочная метатарзалгия возникает при повреждении плантарной пластинки и перегрузке головок плюсневых костей и клинически проявляется болью и болезненностью при пальпации под головками 2-й, 3-й или 4-й плюсневых костей [10].

Связанное с перегрузочной метатарзалгией возникновение натоптышей, или гиперкератоза, на подошвенной поверхности в проекции головок плюсневых костей также должно быть указано в классификации.

Не менее важным является отражение в классификации длин плюсневых костей. Превосходящая длина плюсневой кости служит предрасполагающим фактором к перегрузке её головки, плюснефалангового сустава и способствует прогрессированию деформации пальца [10]. Одной из анатомических особенностей стопы является относительно длинная вторая плюсневая кость, с чем, очевидно, связана наибольшая частота возникновения молоткообразной деформации второго пальца.

Необходимо, на наш взгляд, отражать состояние конкретного сустава, например, плюснефалангового: варусное или вальгусное отклонение основной фаланги пальца, подвывих или вывих основной фаланги (ригидный или нет); состояние проксимального межфалангового сустава: контрактура (фиксированная или нет), анкилоз, варусное или вальгусное отклонение средней фаланги пальца. Полезным может явиться измерение углов деформации пальца.

Кроме того, нельзя не учитывать деформацию первого пальца стопы (*hallux valgus*), которая может явиться причиной дислокации второго плюснефалангового сустава [17], степень поперечного плоскостопия, тип эластичности стопы, плосковальгусную деформацию стопы и, возможно, многие другие параметры, которые должны найти своё отражение в классификации молоткообразной деформации пальцев стопы.

Разработанная подробная классификация молоткообразной деформации пальцев стопы позволит определить правильную хирургическую тактику и выбрать оптимальные методы лечения.

ВОПРОСЫ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ МОЛОТКООБРАЗНОЙ ДЕФОРМАЦИИ ПАЛЬЦЕВ СТОПЫ

При хирургическом лечении деформаций переднего отдела стопы, в том числе молоткообразной деформации пальцев, каждый хирург ставит перед собой в качестве основных задач устранение деформации и восстановление или улучшение функции пальцев и стопы. Выбор того или иного метода лечения осуществляется во время предоперационного планирования или во время операции.

При анализе научной литературы мы столкнулись с большим разнообразием методов коррекции молоткообразной деформации пальцев стопы и пришли к выводу, что до сих пор нет единого подхода к выбору хирургической тактики лечения рассматриваемой патологии. Условно все хирургические методы можно разделить на вмешательства на мягких тканях, костях и комбинированные методики. Однако более логичным, на наш взгляд, является следующее разделение: вмешательства на сухожилиях сгибателей и разгибателей пальцев стопы, вмешательства на проксимальном межфаланговом суставе и на плюснефаланговом суставе, остеотомии плюсневой кости и фаланг пальцев стопы, вмешательства по восстановлению плантарной пластинки.

ВМЕШАТЕЛЬСТВА НА СУХОЖИЛИЯХ СГИБАТЕЛЕЙ И РАЗГИБАТЕЛЕЙ ПАЛЬЦЕВ СТОПЫ

В основном все хирургические вмешательства на сухожильном аппарате проводятся с целью восстановления нарушенного сухожильного баланса. В одних способах производится удлинение сухожилия длинного разгибателя и пересечение сухожилия сгибателя пальца

[18]. В других выполняется рассечение и удлинение сухожилий длинного сгибателя пальцев [19]. Известен способ, согласно которому проводится одновременное пересечение короткого разгибателя пальца стопы на уровне плюснефалангового сустава и длинного сгибателя – на уровне средней фаланги пальца [20].

Существуют способы выполнения транспозиции сухожилий, основной целью которых является устранение тыльного подвывиха (или вывиха) и нестабильности в плюснефаланговом суставе.

Транспозиция сухожилия длинного сгибателя пальца была внедрена G.R. Girdlestone и R.G. Taylor [21] и заключалась в переносе сухожилия в виде двух ножек с медиальной и латеральной сторон основной фаланги пальца на тыл и фиксации их узловыми швами под сухожилиями разгибателей, достигая опускания пальца. Осложнением методики может стать контрактура в плюснефаланговом суставе, переходная метатарзалгия [22]. В способе B. Bavarian [23] также применяются перенос сухожилия длинного сгибателя пальца на тыл пальца и трансартрикулярная фиксация спицей.

Известны способы транспозиции сухожилий разгибателей для устранения деформации малых пальцев стопы [24, 25].

Для устранения отведённой деформации пальца стопы используют сухожилие короткого разгибателя пальца [26, 27, 28]. Его проводят в костные каналы и фиксируют швами трансоссально или винтом, а также укрепляют капсулу плюснефалангового сустава, выполняя коррекцию деформации.

Однако данные виды вмешательств не решают проблему контрактуры суставов, подвывихов и вывихов.

ВМЕШАТЕЛЬСТВА НА ПРОКСИМАЛЬНОМ МЕЖФАЛАНГОВОМ СУСТАВЕ И ПЛЮСНЕФАЛАНГОВОМ СУСТАВЕ

Оперативные вмешательства на ПМФС в основном направлены на устранение сгибательной контрактуры.

Операция по Hohmann заключается в резекции головки основной фаланги пальца. Описан способ хирургического лечения молоткообразной деформации пальцев стопы, который, кроме удаления головки, включает Z-образное рассечение и удлинение сухожилия длинного сгибателя [29]. Операция позволяет выпрямить палец, но не способствует анатомо-функциональному восстановлению плюснефалангового сустава [10, 30].

Операциями выбора являются артродезирование и эндопротезирование проксимальных межфаланговых суставов пальцев [1, 6]. Для этого используются различные имплантаты и эндопротезы. В настоящее время для лечения молоткообразной деформации пальцев стопы разработано большое количество имплантатов. Данные операции могут применяться не только как самостоятельные, но и в комбинации с другими методиками.

Операции на плюснефаланговом суставе необходимы для устранения деформации пальца, подвывиха, вывиха и контрактуры в данном суставе.

Известный способ Гохта, который включает резекцию основания основной фаланги пальца [8], не позволяет восстановить нормальное соотношение суставных поверхностей, усиливает нестабильность в ПФС, не решает задачу коррекции ПМФС, а также может способствовать рецидиву деформации пальца.

Разработан способ лечения, при котором формируют ложе в головке плюсневой кости, низводят в него основание основной фаланги пальца, стабилизируют плюснефаланговый сустав отсечённым сухожилием длинного разгибателя [31], однако данных о применении способа и его эффективности не было найдено.

Хирургическое лечение молоткообразной деформации с резекцией основания основной фаланги пальца и его замещением перфорированным деминерализованным костным аллотрансплантатом проводят в сочетании с дистальной укорачивающей остеотомией плюсневой кости и удлиняющей пластикой тыльного отдела капсулы плюснефалангового сустава [32]. Данное комбинированное вмешательство позволяет обеспечить лучшие анатомо-функциональные результаты.

Вмешательства сразу на ПМФС и ПФС пальца, учитывая проявления молоткообразной деформации, являются обоснованными при наличии чётких показаний.

Известен способ лечения молоткообразной деформации пальцев стопы [33], при котором проводят резекцию головки основной фаланги, резекцию основания средней фаланги, артродез ПМФС, фиксацию двумя перекрещивающимися спицами. Кроме того, выполняют удлинение сухожилия разгибателя (при отсутствии подвывиха и вывиха в ПФС) или резекцию основания основной фаланги (при наличии подвывиха, вывиха в ПФС), фиксацию ПФС теми же спицами. Недостатки способа заключаются в фиксации двумя спицами, что в последующем может вызвать воспаление, миграцию спиц, рецидив деформации при удалении фиксации.

ОСТЕОТОМИИ ПЛЮСНЕВЫХ КОСТЕЙ И ФАЛАНГ ПАЛЬЦЕВ СТОПЫ

Различные варианты остеотомий плюсневых костей используют до настоящего времени при лечении молоткообразной деформации пальцев стопы для укорочения плюсневой кости, коррекции параболы Лельевра, выведения из-под нагрузки головки плюсневой кости, устранения тыльного отклонения пальца в плюснефаланговом суставе.

Наиболее распространённой в России и за рубежом является Weil-остеотомия. Способ лечения деформации пальцев стопы по Weil [34] заключался в выполнении косой остеотомии от тыльной поверхности её головки к подошвенной в проксимальном направлении, смещении подошвенного фрагмента плюсневой кости проксимально на необходимое укорочение, фиксации одним винтом. Опыт применения Weil-остеотомии позволил многим исследователям выявить следующие осложнения: «плавающий палец», или «баллотирующий палец» (от 28 до 50 %) [35]; ригидность сустава (22,5 %) [36]; переходная метатарзалгия (до 22,7 %) [37, 36]; рецидив метатарзалгии (20,9 %) [36]. Приводятся данные об использовании Weil-остеотомии при разрывах плантарной пластинки G3 и G4, что сопровождается развитием «плавающих пальцев» в 76 % случаев [38]. Однако выполнение Weil-остеотомии с иссечением тыльного костного клина в комбинации с восстановлением плантарной пластинки и удлинением сухожилия длинного разгибателя позволяет уменьшить процент осложнений до 6–10 % [35].

Известна остеотомия плюсневой кости по Helal без костной фиксации [39]. Выполняют косую дистальную остеотомию под углом 45° в дистальном направлении

от тыла к подошве, смещают головку плюсневой кости проксимально по линии остеотомии, достигают укорочения плюсневой кости и поднятия её головки, что способствует тыльному разгибанию пальца в плюснефаланговом суставе. Основным недостатком данного метода является отсутствие фиксации остеотомированных фрагментов плюсневой кости, что может привести к несращению, болевому синдрому, потере коррекции, асептическому некрозу головки плюсневой кости.

Проведённые группой авторов исследования по сравнению результатов применения остеотомии Weil и Helal для лечения метатарзалгий и устранения вывихов в малых плюснефаланговых суставах показали большую эффективность и меньшее количество осложнений при Helal-остеотомии с фиксацией винтом [36]. При выполнении остеотомии по Weil вывих и подвывих в плюснефаланговом суставе сохраняются в 45,1 % случаев, при остеотомии по Helal – в 4,8 % случаев.

К проксимальным остеотомиям относится BRT-остеотомия (по L.S. Barouk, P. Rippstein, E. Toullec), которая выполняется на уровне проксимального метафиза плюсневой кости. Она используется для устранения смещения головки плюсневой кости в подошвенную сторону за счёт формирования тыльного костного клина, но не предназначена для коррекции деформаций в плюснефаланговом суставе [22].

Для лечения метатарзалгий и деформаций пальцев стопы используются косые дистальные малоинвазивные метатарзальные остеотомии (distal mini-invasive metatarsal osteotomy, DMMO). Они выполняются из минидоступов в области метафизов плюсневых костей с использованием специального оборудования и под рентгенологическим контролем, без фиксации костей. Недостатком данной методики является низкая управляемость коррекции и низкая эффективность при устранении сложных ригидных деформаций стоп. Основные осложнения – это длительный отёк и замедленная консолидация (до 3,3 %) [40]. При сравнении результатов использования остеотомии Weil и DMMO показаны преимущества последней, заключающиеся в меньшем количестве осложнений, малоинвазивности, отсутствии необходимости фиксации [41]. Однако имеются данные об отрицательных результатах применения Weil или DMMO-остеотомии плюсневых костей при перегрузочной метатарзалгии [42], что может указывать на необходимость дополнительного вмешательства на мягкотканых компонентах стопы.

При молоткообразной деформации с варусным или вальгусным отклонением пальца стопы разработаны отдельные варианты остеотомий. Для устранения неригидных молоткообразных деформаций 2-го, 3-го, 4-го пальцев выполняют поперечную дистальную остеотомию плюсневой кости с костным клином, смещают головку плюсневой кости, фиксируют канюлированным винтом и тем самым достигают устранения бокового смещения пальца. [43]. Разработан способ хирургического лечения варусно-молоткообразной деформации пальца, включающий выполнение предварительного расчёта по рентгенограмме величин, на которые необходимо укоротить плюсневую кость и сместить её дистальный фрагмент, затем выполняется остеотомия плюсневой кости в виде ступеньки, репозиция и фиксация винтом [44]. Результатом использования способа является

устранение молоткообразной и варусной деформации, восстановление конгруэнтности в ПФС. Авторы показали эффективность предложенного способа, по сравнению с остеотомией по Weil [45].

При наличии анатомически длинных пальцев, особенно при греческом типе стопы, выполняют резекцию средней трети основной фаланги пальца (операцию Rahman – Zade), а также применяют клиновидную резекцию основания основной фаланги (операция Weil) [7].

ВМЕШАТЕЛЬСТВА ПО ВОССТАНОВЛЕНИЮ ПЛАНТАРНОЙ ПЛАСТИНКИ

Учитывая роль повреждения подошвенной связки капсулы плюснефалангового сустава в развитии молоткообразной деформации пальцев стопы, обоснованным является выполнение восстановления плантарной пластинки. Известны способы хирургического восстановления плантарной пластинки, позволяющие устранить вывихи в плюснефаланговых суставах, которые требуют применения специальных устройств, дорогостоящего оборудования. Кроме того, при деструкции плантарной пластинки данные способы становятся невыполнимыми. Артроскопический способ тенodesа плантарной пластинки также требует наличия специализированного инструментария [46].

Существует способ восстановления плантарной пластинки из тыльного и подошвенного доступа [47], что повышает его травматичность. При перегрузочной метатарзалгии и травматических разрывах плантарной пластинки известен способ, в котором используют тыльный доступ и закрытое чрескожное прошивание плантарной пластинки без её визуализации и выполнения остеотомии плюсневой кости [48]. Другими авторами разработана методика, при которой из подошвенного доступа производят шов плантарной пластинки и подшивают оболочку сухожилия глубокого сгибателя, а кроме того, выполняют Weil-остеотомию плюсневой кости [2].

Проведённые исследования по сравнению результатов лечения группы пациентов, которым выполнялись остеотомия triple-Weil и восстановление плантарной пластинки, с группой, где использовалась только Weil-остеотомия, показали эффективность комбинированного метода лечения [49].

Таким образом, представленные многообразные хирургические вмешательства для коррекции молоткообразной деформации пальцев стопы, которые используются в виде моно- или комбинированных методов лечения, направлены на устранение отдельных проявлений данной патологии: сухожильно-мышечного или капсульно-связочного дисбаланса, контрактур, вывихов и подвывихов суставов пальцев, дисбаланса в соотношении длин плюсневых костей, перегрузки головок плюсневых костей, метатарзалгий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ литературных данных позволил нам заключить, что проблемы лечения молоткообразной деформации пальцев стопы связаны со следующими нерешёнными вопросами: в терминологии описания различных проявлений молоткообразной деформации пальцев стопы и во взглядах на хирургическое лечение данной патологии нет единства; не разработана классификация молоткообразной деформации пальцев стопы, которая

бы отражала состояние переднего отдела стопы каждого конкретного пациента и позволяла выбрать оптимальные эффективные методы лечения; не представлен алгоритм выбора тактики хирургического лечения молоткообразной деформации, в котором систематизированы методы лечения в зависимости от проявлений деформации всего переднего отдела стопы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Привалов А.М. Современные возможности хирургической коррекции молоткообразной деформации пальцев стопы. *Казанский медицинский журнал*. 2017; 98(2): 296-299.
2. Блаженко А.Н., Черевцов В.Н., Тадж А.А., Процко В.Г., Загородний Н.В. *Способ хирургического восстановления плантарной пластинки малого плюснефалангового сустава прямым подошвенным доступом при травматических разрывах ее вследствие перегрузочной метатарзалгии*: Пат. № 2673382(13)С1 Рос. Федерация; МПК А61В 17/56. № 2018126338; заявл. 17.07.2018; опубл. 26.11.2018; Бюл. № 33.
3. Thomas JL, Blitch EL, Chaney DM, Dinucci KA, Eickmeier K, Rubin LG, et al. Diagnosis and treatment of forefoot disorders. Section 1: Digital deformities. Clinical Practice Guideline Forefoot Disorders Panel. *J Foot Ankle Surg*. 2009; 48(2): 230-250. doi: 10.1053/j.jfas.2008.12.003
4. Trnka HJ, Gebhard C, Mühlbauer M, et al. Weil osteotomy for treatment of dislocated lesser metatarsophalangeal joints: good outcome in 21 patients with 42 osteotomies. *Acta Orthop Scand*. 2002; 73(2): 190-194.
5. Barg A, Courville XF, Nickisch F, Bachus KN, Saltzman C. Role of collateral ligaments in metatarsophalangeal stability: a cadaver study. *Foot Ankle Int*. 2012; 33: 877-882.
6. Петросян А.С., Загородний Н.В., Процко В.Г., Султанов Э.М., Хамоков З.Х., Бутаев Б.Г., Захарян Н.Г. Эндопротезирование проксимальных межфаланговых суставов при молоткообразной деформации пальцев стопы. *Травматология и ортопедия России*. 2012; (2): 54-59.
7. Загородний Н.В., Карданов А.А., Макинян Л.Г., Лукин М.П., Кузьмина Ю.О., Арутюнян О.Г., Дубчак А.В. Некоторые аспекты хирургического лечения деформаций переднего отдела стоп. *Вестник РУДН. Серия Медицина*. 2008; (6): 151-154.
8. Кузьмина Ю.О. *Выбор метода хирургической коррекции молоткообразной деформации пальцев стоп*: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.; 2009.
9. Бобров Д.С., Слияков Л.Ю., Сухарева А.Г., Холодаев М.Ю., Якимов Л.А. Хирургическое лечение перегрузочной метатарзалгии. *Московский хирургический журнал*. 2014; 3(37): 25-27.
10. Бобров Д.С., Слияков Л.Ю., Ригин Н.В. Перегрузочная метатарзалгия: патогенез, биомеханика и хирургическое лечение (аналитический обзор литературы). *Вестник ПАМН*. 2017; 72(1): 53-58.
11. Lui TH. Arthroscopic-assisted correction of claw toe or overriding toe deformity: Plantar plate tenodesis. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2007; 127: 823-826.
12. Mendicino RW, Statler TK, Saltrick KR, Catanzariti AR. Pre-dislocation syndrome: a review and retrospective analysis of eight patients. *J Foot Ankle Surg*. 2001; 40(4): 214-224.
13. Yu GV, Judge MS, Hudson JR, Seidelmann FE. Predislocation syndrome. Progressive subluxation/dislocation of the lesser metatarsophalangeal joint. *J Am Podiatr Med Assoc*. 2002; 92(4): 182-199.
14. Easley ME, Wiesel SW. *Operative techniques in foot and ankle surgery*. 2016.
15. Черевцов В.Н., Процко В.Г., Загородний Н.В., Кетов М.С., Горохов А.В. *Способ определения типа дегенеративного разрыва плантарной пластинки плюснефалангового сустава вследствие перегрузочной метатарзалгии*: Пат. № 2699383 Рос. Федерация; МПК А61В 8/08. № 2019111092; заявл. 12.04.2019; опубл. 05.09.2019; Бюл. № 25.
16. Nery C, Coughlin MJ, Baumfeld D, Mann TS. Lesser metatarsophalangeal joint instability: prospective evaluation and repair

of plantar plate and capsular insufficiency. *Foot Ankle Int.* 2012; 33(4): 301-311. doi: 10.3113/fai.2012.0301

17. Черкес-Заде Д.И., Каменев Ю.Ф. *Хирургия стопы*. М.: Медицина; 2002.

18. Егоров М.Ф. *Способ оперативного лечения многокомпонентной деформации переднего отдела стопы*: Пат. № 2128962 Рос. Федерация; МПК А61 В17/56. № 98103361/14; заявл. 18.02.1998; опубл. 20.04.1999.

19. Котельников Г.П., Чернов А.П., Лосев И.И., Кесян Э.М., Чернов А.А. *Способ хирургического лечения молоткообразной деформации II–IV пальцев*: Пат. № 2285476 Рос. Федерация; МПК А61 В17/56 (2006.01). № 2004127462/14; заявл. 13.09.2004; опубл. 20.10.2006; Бюл. № 29.

20. Минасов Б.Ш., Гутов С.П. *Способ лечения молоткообразной деформации II–V пальцев стопы*: Пат. № 2271767 Рос. Федерация; МПК А61 В17/56 (2006.01). № 2271767; заявл. 30.04.2004; опубл. 20.03.2006; Бюл. № 8.

21. Coughlin MJ, Mann R.A. Lesser toe deformities. *Surgery of the Foot and Ankle*. Mosby, St Louis; 1993: 341-412.

22. Espinosa N, Maceira E, Myerson MS. Current concept review: metatarsalgia. *Foot Ankle Int.* 2008; 29(8): 871-879. doi: 10.3113/fai.2008.0000x

23. Bavarian B, Nazarian D, Thompson J. Plantar plate tears: a review of the modified flexor tendon transfer repair for stabilization. *Clin Podiatr Med Surg.* 2011; 28: 57-68.

24. Kitaoka H. *Master techniques in orthopaedic surgery: the foot and ankle*. 2013.

25. Hobizal KB, Wukich DK, Manway J. Extensor digitorum brevis transfer technique to correct multiplanar deformity of the lesser digits. *Foot Ankle Spec.* 2016; XX(X): 1-8.

26. Kaz AJ, Coughlin MJ. Extensor digitorum brevis transfer and weil osteotomy for crossover second toe. *Foot Ankle Surg.* 2010; 9(1): 32-36

27. Ellis SJ, Young E, Endo Y, Do H, Deland JT. Correction of multiplanar deformity of the second toe with metatarsophalangeal release and extensor brevis reconstruction. *Foot Ankle Int.* 2016; 34(6): 792-799.

28. Гуди С.М., Епишин В.В., Пахомов И.А., Кузнецов В.В., Самохин А.Г., Дрантусов С.О. *Пластика медиального капсулолигаментарного комплекса второго плюснефалангового сустава при лечении статических деформаций стопы*. *Гений ортопедии*. 2019; 25(4): 468-473. doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-4-468-473

29. Литтманн И. (ред.). *Оперативная хирургия*. Будапешт: Академия наук Венгрии; 1988.

30. Загородний Н.В., Процко В.Г., Кетов М.С., Панов А.А., Мазалов А.В. *Оперативная коррекция ригидных вывихов пальцев стоп*. *Кафедра травматологии и ортопедии*. 2016; 4(20): 33-36.

31. Ген Г.Е., Дегтярь Н.И. *Способ лечения молоткообразного пальца*: А.с. № 559697 СССР; МПК А61 В17/00. № 2107409; заявл. 17.02.1975; опубл. 30.05.1977.

32. Ежов М.Ю., Баталов О.А., Корыткин А.А. *Способ хирургического лечения молоткообразной деформации пальцев стопы*: Пат. № 2419454 Рос. Федерация; МПК А61 В17/56 (2006.01). № 2011103775/14; заявл. 2.02.2011.; опубл. 27.06.2012; Бюл. № 18.

33. Лысенков В.П., Черняева Г.В., Лысенкова Т.В. *Способ оперативного лечения молоткообразной деформации пальцев стопы*: Пат. № 2455956 Рос. Федерация; МПК А61 В17/56 (2006.01). № 2009106735/14; заявл. 27.02.2009; опубл. 20.07.2012.

34. Trnka HJ, Mühlbauer M, Zettl R, Myerson MS, Ritschl P. Comparison of the results of the Weil and Helal osteotomies for the treatment of metatarsalgia secondary to dislocation of the lesser metatarsophalangeal joints. *Foot Ankle Int.* 1999; 20(2): 72-79.

35. Migueis A, Slullitel G, Bilbao F, et al. Floating-toe deformity as a complication of the Weil osteotomy. *Foot Ankle Int.* 2004; 25(9): 609-613. doi: 10.1177/107110070402500902

36. Тадж А.А., Процко В.Г., Черевцов В.Н., Волков А.В. Сравнение результатов Хелал и Вейль остеотомии для лечения метатарзалгии при вторичном вывихе в плюснефаланговых суставах 2, 3 и 4 плюсневых костей. *Дневник Казанской медицинской школы*. 2017; III(XVII): 54-61.

37. Highlander P, Von Herbulis E, Gonzalez A, et al. Complications of the Weil osteotomy. *Foot Ankle Spec.* 2011; 4(3): 165-170. doi: 10.1177/1938640011402822

38. Weil L Jr., Weil LS Sr., Sung W. Anatomic plantar plate repair using the Weil metatarsal osteotomy approach. *Foot Ankle Spec.* 2011; 4: 145-150.

39. Helal B. Metatarsal osteotomy for metatarsalgia. *J Bone Joint Surg.* 1957; (57): 187-192.

40. Haque S, Kakwani R, Chadwick C, et al. Outcome of minimally invasive distal metatarsal metaphyseal osteotomy (DMMO) for lesser toe metatarsalgia. *Foot Ankle Int.* 2016; 37(1): 58-63. doi: 10.1016/j.faspru.2016.04.002

41. Бобров Д.С., Шубкина А.А., Лычагин А.В., Слиянков Л.Ю., Дрогин А.Р., Целищева Е.Ю., и др. Результаты хирургического лечения перегрузочной метатарзалгии с использованием минимально инвазивных методик. *Кафедра травматологии и ортопедии*. 2018; 4(34): 7-15.

42. Pérez-Muñoz I, Escobar-Antón D, Sanz-Gómez TA. The role of Weil and triple Weil osteotomies in the treatment of propulsive metatarsalgia. *Foot Ankle Int.* 2012; 33(6): 501-506.

43. Кетов М.С., Процко В.Г., Загородний Н.В., Кетова Д.В., Тадж А.А. *Способ устранения неригидных молоткообразных деформаций 2, 3, 4 пальцев при поперечном плоскостопии*: Пат. № 2610335 Рос. Федерация; МПК А61 В17/00. № 2016102039; заявл. 22.01.2016; опубл. 09.02.2017; Бюл. № 4.

44. Усольцев И.В., Леонова С.Н. *Способ хирургического лечения деформации пальцев стопы*: Пат. № 2694467 Рос. Федерация; МПК А61 В17/56. № 2018108731; заявл. 12.03.2018; опубл. 15.07.2019; Бюл. № 20.

45. Леонова С.Н., Усольцев И.В. Новый способ хирургической коррекции деформации малых пальцев стопы. *Политравма*. 2018; (4): 51-59.

46. Lui TH. Arthroscopic-assisted correction of claw toe or overriding toe deformity: plantar plate tenodesis. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2007; 127: 823-826.

47. Doty JF, Coughlin MJ. Metatarsophalangeal joint instability of the lesser toes and plantar plate deficiency. *J Am Acad Orthop Surg.* 2014; 22(4): 235-245.

48. Кавалерский Г.М., Бобров Д.С., Ригин Н.В., Слиянков Л.Ю., Ченский А.Д. *Способ хирургического восстановления подошвенной связки плюснефалангового сустава при перегрузочной метатарзалгии или её травматических разрывах*: Пат. № 2604779 Рос. Федерация; МПК А61 В17/00. № 2015149946; заявл. 23.11.2015; опубл. 10.12.2016; Бюл. № 34.

49. Ригин Н.В., Бобров Д.С., Слиянков Л.Ю., Мо Ц. Новый подход и результаты оперативного лечения перегрузочной метатарзалгии при эластичных деформациях стоп. *Кафедра травматологии и ортопедии*. 2017; 4(30): 35.

REFERENCES

1. Privalov AM. Modern possibilities of surgical correction of hammer toes. *Kazan medical journal.* 2017; 98(2): 296-299. (In Russ.)

2. Blazhenko AN, Cherevtsov VN, Tadz AA, Protsko VG, Zagorodny NV. *The method of surgical restoration of the plantar plate of the small metatarsophalangeal joint using direct plantar approach in case of traumatic ruptures due to overload metatarsalgia*: Patent N 2673382(13)C1 of the Russian Federation. (In Russ.)

3. Thomas JL, Blitch EL, Chaney DM, Dinucci KA, Eickmeier K, Rubin LG, et al. Diagnosis and treatment of forefoot disorders. Section 1: Digital deformities. Clinical Practice Guideline Forefoot Disorders Panel. *J Foot Ankle Surg.* 2009; 48(2): 230-250. doi: 10.1053/j.jfas.2008.12.003

4. Trnka HJ, Gebhard C, Mühlbauer M, et al. Weil osteotomy for treatment of dislocated lesser metatarsophalangeal joints: good outcome in 21 patients with 42 osteotomies. *Acta Orthop Scand.* 2002; 73(2): 190-194.

5. Barg A, Courville XF, Nickisch F, Bachus KN, Saltzman C. Role of collateral ligaments in metatarsophalangeal stability: a cadaver study. *Foot Ankle Int.* 2012; 33: 877-882.

6. Petrosyan AS, Zagorodny NV, Protsko VG, Sultanov EM, Hamokov ZKh, Butaev BG, Zakharyan NG. Endoprosthetics of the proximal interphalangeal joints for hammer toes. *Traumatology and Orthopedics of Russia*. 2012; (2): 54-59. (In Russ.)
7. Zagorodny NV, Kardanov AA, Makinyan LG, Lukin MP, Kuzmina YuO, Arutyunyan OG, Dubchak AV. Some aspects of surgical treatment of forefoot deformities. *RUDN Journal of Medicine*. 2008; (6): 151-154. (In Russ.)
8. Kuzmina YuO. *Choosing the method of surgical correction of hammer toes*: Abstract of the Dissertation of Cand. Sc. (Med.). Moscow; 2009. (In Russ.)
9. Bobrov DS, Slinyakov LYu, Sukhareva AG, Kholodaev MYu, Yakimov LA. Surgical treatment of overloaded metatarsalgia. *Moscow Surgical Journal*. 2014; 3(37): 25-27. (In Russ.)
10. Bobrov DS, Slinyakov LYu, Rigin NV. Overloaded metatarsalgia: pathogenesis, biomechanics, and surgical treatment (analytical literature review). *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2017; 72(1): 53-58. (In Russ.)
11. Lui TH. Arthroscopic-assisted correction of claw toe or overriding toe deformity: Plantar plate tenodesis. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2007; 127: 823-826.
12. Mendicino RW, Statler TK, Saltrick KR, Catanzariti AR. Pre-dislocation syndrome: a review and retrospective analysis of eight patients. *J Foot Ankle Surg*. 2001; 40(4): 214-224.
13. Yu GV, Judge MS, Hudson JR, Seidemann FE. Predislocation syndrome. Progressive subluxation/dislocation of the lesser metatarsophalangeal joint. *J Am Podiatr Med Assoc*. 2002; 92(4): 182-199.
14. Easley ME, Wiesel SW. *Operative techniques in foot and ankle surgery*. 2016.
15. Cherevtsov VN, Protsko VG, Zagorodny NV, Ketov MS, Gorokhov AV. *Method for determining the type of degenerative rupture of the plantar plate of the metatarsophalangeal joint due to overloaded metatarsalgia*: Patent N 2699383 of the Russian Federation. (In Russ.)
16. Nery C, Coughlin MJ, Baumfeld D, Mann TS. Lesser metatarsophalangeal joint instability: prospective evaluation and repair of plantar plate and capsular insufficiency. *Foot Ankle Int*. 2012; 33(4): 301-311. doi: 10.3113/fai.2012.0301
17. Cherkas-Zade DI, Kameney YuF. *Foot surgery*. Moscow: Meditsina; 2002. (In Russ.)
18. Egorov MF. *Method for surgical treatment of multicomponent deformity of the forefoot*: Patent N 2128962 of the Russian Federation. (In Russ.)
19. Kotelnikov GP, Chernov AP, Losev II, Kesyan EM, Chernov AA. *Method of surgical treatment of hammer-like deformity of II-IV toes*: Patent N 2285476 of the Russian Federation. (In Russ.)
20. Minasov BSh, Gutov SP. *Method for the treatment of hammer-like deformity of II-V toes*: Patent N 2271767 of the Russian Federation. (In Russ.)
21. Coughlin MJ, Mann RA. Lesser toe deformities. *Surgery of the Foot and Ankle*. Mosby, St Louis; 1993: 341-412.
22. Espinosa N, Maceira E, Myerson MS. Current concept review: metatarsalgia. *Foot Ankle Int*. 2008; 29(8): 871-879. doi: 10.3113/fai.2008.0000x
23. Bavarian B, Nazarian D, Thompson J. Plantar plate tears: a review of the modified flexor tendon transfer repair for stabilization. *Clin Podiatr Med Surg*. 2011; 28: 57-68.
24. Kitaoka H. *Master techniques in orthopaedic surgery: the foot and ankle*. 2013.
25. Hobizal KB, Wukich DK, Manway J. Extensor digitorum brevis transfer technique to correct multiplanar deformity of the lesser digits. *Foot Ankle Spec*. 2016; XX(X): 1-8.
26. Kaz AJ, Coughlin MJ. Extensor digitorum brevis transfer and weil osteotomy for crossover second toe. *Foot Ankle Surg*. 2010; 9(1): 32-36
27. Ellis SJ, Young E, Endo Y, Do H, Deland JT. Correction of multiplanar deformity of the second toe with metatarsophalangeal release and extensor brevis reconstruction. *Foot Ankle Int*. 2016; 34(6): 792-799.
28. Goody SM, Epishin VV, Pakhomov IA, Kuznetsov VV, Samokhin AG, Drantusov SO. Plastic reconstruction of medial capsule-ligamentary complex of the second metatarsophalangeal joint in the treatment of static foot deformities. *Genij ortopedii*. 2019; 25(4): 468-473. doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-4-468-473. (In Russ.)
29. Littmann I. (ed.). *Operative surgery*. Budapest; 1988. (In Russ.)
30. Zagorodny NV, Protsko VG, Ketov MS, Panov AA, Mazalov AV. Surgical correction of rigid dislocation of toes. *The Department of Traumatology and Orthopedics*. 2016; 4(20): 33-36. (In Russ.)
31. Gen GE, Degtyar NI. *Method of treatment of hammer toe*: Inventor's Certificate N 559697 of the USSR. (In Russ.)
32. Ezhov MYu, Batalov OA, Korytkin AA. *Method for surgical treatment of hammer toes*: Patent N 2419454 of the Russian Federation. (In Russ.)
33. Lysenkov VP, Chernyaeva GV, Lysenkova TV. *Method of surgical treatment of hammer toes*: Patent N 2455956 of the Russian Federation. (In Russ.)
34. Trnka HJ, Mühlbauer M, Zettl R, Myerson MS, Ritschl P. Comparison of the results of the Weil and Helal osteotomies for the treatment of metatarsalgia secondary to dislocation of the lesser metatarsophalangeal joints. *Foot Ankle Int*. 1999; 20(2): 72-79.
35. Miquies A, Slullitel G, Bilbao F, et al. Floating-toe deformity as a complication of the Weil osteotomy. *Foot Ankle Int*. 2004; 25(9): 609-613. doi: 10.1177/107110070402500902
36. Tadz AA, Protsko VG, Cherevtsov VN, Volkov AV. Comparison of the results of Helal and Weil osteotomy for the treatment of metatarsalgia in secondary dislocation in the metatarsophalangeal joints of the 2nd, 3rd and 4th metatarsal bones. *Kazan medical school diary*. 2017; III(XVII): 54-61. (In Russ.)
37. Highlander P, Von Herbulis E, Gonzalez A, et al. Complications of the Weil osteotomy. *Foot Ankle Spec*. 2011; 4(3): 165-170. doi: 10.1177/1938640011402822
38. Weil L Jr., Weil LS Sr., Sung W. Anatomic plantar plate repair using the Weil metatarsal osteotomy approach. *Foot Ankle Spec*. 2011; 4: 145-150.
39. Helal B. Metatarsal osteotomy for metatarsalgia. *J Bone Joint Surg*. 1957; (57): 187-192.
40. Haque S, Kakwani R, Chadwick C, et al. Outcome of minimally invasive distal metatarsal metaphyseal osteotomy (DMMO) for lesser toe metatarsalgia. *Foot Ankle Int*. 2016; 37(1): 58-63. doi: 10.1016/j.fuspru.2016.04.002
41. Bobrov DS, Shubkina AA, Lychagin AV, Slinyakov LYu, Drogin AR, Tselischeva EYu, et al. Results of surgical treatment of overloaded metatarsalgia using minimally invasive techniques. *The Department of Traumatology and Orthopedics*. 2018; 4(34): 7-15. (In Russ.)
42. Pérez-Muñoz I, Escobar-Antón D, Sanz-Gómez TA. The role of Weil and triple Weil osteotomies in the treatment of propulsive metatarsalgia. *Foot Ankle Int*. 2012; 33(6): 501-506.
43. Ketov MS, Protsko VG, Zagorodny NV, Ketova DV, Tadz AA. *Method for eliminating non-rigid hammer-like deformities of 2nd, 3rd, 4th toes in case of transverse flat feet*: Patent N 2610335 of the Russian Federation. (In Russ.)
44. Usoltsev IV, Leonova SN. *Method for surgical treatment of deformity of toes*: Patent N 2694467 of the Russian Federation. (In Russ.)
45. Usoltsev IV, Leonova SN. Method for surgical treatment of toes deformity. *Polytrauma*. 2018; (4): 51-59. (In Russ.)
46. Lui TH. Arthroscopic-assisted correction of claw toe or overriding toe deformity: plantar plate tenodesis. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2007; 127: 823-826.
47. Doty JF, Coughlin MJ. Metatarsophalangeal joint instability of the lesser toes and plantar plate deficiency. *J Am Acad Orthop Surg*. 2014; 22(4): 235-245.
48. Kavalsky GM, Bobrov DS, Rigin NV, Slinyakov LYu, Chensky AD. *Method of surgical restoration of the plantar ligament of the metatarsophalangeal joint in case of overloaded metatarsalgia or its traumatic ruptures*: Patent N 2604779 of the Russian Federation. (In Russ.)
49. Rigin NV, Bobrov DS, Slinyakov LYu, Mo Ts. New approach and results of surgical treatment of overloaded metatarsalgia in elastic foot deformities. *The Department of Traumatology and Orthopedics*. 2017; 4(30): 35. (In Russ.)

Сведения об авторах

Косарева Мария Анатольевна – младший научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: mary.good.mary@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0530-3409>

Леонова Светлана Николаевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: svetlana.leonova.1963@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3675-6355>

Information about the authors

Maria A. Kosareva – Junior Research Officer at the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: mary.good.mary@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0530-3409>

Svetlana N. Leonova – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: svetlana.leonova.1963@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3675-6355>

Статья получена: 10.11.2020. Статья принята: 02.12.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 10.11.2020. Accepted: 02.12.2020. Published: 26.12.2020.

Способ хирургического лечения молоткообразной деформации второго пальца стопы

Леонова С.Н., Усольцев И.В., Косарева М.А.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1)

Автор, ответственный за переписку: Леонова Светлана Николаевна, e-mail: svetlana.leonova.1963@mail.ru

Резюме

В статье представлен случай успешного хирургического лечения пациентки с молоткообразной деформацией второго пальца стопы, сопряжённой с деформацией первого пальца. При предоперационном обследовании пациентки на рентгенограмме в прямой проекции проведён расчёт длины необходимого укорочения второй плюсневой кости относительно длины третьей плюсневой кости и расчёт длины необходимого укорочения первой плюсневой кости известным методом. Для устранения деформации первого пальца стопы был использован авторский метод хирургического лечения. Для исправления деформации второго пальца стопы был использован предложенный способ, включающий следующие этапы: разметка линий остеотомий во время операции; выполнение остеотомий по намеченным линиям; удаление свободного костного фрагмента; точное выполнение необходимого укорочения второй плюсневой кости; фиксация остеотомированных фрагментов второй плюсневой кости канюлированным винтом. В результате проведённого хирургического лечения была достигнута коррекция вальгусного отклонения первого пальца и молоткообразной деформации второго пальца стопы.

Представленный клинический случай показывает, что при хирургическом лечении молоткообразной деформации второго пальца стопы важно учитывать индивидуальные особенности состояния стопы пациента, а именно соотношение длины второй и рядом расположенной третьей плюсневой кости. Проведение предварительного расчёта длины необходимого укорочения второй и первой плюсневой костей на рентгенограмме, точные разметки линий остеотомий и выполнение необходимого укорочения способствуют достижению баланса в соотношении длин плюсневых костей, восстановлению оптимального распределения нагрузки на головки плюсневых костей, более точной коррекции деформации второго и первого пальца, улучшению статодинамической функции стопы и снижению риска возникновения послеоперационных неудач.

Ключевые слова: молоткообразная деформация второго пальца, длина необходимого укорочения второй плюсневой кости

Для цитирования: Николаев В.М., Софронова С.И., Румянцев Е.К., Алексеева З.Н., Чирикова Н.К., Слепцова Н.А., Федорова С.А. Перекисное окисление липидов в дореактивном периоде холодовой травмы. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 243-247. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.31.

Method for Surgical Treatment of Hammer Deformity of the Second Toe

Leonova S.N., Usoltsev I.V., Kosareva M.A.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Svetlana N. Leonova, e-mail: svetlana.leonova.1963@mail.ru

Abstract

The article presents a case of successful surgical treatment of a patient with hammer-like deformity of the second toe associated with deformity of the first toe. During the preoperative examination of the patient, the length of the required shortening of the second metatarsal bone relative to the length of the third metatarsal bone was calculated on the X-ray in frontal projection and the length of the required shortening of the first metatarsal bone was calculated using a known method. To eliminate the deformity of the first toe, the author's method of surgical treatment was used. To correct the deformity of the second toe, the proposed method was used, which includes the following steps: marking the lines of osteotomies during the operation; performing osteotomies along the outlined lines; removal of a free bone fragment; precise implementation of the required shortening of the second metatarsal bone; fixation of the osteotomized fragments of the second metatarsal bone with a cannulated screw. As a result of the performed surgical treatment, correction of the hallux valgus and hammer-like deformity of the second toe was achieved.

The presented clinical case shows that in the surgical treatment of hammer deformity of the second toe, it is important to take into account the individual characteristics of the patient's foot condition, namely, the ratio of the length of the second and adjacent third metatarsal bones. Preliminary calculation of the length of the required shortening of the second and first metatarsal bones on the roentgenogram, precise markings of the osteotomy lines and the implementation of the necessary shortening contribute to achieving a balance in the ratio of the lengths of the metatarsal bones, restoring the optimal load distribution on the heads of the metatarsal bones, more accurate correction of the deformity of the second and first toes, and improving statodynamic function of the foot and reducing the risk of postoperative failures.

Key words: hammer-like deformity of the second toe, the length of the required shortening of the second metatarsal bone

For citation: Leonova S.N., Usoltsev I.V., Kosareva M.A. Method for Surgical Treatment of Hammer Deformity of the Second Toe. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 243-247. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.31.

ВВЕДЕНИЕ

Распространённым компонентом поперечного плоскостопия является молоткообразная деформация пальцев стопы. Чаще деформации подвергается второй палец, реже – III–V пальцы стопы [1]. Этому способствует анатомически превосходящая длина второй плюсневой кости и наибольшая нагружаемость её головки относительно других плюсневых костей. Молоткообразная деформация может быть сопряжённой с деформацией первого пальца стопы или изолированной [2].

В настоящее время хирургическое лечение молоткообразной деформации пальцев стопы включает применение разнообразных методик. При использовании различных остеотомий плюсневых костей (Weil, Helal, BRT-остеотомия, дистальная миниинвазивная метатарзальная остеотомия (DMMO), модифицированные остеотомии и др.) одним из недостатков, на наш взгляд, является то, что данные методики не предполагают проведения предварительных расчётов и не позволяют выполнить необходимое укорочение плюсневой кости. Это во многом обуславливает развитие таких послеоперационных неудач, как рецидивы деформации, рецидивы метатарзалгий, переходные метатарзалгии, тугоподвижность, контрактура, подвывих в плюснефаланговом суставе и др. В связи с этим актуальным является совершенствование методов хирургического лечения молоткообразной деформации пальцев стопы.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Обратить внимание на важность предварительного расчёта и выполнения необходимого укорочения второй плюсневой кости при хирургическом лечении молоткообразной деформации второго пальца стопы.

Приводим клинический пример, который показывает необходимость индивидуального подхода для каждого конкретного пациента с выполнением точных вычислений перед проведением хирургического лечения молоткообразной деформации второго пальца стопы.

КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР

Пациентка Л., 52 года, обратилась в клинику ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии».

Диагноз: Поперечно-продольное плоскостопие II–III степени справа. Вальгусное отклонение I пальца правой стопы, неригидная молоткообразная деформация II пальца правой стопы. Деформирующий артроз 1-го плюснефалангового сустава II степени справа. Комбинированная контрактура 1-го, 2-го плюснефаланговых суставов. Болевой синдром.

Пациентка предъявляла жалобы на боли в области переднего отдела правой стопы, метатарзалгию под головкой второй плюсневой кости, деформацию I и II пальцев правой стопы, невозможность полноценно пользоваться правой нижней конечностью, носить стандартную обувь.

При обследовании выполнено рентгенографическое исследование стопы в натуральную величину в прямой и боковой проекции (рис. 1).

Для устранения молоткообразной деформации II пальца стопы на рентгенограмме в прямой проекции выполнили расчёт длины необходимого укорочения второй плюсневой кости следующим образом: проведена линия продольной оси второй плюсневой кости, отмечены крайняя дистальная точка дистального эпифиза второй плюсневой кости и крайняя дистальная точка

дистального эпифиза третьей плюсневой кости. Через эти точки провели перпендикуляры к линии продольной оси второй плюсневой кости. Измерили расстояние между первым и вторым перпендикулярами на линии продольной оси второй плюсневой кости, которое у данной пациентки составило 10 мм, что характеризовало анатомически длинную вторую плюсневую кость относительно третьей плюсневой кости. Затем вычли из полученной величины 2 мм и получили длину необходимого укорочения второй плюсневой кости – 8 мм. Кроме того, выполнили предварительный расчёт на рентгенограмме необходимого укорочения первой плюсневой кости [3].



Рис. 1. Пациентка Л. Предоперационная рентгенограмма правой стопы: а – прямая проекция; б – боковая проекция

Fig. 1. Patient L. Preoperative X-ray scan of the right foot: a – frontal projection; b – lateral projection

После выполненных расчётов, необходимых для устранения деформации I и II пальцев правой стопы, приступили к оперативному лечению. В асептических условиях, под спинномозговой анестезией в положении пациентки лёжа на спине наложен кровоостанавливающий турникет на нижнюю треть правого бедра. Оперативное лечение начинали с коррекции вальгусного отклонения первого пальца правой стопы известным методом, который вклю-

чал выполнение остеотомии первой плюсневой кости с формированием фигурных направленных пропилов [4].

Затем приступили к устранению деформации второго пальца стопы. Выполнен тыльный прямой проекционный разрез длиной 3 см над дистальной третью второй плюсневой кости. Края раны разведены, выделены шейка и дистальная часть диафиза второй плюсневой кости, рассечена и отведена в стороны надкостница. Отступив от шейки второй плюсневой кости проксимально 10 мм, перпендикулярно продольной оси второй плюсневой кости провели линию первой остеотомии. После этого провели линию второй остеотомии параллельно линии первой, отступив от неё расстояние, равное длине необходимого укорочения второй плюсневой кости (8 мм).

При помощи осцилляторной пилы по линии первой остеотомии выполнена остеотомия второй плюсневой

кости во фронтальной плоскости под углом 80° к её горизонтальной оси от тыльной к подошвенной поверхности плюсневой кости в дистальном направлении. При помощи распатора разведены остеотомированные фрагменты второй плюсневой кости. Затем выполнена вторая остеотомия по линии второй остеотомии параллельно плоскости первой остеотомии, полученный свободный костный фрагмент удалён. После этого концы проксимального и дистального фрагмента второй плюсневой кости сопоставлены, выполнена компрессия по оси кости до полного контакта её фрагментов. Фрагменты второй плюсневой кости фиксированы канюлированным винтом. Рана обильно промыта растворами антисептиков, на рану наложены послойные швы, асептическая повязка. После операции выполнено рентгенологическое исследование правой стопы (рис. 2).



Рис. 2. Пациентка Л. Послеоперационная рентгенограмма правой стопы: а – прямая проекция; б – боковая проекция
Fig. 2. Patient L. Postoperative X-ray scan of the right foot: а – frontal projection; б – lateral projection



Рис. 3. Пациентка Л. Фото правой стопы через 10 месяцев после операции: а – вид сверху; б – вид спереди
Fig. 3. Patient L. Photo of the right foot 10 months after the surgery: а – top view; б – frontal view

С первых суток после операции пациентке разрешено ходить с иммобилизацией правой стопы разгружающим ортопедическим ботинком в течение 4 недель. Проведена профилактика тромбоэмболических осложнений. Течение послеоперационного периода благоприятное, на 7-е сутки после операции пациентка выписана на амбулаторное лечение с рекомендациями. В результате оперативного лечения была достигнута коррекция вальгусного отклонения первого пальца и молоткообразной деформации II пальца правой стопы.

Были проведены контрольные осмотры через 1, 3 и 6 месяцев после операции. Срок наблюдения за пациенткой составил 10 месяцев. На контрольном осмотре через 10 месяцев после оперативного лечения: пациентка передвигается без дополнительной опоры, с полной нагрузкой на обе ноги,

не хромот, безболезненно полностью поднимается на носки, носит стандартную обувь; при ходьбе и в покое боль отсутствует; движения в плюснефаланговых суставах безболезненные, в полном объёме; метатарзалгии под головками плюсневых костей левой стопы не отмечается. Рецидивов деформации I и II пальцев правой стопы нет (рис. 3).

На контрольных рентгенограммах правой стопы отмечено удовлетворительное сращение остеотомированных костных фрагментов второй и первой плюсневой кости, отсутствие рецидива молоткообразной деформации II пальца правой стопы. Вторая плюсневая кость длиннее третьей на 2 мм, то есть был достигнут баланс между длинами второй и третьей плюсневых костей (рис. 4).

Пациентка удовлетворена косметическим и функциональным результатами проведённого лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленный клинический случай хирургического лечения молоткообразной деформации II пальца стопы, сопряжённой с деформацией I пальца, показывает, что важно учитывать индивидуальные особенности состояния стопы пациента, а именно соотношение длины второй и рядом расположенной третьей плюсневой кости.

Проведение предварительного расчёта на рентгенограмме длины необходимого укорочения второй и первой плюсневых костей, точные разметки линий остеотомий и выполнение необходимого укорочения способствуют достижению баланса в соотношении длин плюсневых костей, восстановлению оптимального распределения нагрузки на головки плюсневых костей, более точной коррекции деформации II и I пальцев, улучшению статодинамической функции стопы и снижению риска возникновения послеоперационных неудач.

Клинический случай демонстрируется с согласия пациентки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Привалов А.М. Современные возможности хирургической коррекции молоткообразной деформации пальцев стопы. *Казанский медицинский журнал*. 2017; 98(2): 296-299.
2. Блаженко А.Н., Черевцов В.Н., Тадж А.А., Протко В.Г., Загородний Н.В. Способ хирургического восстановления плантарной пластинки малого плюснефалангового сустава прямым подошвенным доступом при травматических разрывах ее вследствие перегрузочной метатарзалгии: Пат. № 2673382(13)C1 Рос. Федерация; МПК A61B 17/56. № 2018126338; заявл. 17.07.2018; опубл. 26.11.2018; Бюл. № 33.
3. Леонова С.Н., Усольцев И.В. Хирургическое лечение перекрещенных пальцев стопы. *Новости хирургии*. 2019; 27(2): 227-231.
4. Усольцев И.В., Леонова С.Н. Способ оперативного лечения вальгусного отклонения первого пальца стопы: Пат. № 2592604 Рос. Федерация; МПК A61 B5/055. № 2015119292/15; заявл. 21.05.2015; опубл. 01.07.2016; Бюл. № 21.

REFERENCES

1. Privalov AM. Modern possibilities of surgical correction of hammer toes. *Kazan medical journal*. 2017; 98(2): 296-299. (In Russ.)
2. Blazhenko AN, Cherevtsov VN, Tadz AA, Protsko VG, Zagorodny NV. The method of surgical restoration of the plantar plate of the small metatarsophalangeal joint using direct plantar approach in case of traumatic ruptures due to overload metatarsalgia: Patent N 2673382(13)C1 of the Russian Federation. (In Russ.)
3. Leonova SN, Usoltsev IV. Surgical treatment of crossed toes. *Novosti khirurgii*. 2019; 27(2): 227-231. (In Russ.)
4. Usoltsev IV, Leonova SN. Method for surgical treatment of hallux valgus of the first toe: Patent N 2592604 of the Russian Federation. (In Russ.)



Рис. 4. Пациентка Л. Рентгенограмма правой стопы через 10 месяцев после операции: а – прямая проекция, б – боковая проекция

Fig. 4. Patient L. X-ray scan of the right foot 10 months after the surgery: а – frontal projection; б – lateral projection

Сведения об авторах

Леонова Светлана Николаевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: svetlana.leonova.1963@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3675-6355>

Усольцев Иван Владимирович – кандидат медицинских наук, научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, e-mail: ivu38@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4175-8403>

Косарева Мария Анатольевна – младший научный сотрудник научно-клинического отдела травматологии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: mary.good.mary@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0530-3409>

Information about the authors

Svetlana N. Leonova – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: svetlana.leonova.1963@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3675-6355>

Ivan V. Usoltsev – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: ivu38@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4175-8403>

Maria A. Kosareva – Junior Research Officer at the Clinical Research Department of Traumatology, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: mary.good.mary@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-0530-3409>

Статья получена: 16.07.2020. Статья принята: 03.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 16.07.2020. Accepted: 03.11.2020. Published: 26.12.2020.

ХИРУРГИЯ SURGERY

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.32

Успешный опыт применения фекальной трансплантации у пациентки с тяжёлым псевдомембранозным колитом

Шедоева Л.Р.¹, Чашкова Е.Ю.¹, Рубцов А.С.²¹ 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: Шедоева Людмила Руслановна, e-mail: cristal608@yandex.ru

Резюме

Введение. В настоящее время отмечен прирост числа пациентов, у которых диагностирован псевдомембранозный колит, вызванный *Clostridioides difficile*, что значительно увеличивает частоту госпитализаций, срок пребывания пациентов в стационаре, затраты на их лечение. Известные медикаментозные способы коррекции патологического состояния не всегда способны привести к выздоровлению после первого курса лечения – зачастую требуются повторные и длительные курсы терапии, особенно при рецидиве псевдомембранозного колита. Альтернативным способом лечения является трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ) от донора. В настоящее время ТФМ включена в национальные клинические руководства в ряде стран Европы, США, Китае и Австралии. В России данный метод не зарегистрирован, однако имеются отдельные публикации о его успешном применении при ряде заболеваний желудочно-кишечного тракта, онкогематологических, аутоиммунных заболеваниях.

Цель работы. Показать результат успешного лечения тяжёлого псевдомембранозного колита после процедуры трансплантации фекальной микробиоты от донора.

Материал и методы. Амбулаторное лечение острой респираторной инфекции антибактериальным препаратом широкого спектра действия привело к развитию тяжёлого псевдомембранозного колита у пациентки молодого трудоспособного возраста. Стандартная медикаментозная терапия метронидазолом и ванкомицином была безуспешна. Во время илеоколоноскопии выполнена трансплантация фекальной микробиоты от донора.

Результаты. Однократная процедура фекальной трансплантации способствовала полному выздоровлению пациентки, быстрой реабилитации, отсутствию рецидива псевдомембранозного колита в течение более 2 лет наблюдения.

Заключение. С позиции доказательной медицины в настоящее время показана высокая эффективность метода трансплантации фекальной микробиоты, однако в России необходима законодательная база для введения данного метода лечения с его включением в клинические рекомендации для лечения тяжёлых форм клостридиальной инфекции, резистентной к стандартной терапии, и при рецидиве инфекции.

Ключевые слова: *Clostridioides difficile*, псевдомембранозный колит, трансплантация фекальной микробиоты, колоноскопия

Для цитирования: Шедоева Л.Р., Чашкова Е.Ю., Рубцов А.С. Успешный опыт применения фекальной трансплантации у пациентки с тяжёлым псевдомембранозным колитом. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 248-253. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.32.

Successful Experience of Fecal Transplantation in a Patient with Severe Pseudomembranous Colitis

Shedoeva L.R.¹, Chashkova E.Yu.¹, Rubtsov A.S.²¹ Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation);² Irkutsk Regional Clinical Hospital (Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

Corresponding author: Lyudmila R. Shedoeva, e-mail: cristal608@yandex.ru

Abstract

Introduction. At the present time there is increase the number of patients diagnosed with pseudomembranous colitis due to *Clostridioides difficile*, respectively it significantly increases the frequency of hospitalizations, the length of hospital stay and the cost of treatment. Approved drug methods for correcting a pathological condition are not always able to lead to recovery after the first use, repeated and prolonged courses of therapy are often required, especially with recurrent *Clostridioides difficile*. An alternative way of treatment is fecal microbiota transplantation from a donor. Nowadays, fecal microbiota transplantation is included in national clinical guidelines in several countries in Europe, the USA and Australia. In Russia this method has not been registered, however, there are some publications about its successful application in gastrointestinal diseases, oncohematology, and some autoimmune diseases.

Aim. To show the result of successful treatment of severe pseudomembranous colitis after a single fecal microbiota transplantation.

Material and methods. Outpatient treatment of an acute respiratory infection with a broad-spectrum antibacterial drug caused the development of severe pseudomembranous colitis in a young patient. Standard courses of metronidazole and vancomycin were unsuccessful. Transplantation of fecal microbiota from a donor was performed via ileocolonoscopy.

Results. A single fecal microbiota transplantation contributed to the patient's complete recovery, short term rehabilitation and the absence of recurrence of *Clostridioides difficile* within two years.

Conclusions. Evidence-based medicine has shown the high efficiency of fecal microbiota transplantation. In Russia a legislative basis is needed for including fecal microbiota transplantation in clinical guidelines for the treatment of severe *Clostridioides difficile* resistant to standard therapy.

Key words: *Clostridioides difficile*, pseudomembranous colitis, fecal microbiota transplantation, colonoscopy

For citation: Shedoeva L.R., Chashkova E.Yu., Rubtsov A.S. Successful Experience of Fecal Transplantation in a Patient with Severe Pseudomembranous Colitis. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 248-253. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.32.

ВВЕДЕНИЕ

В связи с повседневным применением антибактериальных препаратов широкого спектра действия как на амбулаторном этапе лечения, так и в условиях стационара в настоящее время отмечен рост числа пациентов, у которых диагностирован псевдомембранозный колит (ПМК), вызванный токигенными штаммами *Clostridioides difficile* (CDI). В США в 2011 г. было зарегистрировано более 450 000 случаев CDI, число первых рецидивов составило 83 000, число смертельных случаев – более 29 000 [1]. Псевдомембранозный колит значительно увеличивает длительность пребывания пациентов в стационаре и затраты на их лечение. Ежегодные расходы на лечение CDI, составляют порядка 1 млрд долларов США [2].

Стандартная схема лечения псевдомембранозного колита включает применение противопаразитарного препарата с антибактериальной активностью (метронидазол) и антибиотиков – гликопептидов (ванкомицин и тейкопланин) [3, 4]. В ряде зарубежных стран в настоящее время используется препарат из группы макролидов – фидаксомин, – который в клинических исследованиях продемонстрировал более низкий процент рецидивов CDI по сравнению с ванкомицином [5], однако данный препарат не зарегистрирован в России. В настоящее время для лечения CDI проходят клинические испытания антибиотик из группы оксазолидинона – кадазолид [6]. В некоторых странах Европы, в Австралии и США для профилактики рецидивов CDI и лечения рефрактерных форм заболевания широко применяется метод трансплантации фекальной микробиоты (ТФМ), который включён в национальные клинические руководства [7, 8, 9, 10].

Результаты первого проспективного рандомизированного клинического исследования, в котором сравнивались исходы стандартной антибактериальной терапии CDI с результатами применения ТФМ, были опубликованы E. van Nood et al. в 2013 г. Пациенты в исследовании были разделены на три группы: первая – группа терапии ванкомицином перорально (*per os*); пациентам второй группы в дополнение к стандартной медикаментозной терапии проводили лаваж кишечника; третья группа после 4-дневной терапии ванкомицином с последующим лаважем кишечника получала ТФМ с введением фекальной микробиоты через назоудоденальный зонд. Однако исследование было досрочно прекращено после промежуточного анализа в связи с заметными различиями в результатах лечения: 81 % пациентов в группе ТФМ имели устойчивое разрешение диареи после первого применения, в группах с использованием только ванкомицина данный результат зарегистрирован в 31 % и 23 % для первой и второй групп соответственно ($p < 0,001$) [11].

Эффективность метода ТФМ перед терапией ванкомицином была также продемонстрирована в исследовании G. Cammarota et al. (2015) при рецидиве клостридиальной инфекции. В рамках данного исследования пациенты первой группы в течение 3 дней принимали ванкомицин, затем им во время колоноскопии вводилась фекальная микробиота от донора; вторая группа пациентов получала только ванкомицин *per os*. Результаты показали эффективность метода ТФМ (90 %) по сравнению с группой стандартной терапии (26 %) ($p < 0,0001$) [12].

В России документы, регламентирующие проведение такого способа лечения CDI, в настоящее время не разработаны [3]. Однако имеются публикации, демонстрирующие эффективность ТФМ при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, детской и взрослой онкогематологии, антибиотикоассоциированной диареи, воспалительных заболеваниях кишечника и ряде аутоиммунных заболеваний [13, 14, 15, 16].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Показать результат успешного лечения тяжёлого псевдомембранозного колита после однократного выполнения трансплантации фекальной микробиоты от донора.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В представленном клиническом наблюдении обсуждается вопрос успешного применения трансплантации фекальной микробиоты, которая способствовала выздоровлению пациента и отсутствию у него рецидивов заболевания в течение нескольких лет наблюдения.

Пациентке Н., 1980 г. р., амбулаторно по поводу острой респираторной инфекции верхних дыхательных путей был назначен препарат амоксициллина в сочетании с клавулоновой кислотой. На фоне приёма в течение 7 дней (стандартный срок назначения антибактериальных препаратов) появились гипертермия, боли в животе, высыпания красного цвета на туловище. 18.12.2017 пациентка была госпитализирована в инфекционную больницу с подозрением на мононуклеоз, выраженным интоксикационным синдромом – диагноз не подтверждён. Несмотря на проводимую симптоматическую терапию, гипертермия и боли в животе сохранялись, в динамике в общем анализе крови выявлен выраженный лейкоцитоз ($35 \times 10^9/\text{л}$), сохранялась кожная сыпь. Пациентка переведена в терапевтическое отделение с подозрением на красную волчанку. В течение 2 недель появился асцит, жидкий стул до 12 раз в сутки, сохранялись боли в животе. 04.01.2018 значительно увеличилось количе-

ство асцитической жидкости в брюшной полости, боли в животе нарастали, пациентка была переведена в хирургическое отделение. В связи с подозрением на острую хирургическую патологию органов брюшной полости выполнена диагностическая лапаротомия. На операции в брюшной полости: до 5 л асцитической прозрачной жидкости (эвакуирована), выраженный отёк ободочной кишки и брыжейки толстой кишки; при дальнейшей ревизии другой патологии органов брюшной полости и малого таза не выявлено. Операция закончена дренированием брюшной полости. В послеоперационном периоде хирургических осложнений не было. Проводилась коррекция белково-электролитных нарушений. В динамике в анализах крови сохранялись гипопроотеинемия, гипоальбуминемия, анемия лёгкой степени тяжести. На контрольных рентгенограммах грудной клетки выявлен двусторонний гидроторакс. Пациентку стали беспокоить боли в суставах (лучезапястные, коленные, плечевые суставы), явления васкулита (сетчатое ливедо, петехии на кожных покровах нижних конечностей), сохранялся многократный жидкий стул, в том числе и ночью. Выполнена илеоколоноскопия, выявлены отёк и гиперемия слизистой оболочки толстой кишки на всем протяжении, а также несмываемые серо-жёлтые округлые бляшки на стенках ободочной кишки, типичные для псевдомембранозного колита (рис. 1).

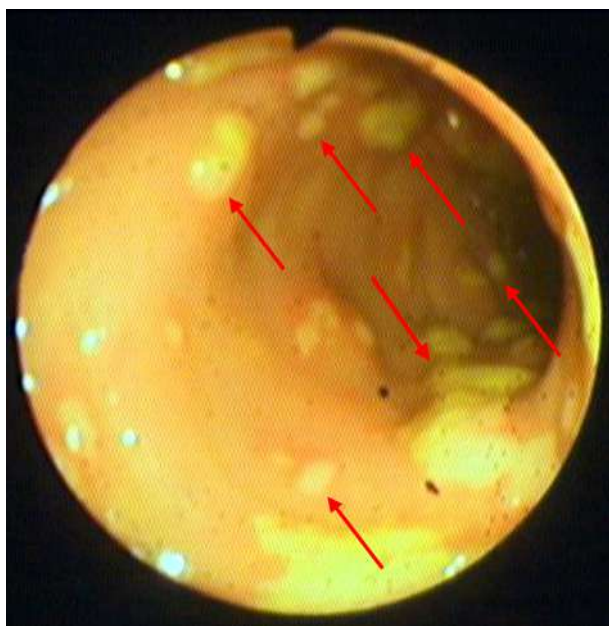


Рис. 1. Пациентка Н. Типичные псевдомембраны на слизистой оболочке толстой кишки (указаны стрелками)

Fig. 1. Patient N. Typical pseudomembranes on the colon mucosa (indicated by arrows)

Анализ кишечного отделяемого методом иммуноферментного анализа показал наличие токсинов А и В *Clostridioides difficile*. Выставлен диагноз: Псевдомембранозный колит, тяжёлое течение. Начат повторный курс консервативной терапии метронидазолом *per os* по схеме 500 мг 4 раза в день в течение 10 дней, санация толстой кишки ванкомицином ректально по 500 мг ежедневно и 500 мг *per os*. С умеренно выраженной положительной динамикой пациентка выписана из стационара с рекомендациями продолжить терапию

ванкомицином 1000 мг в сутки *per os* в течение 7 дней, назначены курсы пробиотиков и сахаромидет Буларди, которые пациентка принимала в течение нескольких недель. На фоне проведённого лечения сохранялись вздутие и бурление, умеренные боли в животе, неустойчивый стул, периодически – подъёмы температуры тела до 38-39 °С с ознобами. В марте 2018 г. пациентка отметила ухудшение своего состояния, потребовавшего госпитализации в отделение гастроэнтерологии. На фоне проводимой симптоматической и внутривенной инфузионной терапии сохранялись выраженные спастические боли в животе, подъёмы температуры тела до фебрильных цифр, ухудшение общего самочувствия и многократный жидкий водянистый стул с примесью крови. Потеря веса за период болезни составила 12 кг. Выявлены положительные токсины А и В *Clostridioides difficile* (с помощью анализа методом полимеразной цепной реакции) в кишечном содержимом.

После исчерпания возможных вариантов и схем консервативного лечения псевдомембранозного колита, вызванного *Clostridioides difficile*, 18.04.2018 пациентке выполнена илеоколоноскопия с проведением процедуры трансплантации фекальной микробиоты (рис. 2), введением 300 мл подготовленного по оригинальной методике донорского материала [17]. Процедура ТФМ проведена в рамках клинического исследования, одобренного локальным этическим комитетом ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (протокол № 9 от 09.11.2018). Пациентка подписала информированное согласие на участие в исследовании. Донорский материал получен от проверенного и обследованного, согласно протоколу, донора с неоднократным исследованием биоматериала на возможные патогены, условно-патогенную флору, паразитов. Консервация фекального трансплантата произведена методом глубокой заморозки при температуре -80 °С.

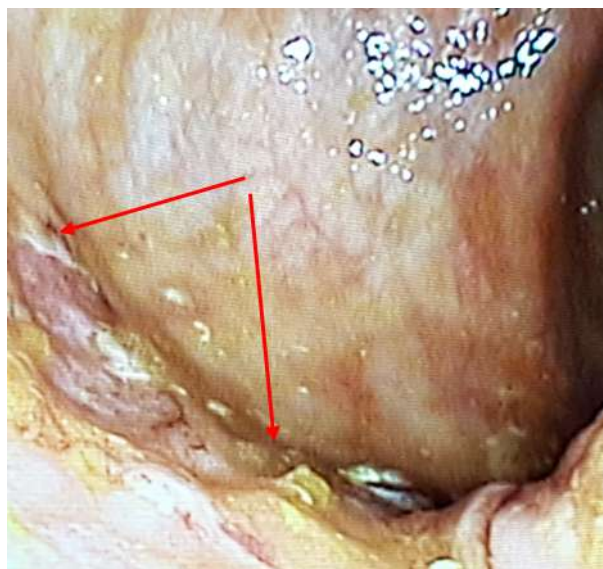


Рис. 2. Пациентка Н. Обширные язвенные дефекты на слизистой оболочке толстой кишки (указаны стрелками)

Fig. 2. Patient N. Extensive ulcerative defects on the colon mucosa (indicated by arrows)

Через несколько часов после процедуры у пациентки снизилась температура тела до нормальных значений,

на следующий день отсутствовали вздутие и бурление, значительно уменьшился болевой синдром в животе, впервые за несколько месяцев появился аппетит. Через 7 дней после проведения ТФМ нормализовался стул, отсутствовали боли в животе и подъёмы температуры тела. Пациентка была выписана на 10-е сутки после ТФМ. На контрольной эндоскопии через 6 (рис. 3) и 12 месяцев (рис. 4, 5, 6) после проведённой процедуры органической патологии толстой кишки выявлено не было. Через 6 месяцев пациентка вернулась к прежней массе тела. В течение периода наблюдения – более 2 лет – пациентка не предъявляет жалоб, стул 1 раз в сутки, оформленный, лабораторные показатели крови, мочи, кала в пределах нормальных значений, самочувствие удовлетворительное, социально адаптирована. Анализы на токсигенные штаммы *Clostridioides difficile* в течение 2 лет наблюдения, выполняемые каждые 6 месяцев наблюдения, отрицательные.

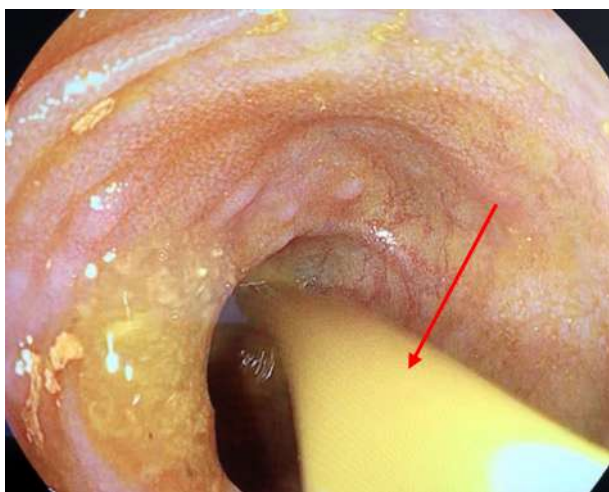


Рис. 3. Пациентка Н. Введение трансплантата в илеоцекальную зону через колоноскоп (указано стрелкой)

Fig. 3. Patient N. Introduction of the transplant into the ileocecal zone through a colonoscope (indicated by arrow)

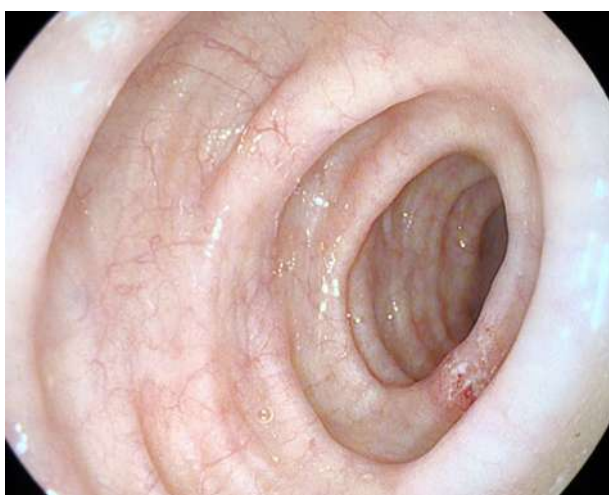


Рис. 4. Пациентка Н. Эндофото толстой кишки через 6 месяцев после трансплантации фекальной микробиоты: слизистая оболочка без признаков воспаления (норма)

Fig. 4. Patient N. Colon endoscopic image 6 months after fecal microbiota transplantation: mucous membrane has no signs of inflammation (normal)

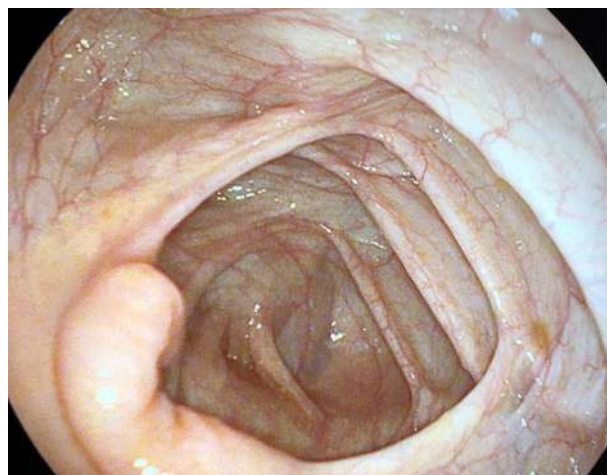


Рис. 5. Пациентка Н. Эндофото купола слепой кишки, баугиновой заслонки через 12 месяцев после трансплантации фекальной микробиоты: слизистая оболочка без признаков воспаления (норма)

Fig. 5. Patient N. Endoscopic image of cecum, Bauhin's valve 12 months after fecal microbiota transplantation: mucous membrane has no signs of inflammation (normal)

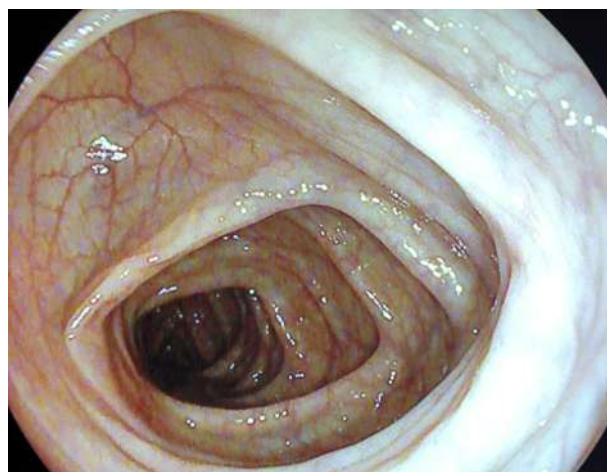


Рис. 6. Пациентка Н. Эндофото толстой кишки через 12 месяцев после трансплантации фекальной микробиоты: слизистая оболочка без признаков воспаления (норма)

Fig. 6. Patient N. Colon endoscopic image 12 months after fecal microbiota transplantation: mucous membrane has no signs of inflammation (normal)

РЕЗУЛЬТАТ

Представленное клиническое наблюдение демонстрирует необходимость осторожного назначения антибактериальных препаратов широкого спектра действия в повседневной медицинской практике, расширения арсенала возможных способов медикаментозной коррекции инфекции, вызванной *Clostridioides difficile*, и внедрения новых технологий, позволяющих эффективно и в короткие сроки способствовать разрешению патологических состояний, угрожающих жизни.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Убедительная база рандомизированных клинических исследований в мире по эффективности ТФМ с позиции доказательной медицины широко представлена в публикациях, материалах конгрессов и международных

форумов. В России необходима законодательная база для введения метода ТФМ с включением в клинические рекомендации для лечения тяжёлых рецидивирующих форм клостридиальной инфекции, резистентной к стандартной терапии.

Конфликт интересов

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

Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lessa F, Mu Y, Bamberg W, Beldavs Z, Dumyati G, Dunn J, et al. Burden of Clostridium difficile infection in the United States. *N Engl J Med*. 2015; 372: 825-834. doi: 10.1056/NEJMoa1408913
2. Knight D, Elliott B, Chang B, Perkins T, Riley T. Diversity and evolution in the genome of Clostridium difficile. *Clin Microbiol Rev*. 2015; 28(3): 721-741. doi: 10.1128/CMR.00127-14
3. Ивашкин В.Т., Ющук Н.Д., Маев И.В., Лапина Т.Л., Полуэктова Е.А., Шифрин О.С., и др. Рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению Clostridium difficile-ассоциированной болезни. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии*. 2016; 26(5): 56-65. doi: 10.22416/1382-4376-2016-26-5-56-65
4. Шелыгин Ю.А., Алешкин В.А., Сухина М.А., Мионов А.Ю., Брико Н.И., Козлов Р.С., и др. Клинические рекомендации Национальной ассоциации специалистов по контролю инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, и Общероссийской общественной некоммерческой организации «Ассоциации колопроктологов России» по диагностике, лечению и профилактике Clostridium difficile-ассоциированной диареи (CDI). *Колопроктология*. 2018; 3(65): 7-23.
5. Momani L, Abughanimeh O, Boonpheng B, Gabriel J, Young M. Fidaxomicin vs vancomycin for the treatment of a first episode of Clostridium difficile infection: a meta-analysis and systematic review. *Cureus*. 2018; 10(6): e2778. doi: 10.7759/cureus.2778
6. Aziz M, Weissman S, Rajani FR, Eid A, Nawras A. Cadazolid vs vancomycin for the treatment of Clostridioides difficile infection: systematic review with meta-analysis. *Curr Clin Pharmacol*. 2020; 15(1): 4-10. doi: 10.2174/1574884714666190802124301
7. Surawicz C, Brandt L, David G, Ananthakrishnan A, Curry S, Gilligan P, et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of Clostridium difficile infections. *Am J Gastroenterol*. 2013; 108(4): 478-498. doi: 10.1038/ajg.2013.4
8. Sokol H, Galperine T, Kapel N, Bourlioux P, Seksik P, Barbut F, et al. Faecal microbiota transplantation in recurrent Clostridium difficile infection: Recommendations from the French Group of Faecal Microbiota Transplantation. *Dig Liver Dis*. 2016; 48(3): 242-247. doi: 10.1016/j.dld.2015.08.017
9. Cammarota G, Ianiro G, Tilg H, Rajilić-Stojanović M, Kump P, Satokari R, et al. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut*. 2017; 66: 569-580. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313017
10. Kelly C, Kahn S, Kashyap P, Laine L, Rubin D, Atreja A. Update on fecal microbiota transplantation 2015: indications, methodologies, mechanisms, and outlook. *Gastroenterology*. 2015; 149(1): 223-237. doi: 10.1053/j.gastro.2015.05.008
11. Van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent Clostridium difficile. *N Engl J Med*. 2013; 368: 407-15. doi: 10.1056/NEJMoa1205037
12. Cammarota G, Masucci L, Ianiro G, Bibbò S, Dinoi G, Costamagna G, et al. Randomized clinical trial: faecal microbiota transplantation by colonoscopy vs. vancomycin for the treatment

of recurrent Clostridium difficile infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015; 41: 835-843. doi: 10.1111/apt.13144

13. Голощапов О.В., Чуракина Д.В., Кучер М.А., Клементьева Р.В., Сидоренко С.В., Гостев В.В., и др. Трансплантация фекальной микробиоты при критическом состоянии пациентов в онкогематологической практике. *Вестник анестезиологии и реаниматологии*. 2019; 3(16): 63-73. doi: 10.21292/2078-5658-2019-16-3-63-73

14. Шрайнер Е.В., Морозов В.В., Хавкин А.И., Власов В.В., Куликов В.Г., Кольцова С.Т. Опыт проведения трансплантации фекальной микробиоты у пациентки с клостридиальной инфекцией. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2018; 12(160): 80-83. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-160-12-80-83

15. Щербakov П.Л., Белова Н.Д., Генерозов Э.В., Жгун Е.С., Иванова И.О., Ильина Е.Н., и др. Применение фекальной трансплантации в лечении заболеваний пищеварительного тракта (первый клинический опыт). *Доктор.Ру*. 2019; 3(158): 40-46. doi: 10.31550/1727-2378-2019-158-3-40-46

16. Карпунин О.Ю., Хасанов Э.Р., Бикбов Б.Ш. Трансплантация фекальной микробиоты в современной клинической практике. *Практическая медицина*. 2017; 6(107): 7-12.

17. Апарцин К.А., Кулундуков А.А., Чашкова Е.Ю. Устройство для подготовки донорского фекального материала к трансплантации: Пат. № 2659417 Рос. Федерация; МПК А61К 35/12 (2015.01), А61J 3/00 (2006.01). № 2017122089; заявл. 22.06.2017; опубл. 02.07.2018.

REFERENCES

1. Lessa F, Mu Y, Bamberg W, Beldavs Z, Dumyati G, Dunn J, et al. Burden of Clostridium difficile infection in the United States. *N Engl J Med*. 2015; 372: 825-834. doi: 10.1056/NEJMoa1408913
2. Knight D, Elliott B, Chang B, Perkins T, Riley T. Diversity and evolution in the genome of Clostridium difficile. *Clin Microbiol Rev*. 2015; 28(3): 721-741. doi: 10.1128/CMR.00127-14
3. Ivashkin VT, Yushchuk ND, Maev IV, Lapina TL, Poluektova EA, Shifrin OS, et al. Recommendations of the Russian Gastroenterological Association for the diagnosis and treatment of Clostridium difficile-associated disease. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2016; 26(5): 56-65. doi: 10.22416/1382-4376-2016-26-5-56-65. (In Russ.)
4. Shelygin YuA, Aleshkin VA, Sukhina MA, Mironov AYU, Briko NI, Kozlov RS, et al. Clinical guidelines of the National Association of Specialists in Control of Medical Care-Associated Infections and the Association of Coloproctologists of Russia for the diagnosis, treatment and prevention of Clostridium difficile-associated diarrhea. *Koloproktologia*. 2018; 3(65): 7-23. (In Russ.)
5. Momani L, Abughanimeh O, Boonpheng B, Gabriel J, Young M. Fidaxomicin vs vancomycin for the treatment of a first episode of Clostridium difficile infection: a meta-analysis and systematic review. *Cureus*. 2018; 10(6): e2778. doi: 10.7759/cureus.2778
6. Aziz M, Weissman S, Rajani FR, Eid A, Nawras A. Cadazolid vs vancomycin for the treatment of Clostridioides difficile infection: systematic review with meta-analysis. *Curr Clin Pharmacol*. 2020; 15(1): 4-10. doi: 10.2174/1574884714666190802124301
7. Surawicz C, Brandt L, David G, Ananthakrishnan A, Curry S, Gilligan P, et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of Clostridium difficile infections. *Am J Gastroenterol*. 2013; 108(4): 478-498. doi: 10.1038/ajg.2013.4
8. Sokol H, Galperine T, Kapel N, Bourlioux P, Seksik P, Barbut F, et al. Faecal microbiota transplantation in recurrent Clostridium difficile infection: Recommendations from the French Group of Faecal Microbiota Transplantation. *Dig Liver Dis*. 2016; 48(3): 242-247. doi: 10.1016/j.dld.2015.08.017
9. Cammarota G, Ianiro G, Tilg H, Rajilić-Stojanović M, Kump P, Satokari R, et al. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut*. 2017; 66: 569-580. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313017
10. Kelly C, Kahn S, Kashyap P, Laine L, Rubin D, Atreja A. Update on fecal microbiota transplantation 2015: indications,

methodologies, mechanisms, and outlook. *Gastroenterology*. 2015; 149(1): 223-237. doi: 10.1053/j.gastro.2015.05.008

11. Van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med*. 2013; 368: 407-15. doi: 10.1056/NEJMoa1205037

12. Cammarota G, Masucci L, Ianiro G, Bibbò S, Dini G, Costamagna G, et al. Randomized clinical trial: faecal microbiota transplantation by colonoscopy vs. vancomycin for the treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015; 41: 835-843. doi: 10.1111/apt.13144

13. Goloshchapov OV, Churakina DV, Kucher MA, Klemenetyeva RV, Sidorenko SV, Gostev VV, et al. Fecal microbiota transplantation in critical condition of patients in oncohematological practice. *Messenger of Anesthesiology and Resuscitation*. 2019; 3(16): 63-73. doi: 10.21292/2078-5658-2019-16-3-63-73. (In Russ.)

14. Shrairer EV, Morozov VV, Khavkin AI, Vlasov VV, Kulikov VG, Koltsova ST. Experience of fecal microbiota transplantation in a patient with clostridial infection. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2018; 12(160): 80-83. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-160-12-80-83. (In Russ.)

15. Shcherbakov PL, Belova ND, Generozov EV, Zhgun ES, Ivanova IO, Ilyina EN, et al. Using fecal transplantation in the treatment of digestive tract diseases (first clinical experience). *Doctor. Ru*. 2019; 3(158): 40-46. doi: 10.31550/1727-2378-2019-158-3-40-46 (In Russ.)

16. Karpukhin OYu, Khasanov ER, Bikbov BSh. Fecal microbiota transplantation in modern clinical practice. *Practical Medicine*. 2017; 6(107): 7-12. (In Russ.)

17. Apartsin KA, Kulundukov AA, Chashkova EYu. *Device for preparing donor fecal material for transplantation*: Patent N 2659417 of the Russian Federation. (In Russ.)

Сведения об авторах

Шедоева Людмила Руслановна – младший научный сотрудник лаборатории реконструктивной хирургии научного отдела клинической хирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: cristal608@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6525-3522>

Чашкова Елена Юрьевна – кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией реконструктивной хирургии научного отдела клинической хирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: elenachash1027@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7953-6523>

Рубцов Алексей Сергеевич – врач-эндоскопист эндоскопического отделения, ГБУЗ Иркутская область «Знак почёта» областная клиническая больница, e-mail: Alexeyvv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3746-504X>

Information about the authors

Lyudmila R. Shedoeva – Junior Research Officer at the Laboratory of Reconstructive Surgery of the Research Department of Clinical Surgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: cristal608@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6525-3522>

Elena Yu. Chashkova – Cand. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Reconstructive Surgery of the Research Department of Clinical Surgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: elenachash1027@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7953-6523>

Alexey S. Rubtsov – Endoscopist at the Endoscopy Department, Irkutsk Regional Clinical Hospital, e-mail: Alexeyvv@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3746-504X>

Статья получена: 08.10.2020. Статья принята: 18.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 08.10.2020. Accepted: 18.11.2020. Published: 26.12.2020.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ EXPERIMENTAL RESEARCHES

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.33

Вовлечение ERK MAPK каскада в формирование спаечного процесса в брюшной полости

Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Родионова Л.В., Чепурных Е.Е., Аюшинова Н.И.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

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

Резюме

Обоснование. ERK1 и ERK2 (extracellular signal-regulated kinase) представляют собой родственные протеин-серин/треониновые киназы, которые участвуют в регуляции клеточного цикла, миграции и выживания клеток, дифференциации, метаболизма, пролиферации. Перспективна оценка данного каскада для определения возможности воздействия на патологические состояния посредством регуляции ERK1/2.

Цель исследования: оценка вовлечения ERK MAPK каскада в развитие спаечного процесса в брюшной полости.

Методы. Эксперименты проводились на самцах крыс линии Вистар. Моделировали спаечный процесс в брюшной полости (n = 40). Сроки исследования – от 2 часов до 30 суток. В качестве контроля исследованы образцы тканей 5 интактных животных. Готовили гистологические срезы, которые окрашивали гистохимически на ERK1. Оценивали экспрессию ERK1 и ERK2 с помощью ПЦР.

Результаты. Методом ПЦР установлено вовлечение в процесс как ERK1, так и ERK2 каскада, причём, судя по изменению экспрессии генов, вовлечение последнего в процесс происходит более активно. Гистохимическое исследование подтвердило участие ERK каскадов в управлении репарацией при повреждении серозной оболочки. Гистохимически выявлено повышение экспрессии ERK1 с двумя пиками активности – на 1 и 30 суток.

Заключение. Наши данные устанавливают многоканальное управление репаративным процессом в зоне повреждения серозной оболочки с вовлечением как p38, так и ERK MAPK каскадов, что важно учитывать при разработке способов воздействия на процесс ранозаживления в брюшной полости.

Ключевые слова: спаечный процесс, MAPK, ERK1, ERK2

Для цитирования: Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Родионова Л.В., Чепурных Е.Е., Аюшинова Н.И. Вовлечение ERK MAPK каскада в формирование спаечного процесса в брюшной полости. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 254-258. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.33.

Involvement of the ERK MAPK Cascade in the Formation of Adhesions in the Abdominal Cavity

Shurygina I.A., Shurygin M.G., Rodionova L.V., Chepurnykh E.E., Ayushinova N.I.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

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

Abstract

Background. ERK1 and ERK2 (extracellular signal-regulated kinase) are related protein serine / threonine kinases that are involved in the regulation of the cell cycle, cell migration and survival, differentiation, metabolism, and proliferation. Evaluation of this cascade is promising to determine the possibility of influencing pathological conditions through the regulation of ERK1/2.

Aim of the study. To assess the involvement of the ERK MAPK cascade in the development of adhesions in the abdominal cavity.

Methods. The experiments were carried out on male Wistar rats. The adhesion process in the abdominal cavity was simulated (n = 40). The research time is from 2 hours to 30 days. Tissue samples from 5 intact animals were examined as a control. Histological sections were prepared and stained histochemically for ERK1. The expression of ERK1 and ERK2 was assessed by PCR.

Results. Using the PCR method, the involvement of both the ERK1 and ERK2 cascades in the process was established, and, judging by the change in gene expression, the latter is more actively involved in the process. Histochemical study confirmed the role of ERK cascades in the management of repair in serous membrane injury. Histochemically revealed an increase in ERK1 expression with two peaks of activity – at 1 and 30 days.

Conclusion. Our data establish multichannel control of the reparative process in the area of damage to the serous membrane with the involvement of both the p38 and ERK MAPK cascades, which is important to consider when developing methods of influencing the wound healing process in the abdominal cavity.

Key words: adhesive process, MAPK, ERK1, ERK2

For citation: Shurygina I.A., Shurygin M.G., Rodionova L.V., Chepurnykh E.E., Ayushinova N.I. Involvement of the ERK MAPK Cascade in the Formation of Adhesions in the Abdominal Cavity. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 254-258. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.33.

ERK1 и ERK2 (extracellular signal-regulated kinase) представляют собой родственные протеин-серин/треониновые киназы, которые участвуют в каскаде передачи сигнала Ras-Raf-MEK-ERK. Этот каскад участвует в регуляции большого количества процессов, включая адгезию клеток, развитие клеточного цикла, миграцию и выживание клеток, дифференциацию, метаболизм, пролиферацию и транскрипцию [1].

Показано, что активация ERK каскада играет важную роль в процессе заживления ран [2]. Так, за счёт активации ERK1/2 каскада происходит пролиферация фибробластов под действием фибробластического фактора роста [3]. Сходный эффект на активность внеклеточной сигнально-регулируемой киназы ERK в отношении почечных фибробластов оказывает применение интерлейкина-17A (IL-17A) в дозе 25–100 мкг [4].

In vitro продемонстрировано, что добавление аргинина в среду культивирования клеток активировало ERK1/2 каскад, что значительно увеличивало пролиферативный потенциал фибробластов [5]. Потеря ERK1 и ERK2 в генетически модифицированных эмбриональных клетках приводит к полной остановке пролиферации фибробластов, связанной с остановкой клеточного цикла в стадии G(1) и преждевременным репликативным старением [6].

Показано, что ряд эффектов лекарственных средств на развитие соединительной ткани связан с опосредованным ингибированием ERK каскада. Так, COX-2 ингибитор целекоксиб вызывает подавление пролиферации активированных фибробластов и экспрессию коллагена, что связывают с ингибированием регулируемой внеклеточными сигналами ERK1/2 [7]. А апигенин ингибирует пролиферацию, дифференциацию и синтетическую функцию в культуре клеток почечных фибробластов за счёт снижения фосфорилирования ERK1/2 [8].

На математической модели показано, что фосфорилирование ERK и активация связанного с ним каскада происходит под действием проангиогенных факторов (VEGF – vascular endothelial growth factor, FGF – fibroblast growth factor), причём при одновременном воздействии обоих факторов эффект многократно возрастает [9].

Кроме этого, ERK MAPK вовлечены в перестройку соединительной ткани через регуляцию секреции матричных металлопротеиназы (MMP), которые играют ключевую роль в ремоделировании тканей, разрушая компоненты внеклеточного матрикса. Этот механизм вовлечён во множество физиологических и патологических клеточных процессов, включая заживление ран. ERK1 и ERK2 участвуют в индуцированной IL-1 β экспрессии MMP3 [10].

Ранее нами была отмечена активация ERK каскада при хроническом, но не при остром аппендиците [11].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка вовлечения ERK MAPK каскада в развитие спаечного процесса в брюшной полости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводились на 45 животных – самцах крыс линии Вистар. Моделировали спаечный процесс в брюшной полости разработанным нами способом [12, 13].

Выведение животных из эксперимента проведено на 2, 6, 12 часов, 1-е, 3-и, 7-е, 14-е и 30-е сутки. В качестве контроля исследованы образцы тканей 5 интактных животных.

Материал из зоны формирования спаек фиксировали раствором FineFix (Milestone, Италия), проводку и заливку в парафин осуществляли по классической методике [14, 15].

Готовили срезы, которые окрашивали иммуногистохимическим способом [16]. В качестве первичных антител применяли антитела к p44 MAPK (ERK1) (MAPK3) Rabbit Monoclonal Antibody (Epitomics, Clone ID: EP4967, Cat. N 3739-1, Lot YH111626, рабочее разведение 1:200).

Кроме этого проведена оценка экспрессии генов MAPK каскадов ERK1 и ERK2 в зоне заживления раны, с помощью набора для ПЦР MAP Kinase Signaling Pathway RT²-Profiler™ PCR Array (Qiagen GmbH, Германия; кат. № PARN-061Z). Результаты представлены по отношению к экспрессии генов в области серозно-мышечного слоя слепой кишки у интактных животных.

Все исследования проведены с соблюдением принципов гуманного обращения с животными и одобрены комитетом по этике ИИЦХТ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследована экспрессия p44 MAPK (ERK1), являющегося одним из основных компонентов ERK MAPK каскада. Как известно, цитоплазматическая форма p44 фосфорилируется с участием белка передачи сигнала *ras* при активации тирозинкиназных рецепторов и интегринов. Фосфорилированная форма в цитоплазме участвует в управлении апоптозом и трансляцией, а также транслируется в ядро, где регулирует транскрипцию.

Установлено, что через 2 часа после повреждения брюшины наблюдается минимальная экспрессия p44 в зоне повреждения. Через 6 часов и 12 часов экспрессия p44 усиливалась до умеренной.

Через сутки после повреждения брюшины резко повышалась экспрессия p44 в серозном и субсерозном слоях. Через 3 суток сохранялась умеренная экспрессия p44 в зоне формирования спайки (рис. 1).

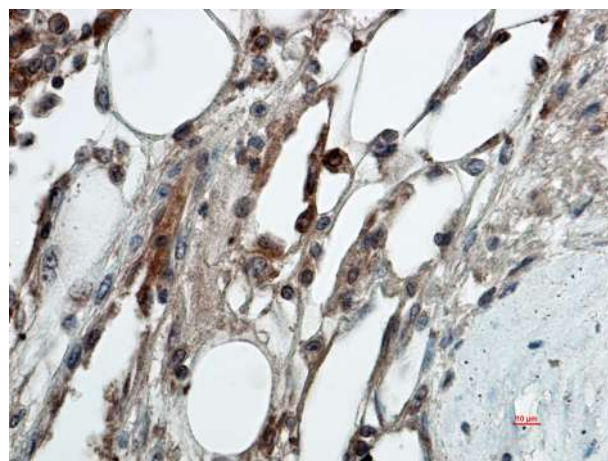


Рис. 1. 3-и сутки эксперимента. Умеренная экспрессия p44 в зоне повреждения. Иммуногистохимия, первичные антитела – p44 MAPK (ERK1) (MAPK3) (Epitomics), 1 : 200, докрасивание гематоксилином

Fig. 1. 3rd day of the experiment. Moderate expression of p44 in the damaged area. Immunohistochemistry, primary antibodies – p44 MAPK (ERK1) (MAPK3) (Epitomics), 1 : 200, counterstaining with hematoxylin

На 7-е и 14-е сутки экспрессия p44 снижалась (рис. 2, 3).

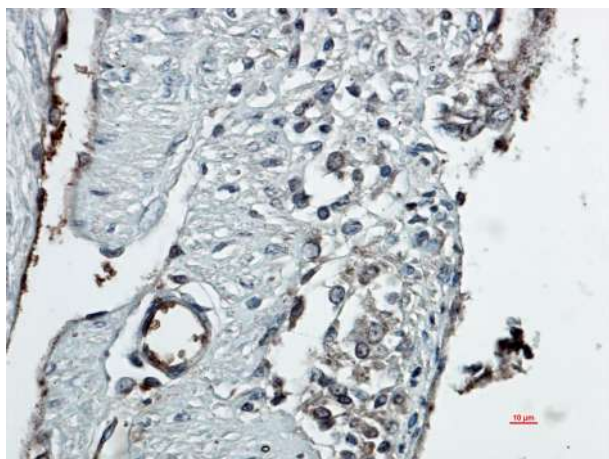


Рис. 2. 7-е сутки эксперимента. Незначительная экспрессия p44 в зоне повреждения. Иммуногистохимия, первичные антитела – p44 MAPK (ERK1) (MAPK3) (Epitomics), 1:200, докрасивание гематоксилином

Fig. 2. 7th day of the experiment. Insignificant expression of p44 in the damaged area. Immunohistochemistry, primary antibodies – p44 MAPK (ERK1) (MAPK3) (Epitomics), 1 : 200, counterstaining with hematoxylin

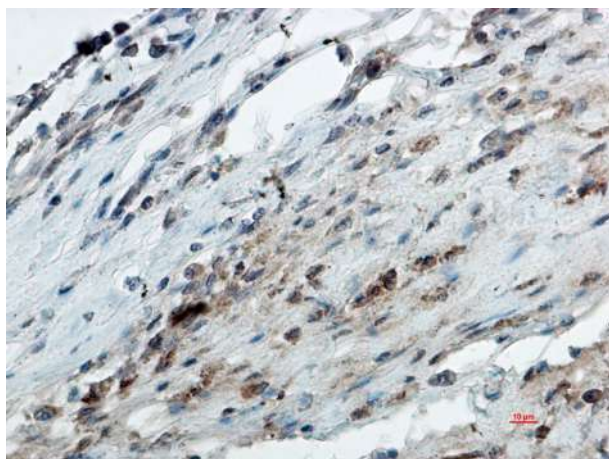


Рис. 3. 14-е сутки эксперимента. Незначительная экспрессия p44 в зоне повреждения. Иммуногистохимия, первичные антитела – p44 MAPK (ERK1) (MAPK3) (Epitomics), 1 : 200, докрасивание гематоксилином

Fig. 3. 14th day of the experiment. Insignificant expression of p44 in the damaged area. Immunohistochemistry, primary antibodies – p44 MAPK (ERK1) (MAPK3) (Epitomics), 1 : 200, counterstaining with hematoxylin

К 30-м суткам экспрессия p44 вновь повышалась (рис. 4).

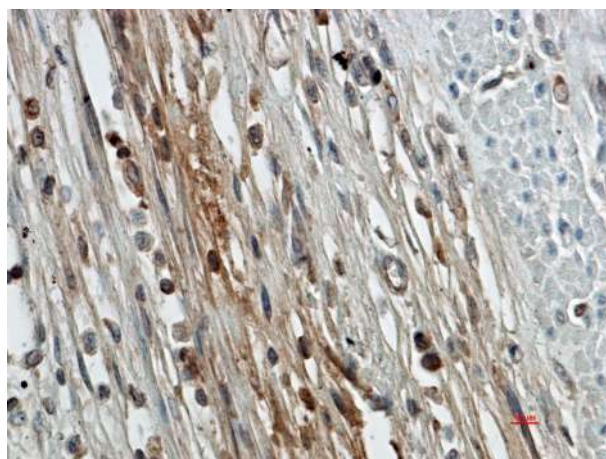


Рис. 4. 30-е сутки эксперимента. Умеренная экспрессия p44 в зоне повреждения. Иммуногистохимия, первичные антитела – p44 MAPK (ERK1) (MAPK3) (Epitomics), 1 : 200, докрасивание гематоксилином

Fig. 4. 30th day of the experiment. Moderate expression of p44 in the damaged area. Immunohistochemistry, primary antibodies – p44 MAPK (ERK1) (MAPK3) (Epitomics), 1 : 200, counterstaining with hematoxylin

При оценке экспрессия генов ERK2 и ERK1 установлено, что уровень экспрессии ERK2 был повышен весь период наблюдения – с 12 часов до 14 суток. Пик активности генов ERK2 приходился на 3-и сутки, ERK1 – на 7-е сутки. Статистическая значимость различий по сравнению с интактными животными ($p < 0,05$) для ERK1 установлена на 12 часов, 1 и 7 суток, для ERK2 – на 12 часов, 1, 3 и 7 суток (рис. 5).

Таким образом, нами установлено, что наряду с p38 MAPK (mitogen-activated protein kinase) каскадом [17] в спаечный процесс в брюшной полости вовлекается ERK каскад. Методом ПЦР установлено вовлечение в процесс как ERK1, так и ERK2 каскада, причём, судя по изменению экспрессии генов, вовлечение последнего в процесс происходит более активно (рис. 5). Гистохимическое исследование подтвердило участие ERK каскадов в управлении репарацией при повреждении серозной оболочки.

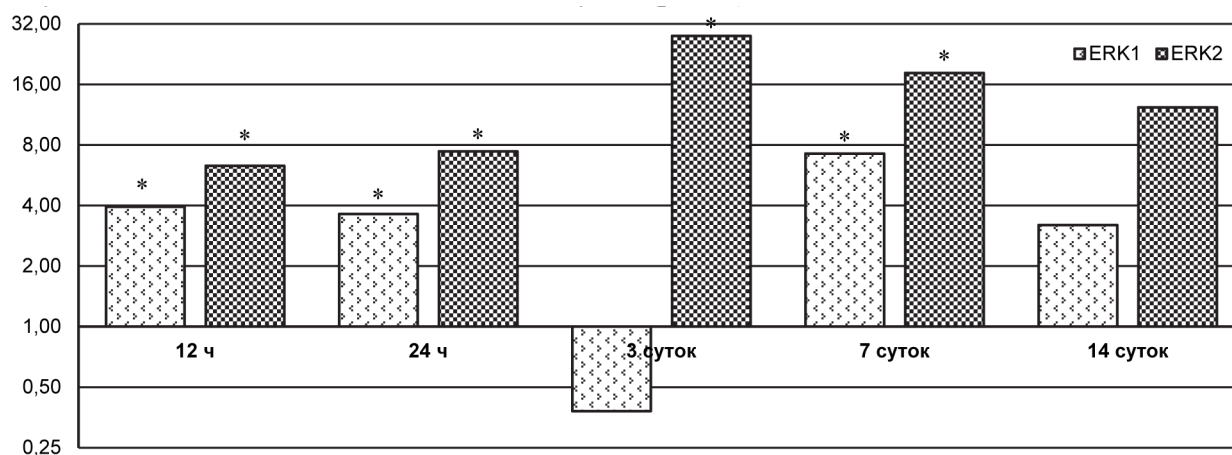


Рис. 5. Экспрессия ERK в зоне повреждения. Экспрессия в контроле во всех случаях принята за 1. * – статистическая значимость различий по сравнению с интактными животными ($p < 0,05$)

Fig. 5. Expression of ERK in the damaged area. Expression in control in all cases was taken as 1. * – statistical significance of differences compared with intact animals ($p < 0.05$)

Гистохимически выявлено повышение экспрессии ERK1 с двумя пиками активности – на 1 и 30 суток.

Наши данные устанавливают многоканальное управление репаративным процессом в зоне повреждения серозной оболочки с вовлечением как p38, так и ERK MAPK каскадов, что важно учитывать при разработке способов воздействия на процесс ранозаживления в брюшной полости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Roskoski R. ERK1/2 MAP kinases: structure, function, and regulation. *Pharmacol Res.* 2012; 66(2): 105-143. doi: 10.1016/j.phrs.2012.04.005
2. Konstantinou E, Zagoriti Z, Pyriochou A, Poulas K. Micro-current stimulation triggers MAPK signaling and TGF- β 1 release in fibroblast and osteoblast-like cell lines. *Cells.* 2020; 9(9): 1924. doi: 10.3390/cells9091924
3. Makino T, Jinnin M, Muchemwa FC, Fukushima S, Kogushi-Nishi H, Moriya C, et al. Basic fibroblast growth factor stimulates the proliferation of human dermal fibroblasts via the ERK1/2 and JNK pathways. *Br J Dermatol.* 2010; 162(4): 717-723. doi: 10.1111/j.1365-2133.2009.09581.x
4. Weng C-H, Li Y-J, Wu H-H, Liu S-H, Hsu H-H, Chen Y-C, et al. Interleukin-17A induces renal fibrosis through the ERK and Smad signaling pathways. *Biomed Pharmacother.* 2020; 123: 109741. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109741
5. Fujiwara T, Kanazawa S, Ichibori R, Tanigawa T, Magome T, Shingaki K, et al. L-arginine stimulates fibroblast proliferation through the GPRC6A-ERK1/2 and PI3K/Akt pathway. *PLoS One.* 2014; 9(3): e92168. doi: 10.1371/journal.pone.0092168
6. Voisin L, Saba-El-Leil MK, Julien C, Frémin C, Meloche S. Genetic demonstration of a redundant role of extracellular signal-regulated kinase 1 (ERK1) and ERK2 mitogen-activated protein kinases in promoting fibroblast proliferation. *Mol Cell Biol.* 2010; 30(12): 2918-2932. doi: 10.1128/MCB.00131-10
7. Li F, Fan C, Zeng B, Zhang C, Chai Y, Liu S, Ouyang Y. Celecoxib suppresses fibroblast proliferation and collagen expression by inhibiting ERK1/2 and SMAD2/3 phosphorylation. *Mol Med Rep.* 2012; 5(3): 827-831. doi: 10.3892/mmr.2011.722
8. Li N, Wang Z, Sun T, Lei Y, Liu X, Li Z. Apigenin alleviates renal fibroblast activation through AMPK and ERK signaling pathways in vitro. *Curr Pharm Biotechnol.* 2020; 21(11): 1107-1118. doi: 10.2174/1389201021666200320140908
9. Song M, Finley SD. ERK and Akt exhibit distinct signaling responses following stimulation by pro-angiogenic factors. *Cell Commun Signal.* 2020; 18(1): 114. doi: 10.1186/s12964-020-00595-w
10. Kitanaka N, Nakano R, Sakai M, Kitanaka T, Namba S, Konno T, et al. ERK1/ATF-2 signaling axis contributes to interleukin-1 β -induced MMP-3 expression in dermal fibroblasts. *PLoS One.* 2019; 14(9): e0222869. doi: 10.1371/journal.pone.0222869
11. Шурьгина И.А., Панасюк А.И., Дремина Н.Н., Каня О.В., Аюшинова Н.И., Шурьгин М.Г. Хронический аппендицит – отдельная нозологическая форма? *Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал им. акад. Б.В. Петровского.* 2018; 6(2): 55-58. doi: 10.24411/2308-1198-2018-12007
12. Аюшинова Н.И., Лепехова С.А., Шурьгина И.А., Рой Т.А., Шурьгин М.Г., Зарицкая Л.В., и др. *Способ моделирования спаечного процесса в брюшной полости.* Пат. № 2467401 Рос. Федерация. № 2011131678/14; заявл. 27.07.2011; опубл. 20.11.2012.
13. Аюшинова Н.И., Шурьгина И.А., Шурьгин М.Г., Лепехова С.А., Балькина А.В., Малгатаева Е.Р. и др. Экспериментальная модель для разработки способов профилактики спаечного процесса в брюшной полости. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск).* 2012; 109(2): 51-53.
14. Волкова О.В., Елецкий Ю.К. *Основы гистологии с гистологической техникой.* М.: Медицина; 1982.
15. Bancroft JD, Gamble M. *Theory and practice of histological techniques.* Elsevier Health Sciences; 2008.

16. Shurygina IA, Shurygin MG, Ayushinova NI, Granina G.B., Zelenin N.V. 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

17. Шурьгина И.А., Аюшинова Н.И., Родионова Л.В., Чепурных Е.Е., Шурьгин М.Г. Участие механизмов передачи сигнала и регуляции генов каскадом mark p38 (митоген-активируемых протеинкиназ) в репарации повреждений серозной оболочки брюшной полости. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* 2020; 2(174): 91-94. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-174-2-91-94

REFERENCES

1. Roskoski R. ERK1/2 MAP kinases: structure, function, and regulation. *Pharmacol Res.* 2012; 66(2): 105-143. doi: 10.1016/j.phrs.2012.04.005
2. Konstantinou E, Zagoriti Z, Pyriochou A, Poulas K. Micro-current stimulation triggers MAPK signaling and TGF- β 1 release in fibroblast and osteoblast-like cell lines. *Cells.* 2020; 9(9): 1924. doi: 10.3390/cells9091924
3. Makino T, Jinnin M, Muchemwa FC, Fukushima S, Kogushi-Nishi H, Moriya C, et al. Basic fibroblast growth factor stimulates the proliferation of human dermal fibroblasts via the ERK1/2 and JNK pathways. *Br J Dermatol.* 2010; 162(4): 717-723. doi: 10.1111/j.1365-2133.2009.09581.x
4. Weng C-H, Li Y-J, Wu H-H, Liu S-H, Hsu H-H, Chen Y-C, et al. Interleukin-17A induces renal fibrosis through the ERK and Smad signaling pathways. *Biomed Pharmacother.* 2020; 123: 109741. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109741
5. Fujiwara T, Kanazawa S, Ichibori R, Tanigawa T, Magome T, Shingaki K, et al. L-arginine stimulates fibroblast proliferation through the GPRC6A-ERK1/2 and PI3K/Akt pathway. *PLoS One.* 2014; 9(3): e92168. doi: 10.1371/journal.pone.0092168
6. Voisin L, Saba-El-Leil MK, Julien C, Frémin C, Meloche S. Genetic demonstration of a redundant role of extracellular signal-regulated kinase 1 (ERK1) and ERK2 mitogen-activated protein kinases in promoting fibroblast proliferation. *Mol Cell Biol.* 2010; 30(12): 2918-2932. doi: 10.1128/MCB.00131-10
7. Li F, Fan C, Zeng B, Zhang C, Chai Y, Liu S, Ouyang Y. Celecoxib suppresses fibroblast proliferation and collagen expression by inhibiting ERK1/2 and SMAD2/3 phosphorylation. *Mol Med Rep.* 2012; 5(3): 827-831. doi: 10.3892/mmr.2011.722
8. Li N, Wang Z, Sun T, Lei Y, Liu X, Li Z. Apigenin alleviates renal fibroblast activation through AMPK and ERK signaling pathways in vitro. *Curr Pharm Biotechnol.* 2020; 21(11): 1107-1118. doi: 10.2174/1389201021666200320140908
9. Song M, Finley SD. ERK and Akt exhibit distinct signaling responses following stimulation by pro-angiogenic factors. *Cell Commun Signal.* 2020; 18(1): 114. doi: 10.1186/s12964-020-00595-w
10. Kitanaka N, Nakano R, Sakai M, Kitanaka T, Namba S, Konno T, et al. ERK1/ATF-2 signaling axis contributes to interleukin-1 β -induced MMP-3 expression in dermal fibroblasts. *PLoS One.* 2019; 14(9): e0222869. doi: 10.1371/journal.pone.0222869
11. Shurygina IA, Panasyuk AI, Dremina NN, Ayushinova NI, Shurygin MG. Chronic appendicitis – an independent nosological entity? *Clinical and Experimental Surgery.* 2018; 6(2): 55-58. doi: 10.24411/2308-1198-2018-12007. (In Russ.)
12. Ayushinova NI, Lepekova SA, Shurygina IA, Roy TA, Shurygin MG, Zaritskaya LV, et al. *Method for simulating abdominal commissures.* Patent N 2467401 of the Russian Federation. (In Russ.)
13. Ayushinova NI, Shurygina IA, Shurygin MG, Lepekova SA, Balykina AV, Malgataeva ER, et al. Experimental model for developing of ways to prevent adhesions in the abdominal cavity. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk).* 2012; 109(2): 51-53. (In Russ.)
14. Volkova OV, Eletskiy JuK. *Basics of histology with histological technique.* Moscow: Meditsina; 1982. (In Russ.)

15. Bancroft JD, Gamble M. *Theory and practice of histological techniques*. Elsevier Health Sciences; 2008.
16. Shurygina IA, Shurygin MG, Ayushinova NI, Granina G.B., Zelenin N.V. 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

17. Shurygina IA, Ayushinova NI, Rodionova LV, Chepurnykh EE, Shurygin MG. The participation of signal transduction and gene regulation mechanisms in the cascade of MAPK p38 (mitogen-activated protein kinases) in the repair of damage to the serous membrane of the abdominal cavity. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2020; 2(174): 91-94. doi: 10.31146/1682-8658-ecg-174-2-91-94. (In Russ.)

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>

Шурыгин Михаил Геннадьевич – доктор медицинских наук, заведующий научно-лабораторным отделом, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», <https://orcid.org/0000-0001-5921-0318>

Родионова Любовь Викторовна – кандидат биологических наук, заведующая лабораторией клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; <https://orcid.org/0000-0002-5080-9225>

Чепурных Елена Евгеньевна – кандидат медицинских наук, учёный секретарь, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: chepurnikh.ee@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3197-4276>

Аюшинова Наталья Ильинична – кандидат медицинских наук, научный сотрудник, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: katnatlove@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5200-3962>

Information about the authors

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

Mikhail G. Shurygin – Dr. Sc. (Med.), Head of the Scientific Laboratory Department, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, <https://orcid.org/0000-0001-5921-0318>

Lyubov V. Rodionova – Cand. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, <https://orcid.org/0000-0002-5080-9225>

Elena E. Chepurnykh – Cand. Sc. (Med.), Academic Secretary, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: chepurnikh.ee@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3197-4276>

Natalia I. Ayushinova – Cand. Sc. (Med.), Research Officer, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: katnatlove@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5200-3962>

Статья получена: 06.11.2020. Статья принята: 20.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 06.11.2020. Accepted: 20.11.2020. Published: 26.12.2020.

Изменение формы дурального мешка на модели ламинэктомии на разных сроках репаративного процесса в эксперименте

Гольдберг О.А.¹, Животенко А.П.¹, Самойлова Л.Г.¹, Сорокиков В.А.^{1,2}, Шурыгина И.А.¹

¹ ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия);

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

Автор ответственный за переписку: Животенко Александр Петрович, e-mail: sivotenko1976@mail.ru

Резюме

Эпидуральный фиброз – это динамический патологический процесс, развивающийся и прогрессирующий во времени и являющийся полиэтиологичным и мультифакторным осложнением в послеоперационном периоде при операциях на позвоночнике.

Цель исследования. Изучить репаративный процесс и формирования эпидурального фиброза и его влияние на форму дурального мешка в зоне ламинэктомии на разных сроках заживления раны.

Материалы и методы. Для оценки динамики формирования эпидурального фиброза и вовлечения в данный процесс твердой мозговой оболочки 35 крысам-самцам породы Wistar в возрасте 4–5 месяцев выполнена ламинэктомия на уровне позвонка L_{VI}. Животных разделили на 5 групп в соответствии со сроками выведения из эксперимента – на 3-и, 7-е, 14-е, 21-е и 28-е сутки. Гистологический материал изучали при окраске гематоксилином и эозином. Для оценки деформации дурального мешка оценивалось отношение поперечника к длине канала на гистологических препаратах в зоне ламинэктомии: данные измерения проводили у группы интактных животных на уровне позвонка L_{VI} (n = 7).

Результаты. В процессе исследования наблюдали изменение соотношения размеров дурального мешка. В сроки от 3 до 14 суток прогрессивно снижается передне-задний размер дурального мешка, параллельно нарастает поперечный размер, что ведёт к изменению его формы. При последующем наблюдении происходит некоторая коррекция формы. Возможно, изменение формы дурального мешка в сроки до 14 суток обусловлено отёком, плазматическим пропитыванием тканей, а также ростом соединительной ткани. Последующее снижение отёка и перестройка вновь сформированной соединительной ткани ведут к коррекции формы дурального мешка.

Заключение. В работе оценена динамика морфологических изменений в зоне формирования эпидурального фиброза при ламинэктомии в эксперименте. Установлена динамика изменения просвета дурального мешка. Отмечено раннее вовлечение в патологический процесс твердой мозговой оболочки, её заинтересованность в течение всего срока наблюдения. Также на гистологических препаратах отмечается вовлечение нервных волокон конского хвоста в патологический процесс с ранних сроков после оперативного вмешательства: вакуолизация и деструкция нервных волокон, адгезия волокон между собой и к твердой мозговой оболочке, а также активация эндотелиоцитов в vasa nervorum.

Ключевые слова: ламинэктомия, морфометрия, дуральный мешок, эпидуральный фиброз, твердая мозговая оболочка, репаративный процесс, эксперимент

Для цитирования: Гольдберг О.А., Животенко А.П., Самойлова Л.Г., Сорокиков В.А., Шурыгина И.А. Изменение формы дурального мешка на модели ламинэктомии на разных сроках репаративного процесса в эксперименте. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 259-264. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.34.

Change of the Shape of the Dural Sac in the Laminectomy Model at Different Stages of the Reparation in the Experiment

Goldberg O.A.¹, Zhivotenko A.P.¹, Samoilova L.G.¹, Sorokovikov V.A.^{1,2}, Shurygina I.A.¹

¹ Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation);

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

Corresponding author: Alexander P. Zhivotenko, e-mail: sivotenko1976@mail.ru

Abstract

Epidural fibrosis is a dynamic pathological process that develops and progresses over time and is a polyetiological and multifactorial complication in the postoperative period during spinal surgery.

Aim of the study. To study the reparative process and the formation of epidural fibrosis and its effect on the shape of the dural sac in the area of laminectomy at different periods of wound healing.

Materials and methods. To assess the dynamics of the formation of epidural fibrosis and the involvement of the dura mater in this process, laminectomy was performed at the level of the L_{VI} vertebra in 35 male Wistar rats at the age of 4–5 months. The animals were divided into 5 periods of withdrawal from the experiment on days 3, 7, 14, 21, and 28. The histological material was studied by staining with hematoxylin and eosin. To assess the deformation of the dural sac, the ratio of the diameter to the length of the canal was assessed on histological preparations in the laminectomy zone, and these measurements were carried out in a group of intact animals at the level of the L_{VI} vertebra (n = 7).

Results. During the observation process, a change in the ratio of the sizes of the dural sac has been observed. In the period from days 3 to 14, the anterior-posterior size of the dural sac progressively decreases, in parallel, the transverse size increases, which leads to a change in its shape. On follow-up, some form correction occurs. It is possible that the change in the shape of the dural sac in terms of up to 14 days is due to edema, plasma saturation of tissues, as well as the growth of connective tissue. The subsequent decrease in edema and the restructuring of the newly formed connective tissue leads to a correction of the shape of the dural sac.

Conclusion. In the work, the dynamics of morphological changes in the zone of formation of epidural fibrosis during laminectomy in the experiment was assessed. The dynamics of changes in the lumen of the dural sac was established. The early involvement of the dura mater in the pathological process, its interest during the entire observation period was noted. Also, histological preparations show the involvement of the nerve fibers of the cauda equina in the pathological process from the early stages after surgery: vacuolization and destruction of nerve fibers, adhesion of fibers to each other and to the dura mater, as well as activation of endotheliocytes in the vasa nervorum.

Key words: laminectomy, morphometry, dural sac, epidural fibrosis, dura mater, reparation, experiment

For citation: Goldberg O.A., Zhivotenko A.P., Samoilova L.G., Sorokovikov V.A., Shurygina I.A. Change of the Shape of the Dural Sac in the Laminectomy Model at Different Stages of the Reparation in the Experiment. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 259-264. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.34.

ВВЕДЕНИЕ

Ламинэктомия – это широко распространённая оперативная методика, применяемая для декомпрессии сосудисто-невральных структур позвоночного канала, которая часто используется при дегенеративных стенозах и позвоночно-спинальной травме со сдавлением [1, 2]. Несмотря на развитие хирургических технологий, частота осложнений при лечении дегенеративных заболеваний поясничного отдела позвоночника составляет не менее 40 %, что заставляет авторов искать новые способы лечения, которые невозможно разработать без понимания процессов регенерации, связанных с оперативным вмешательством [3, 4]. Одним из неблагоприятных факторов, ведущих к осложнениям в послеоперационном периоде, является формирование послеоперационного эпидурального фиброза (ПЭФ), который служит одной из основных причин развития синдрома неудачно оперированного позвоночника [5, 6]. Частота встречаемости ПЭФ с различной степенью его выраженности составляет от 10 до 95 %. Такой высокий разброс в процентном отношении развития ПЭФ зависит от информативности (чувствительности и специфичности) используемых методов диагностики данной патологии. Так, по данным работы Н.А. Bosscher, при проведении эпидуроскопии у 95,6 % пациентов имелся обширный эпидуральный фиброз, а болевой синдром присутствовал лишь у 84,3 % этих пациентов, и интенсивность его зависела от выраженности (степени) эпидурального фиброза [7]. Считают, что выраженный эпидуральный фиброз в первую очередь вызван чрезмерной пролиферацией фибробластов, которая распространяется в позвоночный канал и вызывает сдавление невральных структур в нём и в конечном итоге приводит к нарушению их функции и запускает болевой синдром с ноцицептивным и нейропатическим компонентами боли и нарушением показателей проведения нервного импульса по данным стимуляционной ЭНМГ [8, 9].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить в динамике репаративный процесс в зоне ламинэктомии и его влияние на форму дурального мешка в зоне ламинэктомии на разных сроках заживления раны.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент проведён на крысах-самцах породы Wistar в возрасте 4–5 месяцев, массой тела 250–300 г

($n = 35$). Всем животным проведено оперативное вмешательство в объёме ламинэктомии на уровне позвонка L_{VI} . Крысы были прооперированы однотипно.

Хирургическое вмешательство проводили в асептических условиях под общей анестезией с внутримышечным введением 0,1% атропина в дозе 50 мг/кг, дроперидола – 1,5 мг/кг, кетамина – 35 мг/кг массы тела. Крысу фиксировали на столике Сеченова в положении лёжа на животе. Операционное поле выбривали, обрабатывали его антисептическим раствором. Срединный разрез кожи и подлежащих мягких тканей осуществляли над остистыми отростками на уровне позвонков L_V – S_1 с использованием бинокулярной оптики с 6-кратным увеличением и микрохирургического инструментария. С помощью высокооборотистой дрели, оснащённой алмазным буром (1 мм в диаметре), проводили выпиливание позвонковой дуги позвонка L_{VI} с обеих сторон с последующим удалением жёлтой связки, не травмируя твёрдую мозговую оболочку (ТМО). Гемостаз осуществлялся орошением раны 0,9% раствором NaCl с послойным ушиванием раны атрауматической иглой.

Животных из эксперимента выводили передозировкой тиопентала натрия на сроки 3, 7, 14, 21 и 28 суток. Проводилась блок-резекция места оперативного вмешательства. Материал фиксировали в растворе Finefix (Италия) в течение 3 суток, затем его декальцинировали в течение 96 часов в 8% забуференном растворе муравьиной кислоты с последующей заливкой в Histomix [10]. На микротоме получали поперечные гистологические срезы с окрашиванием их гематоксилином и эозином, которые изучали в зоне ламинэктомии деформации канала, ограниченного твёрдой мозговой оболочкой. Нами оценивалось отношение поперечника к длиннику дурального мешка на гистологических препаратах, полученных при увеличении $\times 20$. Поперечник измерялся от боковых точек ТМО, а длинник – от точек в передне-заднем направлении, расположенных на максимально удалённом друг от друга расстоянии, по центру фигуры дурального мешка (рис. 1). Изображения обрабатывались с помощью программы Image J (Wayne Rasband), дистанция измерялась в пикселях.

Все гистологические срезы позвоночника оценивались слепым методом гистологом-патологоанатомом под световым микроскопом (Nikon 80i) в отношении морфометрических показателей дурального мешка. Средние значения были использованы для статистической оценки.

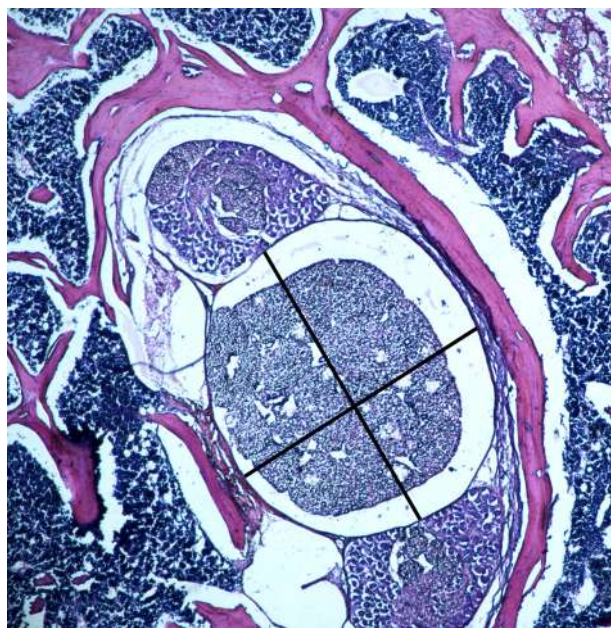


Рис. 1. Гистологический срез на уровне L_4-L_5 неоперированного животного, показаны измеряемые параметры дурального мешка

Fig. 1. Histological section at the L_4-L_5 level of a non-operated animal; measurable parameters of the dural sac are showed

Экспериментальное исследование выполнено соответственно нормативам ГОСТа в научном отделе экспериментальной хирургии с виварием ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» при свободном доступе животных к пище и воде. При выполнении исследования соблюдались требования Приказа Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755, а также «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных», утверждённых Приказом МЗ СССР № 742 от 13.11.1984 г., соблюдались все биоэтические нормы и правила работы с экспериментальными животными, согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1975, 2000). Протокол эксперимента одобрен локальным этическим комитетом ИНЦХТ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Эпидуральный фиброз – это динамический патологический процесс, развивающийся и прогрессирующий во времени и являющийся полиэтиологичным и мультифакторным осложнением в послеоперационном периоде при операциях на позвоночнике [1]. Репаративный процесс или заживление послеоперационной раны происходят через несколько перекрывающихся периодов [11, 12]. Воздействуя на данные периоды заживления и асептический воспалительный ответ в ране, можно изменять морфологическую структуру соединительнотканного рубца и, возможно, воздействовать на восстановление функции окружающих тканей [13, 14].

Нами изучены репаративный процесс в зоне ламинэктомии и его влияние на форму дурального мешка в сроки от 3 до 28 суток. В экспериментальных исследованиях при изучении проводимой профилактики формирования эпидурального фиброза при ламинэктомии используются основные аналитические методы: макроскопический, гистологический с различными методиками

окраски в зависимости от планирования и получения результатов, полимеразно-цепная реакция – с целью изучения маркеров развития соединительной ткани и в основном на 4–6-й неделе эксперимента при уже сформированном эпидуральном фиброзе с оценкой его степени, плотности фибробластов и сосудов в зоне ламинэктомии, толщины ТМО и арахноидального поражения, но без оценки изменения формы (фигуры) дурального мешка в зоне ламинэктомии [15, 16, 17, 18].

Установлено, что через 3 суток после моделирования патологического процесса в зоне ламинэктомии наблюдаются: выраженный отёк, плазматическое пропитывание тканей с нейтрофильной инфильтрацией мягких тканей, деформация дурального мешка, адгезия нервных волокон к ТМО и её отёк с расслоением (рис. 2), вакуолизация спинномозговых нервов конского хвоста.

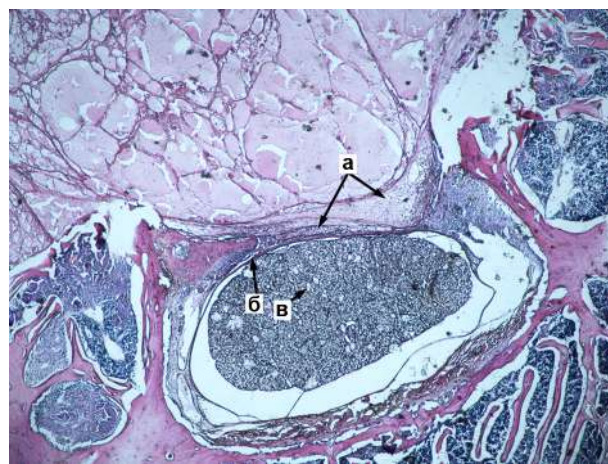


Рис. 2. Ламинэктомия через 3 суток после операции: а – плазматическое пропитывание тканей с нейтрофильной инфильтрацией мягких тканей; б – адгезия спинномозговых нервов конского хвоста к ТМО; в – вакуолизация спинномозговых нервов конского хвоста. Ув. $\times 20$

Fig. 2. Laminectomy, 3 days after the surgery: а – plasmorrhagia of tissues and neutrophilic infiltration of soft tissues; б – adhesion of the cauda equina spinal nerves to the dura mater; в – vacuolation of cauda equina spinal nerves. Magnification $\times 20$

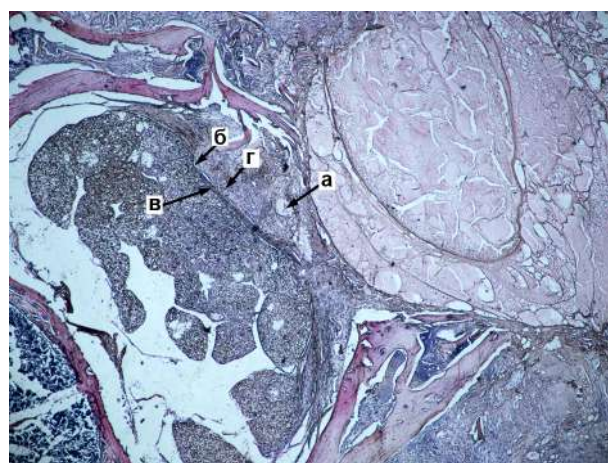


Рис. 3. Ламинэктомия через 7 суток после операции: а – зона плазматического пропитывания мягких тканей; б – деформация дурального мешка; в – адгезия нервных волокон конского хвоста к ТМО; г – зона формирования соединительной ткани. Ув. $\times 20$

Fig. 3. Laminectomy, 7 days after the surgery: а – zone of plasmorrhagia of soft tissues; б – dural sac deformation; в – adhesion of the cauda equina nerve fibers to the dura mater; г – zone of formation of connective tissue. Magnification $\times 20$

Через 7 суток отмечено некоторое снижение выраженности отёка в зоне оперативного вмешательства с сохранением зон плазматического пропитывания мягких тканей и формированием больших зон соединительной ткани, адгезия нервных волокон к ТМО (рис. 3). Выявлена активация эндотелиоцитов в *vasa nervorum* (рис. 4). Происходит вакуолизация и деструкция большого числа спинномозговых нервов конского хвоста.

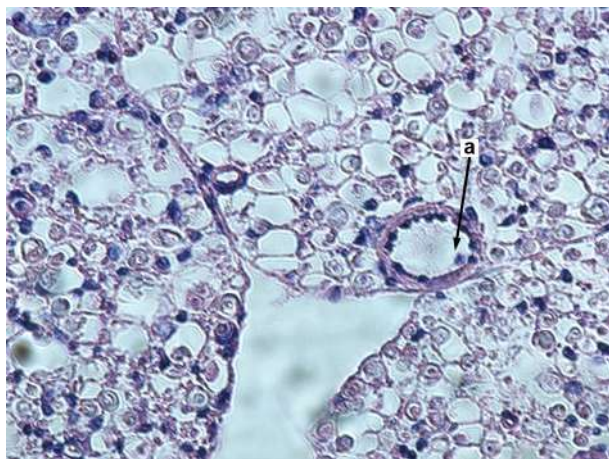


Рис. 4. Ламинэктомия, 7 суток после операции. Активация эндотелиоцитов в *vasa nervorum*. а – гипертрофия и изменение формы эндотелиоцитов по периметру просвета сосуда. Ув. $\times 400$

Fig. 3. Laminectomy, 7 days after the surgery. Activation of endothelial cells in *vasa nervorum*. а – hypertrophy and changes in the shape of endothelial cells along the perimeter of the vessel lumen. Magnification $\times 400$

На 14-е сутки в зоне оперативного вмешательства отмечен выраженный фиброз, соединительная ткань плотно упакованная, наблюдаются деформация дурального мешка, вакуолизация и деструкция большого числа спинномозговых нервов конского хвоста, нарушение оболочек спинномозговых нервов и их плотное сращение с ТМО (рис. 5).

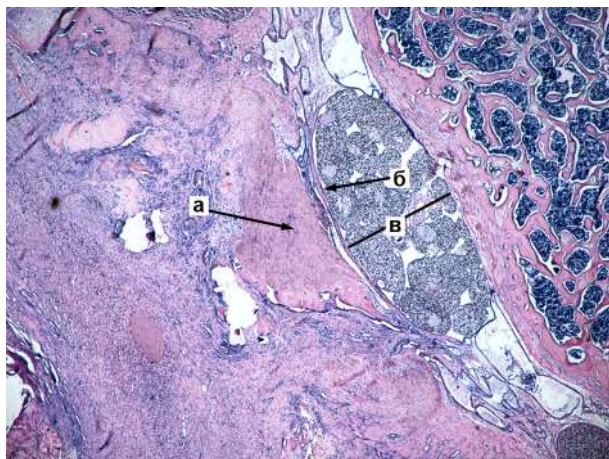


Рис. 5. Ламинэктомия, 14 суток после операции: а – соединительная ткань в зоне оперативного вмешательства; б – плотное сращение нервных волокон с ТМО; в – деформация и сдавление дурального мешка в передне-заднем направлении. Ув. $\times 20$

Fig. 5. Laminectomy, 14 days after the surgery: а – connective tissue in the operative site; б – dense fusion of nerve fibers with dura mater; в – deformation and compression of dural sac in anteroposterior direction. Magnification $\times 20$

На 21-е сутки нарастала плотность соединительной ткани в зоне ламинэктомии, нервные волокна конского хвоста плотно сращены с ТМО, наблюдается вакуолизация и деструкция большого числа спинномозговых нервов конского хвоста, нарушение целостности их оболочек. При повреждении целостности ТМО происходит врастание соединительной ткани в просвет дурального мешка.

К 28-м суткам формировались обширные плотные зоны фиброза в области оперативного вмешательства. Нервные волокна конского хвоста с признаками деструкции, нарушением целостности оболочек, плотно припаяны к ТМО, спаяны между собой. Есть зоны лимфоцитарной инфильтрации конского хвоста. Дуральный мешок деформирован (рис. 6).



Рис. 6. Ламинэктомия, 28 суток после операции: а – плотные зоны фиброза в месте оперативного вмешательства; б – деформация дурального мешка – сдавление соединительнотканым рубцом; в – плотное сращение нервных волокон с ТМО. Ув. $\times 20$

Fig. 6. Laminectomy, 28 days after the surgery: а – dense fibrosis zones at the operative site; б – deformation of dural sac – a compression by connective tissue scar; в – dense fusion of nerve fibers with dura mater. Magnification $\times 20$

Для оценки деформации дурального мешка нами оценивалось отношение поперечника к длиннику канала на гистологических препаратах, полученных при увеличении $\times 20$.

Установлено, что в процессе исследования наблюдалось изменение соотношения размеров дурального мешка (табл. 1). В сроки от 3 до 14 суток прогрессивно снижается передне-задний размер дурального мешка, параллельно нарастает поперечный размер, что ведёт к изменению его формы. При последующем наблюдении происходит некоторая коррекция формы. Возможно, изменение формы дурального мешка в сроки до 14 суток обусловлено отёком, плазматическим пропитыванием тканей, а также ростом соединительной ткани. Последующее снижение отёка и перестройка вновь сформированной соединительной ткани ведут к коррекции формы дурального мешка.

Таким образом, в работе представлены пространственно-временные взаимоотношения, отражающие то, как изменения на молекулярно-клеточном уровне влияют на тканевой уровень (изменение формы дурального мешка) при репаративном процессе заживления раны на разных сроках на модели ламинэктомии. Нами пока-

Таблица 1

Динамика компрессии и изменения формы дурального мешка

Table 1

Dynamics of compression and change of the shape of dural sac

Сутки выведения крыс из эксперимента	Длина поперёк (среднее)	Длина передне-задняя (среднее)	Разница между поперечником и длинником (среднее)	Отношение длинник/поперечник (среднее)
3-и сутки	1175,48 ± 0,18	736,84 ± 0,15	438.64 ± 0,11	1,595298029 ± 0,14
7-е сутки	1253,18 ± 0,21	662,78 ± 0,18	590.4 ± 0,13	1,983652655 ± 0,18
14-е сутки	1301,83 ± 0,17	638,72 ± 0,26	633.11 ± 0,14	2,121276354 ± 0,19
21-е сутки	1285,94 ± 0,25	844,90 ± 0,17	441.94 ± 0,11	1,544686933 ± 0,18
28-е сутки	1429,71 ± 0,12	833,98 ± 0,19	595.73 ± 0,15	1,790963666 ± 0,17
Здоровые крысы	860,326 ± 0,19	749,45 ± 0,17	110,88 ± 0,12	1,147943161 ± 0,16

зана динамика морфологических изменений в зоне формирования эпидурального фиброза при ламинэктомии в эксперименте. Установлена динамика изменения просвета дурального мешка. Отмечено раннее вовлечение в патологический процесс ТМО, её заинтересованность в течение всего срока наблюдения. Также обращает на себя внимание вовлечение нервных волокон конского хвоста в патологический процесс с ранних сроков после оперативного вмешательства: вакуолизация и деструкция нервных волокон, адгезия волокон между собой и к ТМО, а также активация эндотелиоцитов в *vasa nervorum* (данный феномен отмечен на 7-е сутки наблюдения).

ЛИТЕРАТУРА

- Животенко А.П., Шурыгина И.А., Гольдберг О.А., Кошкарева З.В. Митоген-активируемые протеинкиназы и их значимость в репаративном процессе при ламинэктомии: фундаментальные аспекты. *Современные проблемы науки и образования*. 2020; (4). URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=29919>. doi: 10.17513/spno.29919
- Karukonda TR, Mancini N, Katz A, Cote MP, Moss IL. Lumbar laminectomy in the outpatient setting is associated with lower 30-day complication rates. *Global Spine J*. 2020; 10(4): 384-392. doi: 10.1177/2192568219850095
- Wang H, Sun W, Fu D, Shen Y, Chen YY, Wang LL. Update on biomaterials for prevention of epidural adhesion after lumbar laminectomy. *J Orthop Translat*. 2018; 13: 41-49. doi: 10.1016/j.jot.2018.02.001
- Daniell JR, Osti OL. Failed back surgery syndrome: a review article. *Asian Spine J*. 2018; 12: 372-379. doi: 10.4184/asj.2018.12.2.372
- Швец В.В., Колесов С.В., Карпов И.Н., Пантелеев А.А., Скорина И.В., Горбатюк Д.С. Противоспаечный гель «Антиадгезин» при дегенеративных заболеваниях поясничного отдела позвоночника. *Хирургия позвоночника*. 2018; 15(2): 39-50. doi: 10.14531/ss2018.2.39-50
- Mohi Eldin MM, Abdel Razek NM. Epidural fibrosis after lumbar disc surgery: prevention and outcome evaluation. *Asian Spine J*. 2015; 9(3): 370-385. doi: 10.4184/asj.2015.9.3.370
- Boscher HA, Heavner JE. Incidence and severity of epidural fibrosis after back surgery: an endoscopic study. *Pain Pract*. 2010; 10(1): 18-24. doi: 10.1111/j.1533-2500.2009.00311.x
- Waszak PM, Modric M, Paturej A, et al. Spinal cord stimulation in failed back surgery syndrome: review of clinical use, quality of life and cost-effectiveness. *Asian Spine J*. 2016; 10: 1195-1204.
- Ипполитова Е.Г., Скляренко О.В. Использование ЭНМГ-показателей для выбора тактики лечения больных с послеоперационным рубцово-спаечным эпидуритом. *Acta biomedica scientifica*. 2008; 4(62): 20-22.
- Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г. Способ декальцинации костной ткани. *Клиническая и экспериментальная морфология*. 2018; 4(28): 34-37.
- Dekoninck S, Blanpain C. Stem cell dynamics, migration and plasticity during wound healing. *Nat Cell Biol*. 2019; 21(1): 18-24. doi: 10.1038/s41556-018-0237-6
- Cañedo-Dorantes L, Cañedo-Ayala M. Skin acute wound healing: a comprehensive review. *Int J Inflam*. 2019; 2019: 3706315. doi: 10.1155/2019/3706315
- Nethi SK, Das S, Patra CR, Mukherjee S. Recent advances in inorganic nanomaterials for wound-healing applications. *Biomater Sci*. 2019; 7(7): 2652-2674. doi: 10.1039/c9bm00423h
- Tanriverdi O, Erdogan U, Tanik C, Yilmaz I, Gunaldi O, Adilay HU, et al. Impact of sorafenib on epidural fibrosis: An immunohistochemical study. *World J Clin Cases*. 2018; 6(9): 249-258. doi: 10.12998/wjcc.v6.i9.249
- Животенко А.П., Кошкарева З.В., Сорокочиков В.А. Профилактика послеоперационного рубцово-спаечного эпидурита: современное состояние вопроса. *Хирургия позвоночника*. 2019; 16(3): 74-81. doi: 10.14531/ss2019.3.74-81
- Gürer B, Kahveci R, Gökçe EC, Ozevren H, Turkoglu E, Gökçe A. Evaluation of topical application and systemic administration of rosvastatin in preventing epidural fibrosis in rats. *Spine J*. 2015; 15(3): 522-529. doi: 10.1016/j.spinee.2014.10.018
- Sae-Jung S, Jirattananaphochai K, Sumananont C, Wittayapairoj K, Sukhonthamarn K. Interrater reliability of the postoperative epidural fibrosis classification: a histopathologic study in the rat model. *Asian Spine J*. 2015; 9: 587-594. doi: 10.4184/asj.2015.9.4.587
- Jin H, Wang Z, Gu Z, Wu J, Bai X, Shao Z, et al. Schisandrin B attenuates epidural fibrosis in postlaminectomy rats by inhibiting proliferation and extracellular matrix production of fibroblasts. *Phytother Res*. 2019; 33: 107-116. doi: 10.1002/ptr.6204

REFERENCES

- Zhivotenko AP, Shurygina IA, Goldberg OA, Koshkareva ZV. Mitogen-activated protein kinases and their significance in the reparative process in laminectomy: fundamental aspects. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2020; (4). URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=29919>. doi: 10.17513/spno.29919. (In Russ.)
- Karukonda TR, Mancini N, Katz A, Cote MP, Moss IL. Lumbar laminectomy in the outpatient setting is associated with lower 30-day complication rates. *Global Spine J*. 2020; 10(4): 384-392. doi: 10.1177/2192568219850095
- Wang H, Sun W, Fu D, Shen Y, Chen YY, Wang LL. Update on biomaterials for prevention of epidural adhesion after lumbar laminectomy. *J Orthop Translat*. 2018; 13: 41-49. doi: 10.1016/j.jot.2018.02.001
- Daniell JR, Osti OL. Failed back surgery syndrome: a review article. *Asian Spine J*. 2018; 12: 372-379. doi: 10.4184/asj.2018.12.2.372
- Shvets VV, Kolesov SV, Karpov IN, Panteleev AA, Skorina IV, Gorbatyuk DS. Anti-adhesion barrier gel for degenerative diseases of the lumbar spine. *Spine Surgery*. 2018; 15(2): 39-50. doi: 10.14531/ss2018.2.39-50. (In Russ.)

6. Mohi Eldin MM, Abdel Razek NM. Epidural fibrosis after lumbar disc surgery: prevention and outcome evaluation. *Asian Spine J.* 2015; 9(3): 370-385. doi: 10.4184/asj.2015.9.3.370
7. Bosscher HA, Heavner JE. Incidence and severity of epidural fibrosis after back surgery: an endoscopic study. *Pain Pract.* 2010; 10(1): 18-24. doi: 10.1111/j.1533-2500.2009.00311.x
8. Waszak PM, Modric M, Paturej A, et al. Spinal cord stimulation in failed back surgery syndrome: review of clinical use, quality of life and cost-effectiveness. *Asian Spine J.* 2016; 10: 1195-1204.
9. Ippolitova EG, Sklyarenko OV. Using electroneuromyographic indicators for choosing the treatment tactics in patients with postoperative cicatricial epiduritis. *Acta biomedica scientifica.* 2008; 4(62): 20-22. (In Russ.)
10. Shurygina IA, Shurygin MG. Method for decalcifying bone tissue. *Clinical and Experimental Morphology.* 2018; 4(28): 34-37. (In Russ.)
11. Dekoninck S, Blanpain C. Stem cell dynamics, migration and plasticity during wound healing. *Nat Cell Biol.* 2019; 21(1): 18-24. doi: 10.1038/s41556-018-0237-6
12. Cañedo-Dorantes L, Cañedo-Ayala M. Skin acute wound healing: a comprehensive review. *Int J Inflam.* 2019; 2019: 3706315. doi: 10.1155/2019/3706315
13. Nethi SK, Das S, Patra CR, Mukherjee S. Recent advances in inorganic nanomaterials for wound-healing applications. *Bio-mater Sci.* 2019; 7(7): 2652-2674. doi: 10.1039/c9bm00423h
14. Tanriverdi O, Erdogan U, Tanik C, Yilmaz I, Gunaldi O, Adilay HU, et al. Impact of sorafenib on epidural fibrosis: An immunohistochemical study. *World J Clin Cases.* 2018; 6(9): 249-258. doi: 10.12998/wjcc.v6.i9.249
15. Zhivotenko AP, Koshkareva ZV, Sorokovikov VA. Prevention of postoperative cicatricial epiduritis: current state of the problem. *Spine Surgery.* 2019; 16(3): 74-81. doi: 10.14531/ss2019.3.74-81. (In Russ.)
16. Gürer B, Kahveci R, Gökçe EC, Ozevren H, Turkoglu E, Gökçe A. Evaluation of topical application and systemic administration of rosuvastatin in preventing epidural fibrosis in rats. *Spine J.* 2015; 15(3): 522-529. doi: 10.1016/j.spinee.2014.10.018
17. Sae-Jung S, Jirattananaphochai K, Sumananont C, Wittayapairoj K, Sukhonthamarn K. Interrater reliability of the postoperative epidural fibrosis classification: a histopathologic study in the rat model. *Asian Spine J.* 2015; 9: 587-594. doi: 10.4184/asj.2015.9.4.587
18. Jin H, Wang Z, Gu Z, Wu J, Bai X, Shao Z, et al. Schisandrin B attenuates epidural fibrosis in postlaminectomy rats by inhibiting proliferation and extracellular matrix production of fibroblasts. *Phytother Res.* 2019; 33: 107-116. doi: 10.1002/ptr.6204

Сведения об авторах

Гольдберг Олег Аронович – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных технологий и регенеративной медицины, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: goldberg.ol@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1040-284X>

Животенко Александр Петрович – младший научный сотрудник научно-клинического отдела нейрохирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: sivotenko1976@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4032-8575>

Самойлова Лилия Григорьевна – младший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: iscst@mail.ru

Сороковиков Владимир Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, директор, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и нейрохирургии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: iscst@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9008-6383>

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

Information about the authors

Oleg A. Goldberg – Cand. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Laboratory of Cell Technologies and Regenerative Medicine, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: goldberg.ol@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-1040-284X>

Aleksandr P. Zhivotenko – Research Officer at the Research Clinical Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: sivotenko1976@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4032-8575>

Liliya G. Samoilova – Junior Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: iscst@mail.ru

Vladimir A. Sorokovikov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Head of the Department of Traumatology, Orthopedics and Neurosurgery, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: iscst@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9008-6383>

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

Статья получена: 27.10.2020. Статья принята: 26.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 27.10.2020. Accepted: 26.11.2020. Published: 26.12.2020.

К механизму адреналинового повреждения сердечной ткани и механизму кардиопротекции неонатальными, ксеногенными, сердечными клетками. динамика креатинфосфата, лактата и малонового диальдегида

Богородская С.Л., Рунович А.А.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Богородская Светлана Леонидовна, e-mail: sbogorodskaya@mail.ru

Резюме

Развитие нарушения энергетических процессов и повреждающих свободнорадикальных реакций при различных патологических процессах, в том числе при сердечно-сосудистых заболеваниях, взаимосвязаны и приводят к значительному ухудшению течения заболеваний.

Цель исследования. Изучение динамики малонового диальдегида, креатинфосфата и лактата в сердечной ткани крыс при экспериментальном адреналиновом стрессе и при его коррекции неонатальными, ксеногенными, сердечными клетками.

Методы. Эксперимент проводили на беспородных крысах-самцах. Адреналиновое повреждение сердца моделировали однократным подкожным введением 0,1% раствора адреналина в дозе 0,5 мг на 100 г веса. Первой группе (37 крыс) вводили подкожно адреналин, второй группе (41 крыса) – адреналин и изолированные сердечные клетки новорожденного кролика в дозе 500 тыс. Третья группа включала 6 здоровых крыс.

Результаты. Было установлено, что скачок уровня малонового диальдегида и, соответственно, активация свободнорадикальных процессов при адреналиновом повреждении сердца происходили в период перестройки энергетики сердечной клетки с интенсивного гликолиза к восстановлению активного митохондриального синтеза АТФ (что соответствовало окончанию истощения лактата и креатинфосфата и началу восстановления их содержания в сердечных клетках).

Динамика МДА чувствительно отражала как активность, так и угнетённость окислительных процессов в митохондриях, что проявлялось, соответственно, как в виде пиков, так и в низком уровне МДА и соответствовало интерпретации динамики лактата и креатинфосфата.

В сердечной ткани крыс с трансплантацией неонатальных, ксеногенных сердечных клеток уменьшалось накопление лактата в ранние сроки эксперимента, сдерживалось последующее истощение клеточных резервов креатинфосфата и лактата, период угнетения (неповышения) МДА был короче, последующее повышение МДА было умереннее, чем у контрольных животных.

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что трансплантация неонатальных сердечных клеток в условиях адреналинового стресса способна ограничивать нарушение аэробных и анаэробных процессов в сердечной ткани, содействовать восстановлению митохондриальных энергетических процессов, при этом способствуя более эффективному и щадящему восстановлению митохондриального синтеза АТФ, сопровождающемуся меньшим всплеском повреждающих свободнорадикальных процессов.

Ключевые слова: ксеногенные сердечные клетки, адреналиновое повреждение, креатинфосфат, лактат, малоновый диальдегид

Для цитирования: Богородская С.Л., Рунович А.А. К механизму адреналинового повреждения сердечной ткани и механизму кардиопротекции неонатальными, ксеногенными, сердечными клетками. динамика креатинфосфата, лактата и малонового диальдегида. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 265-270. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.35.

To the Mechanism of Adrenaline Damage to the Heart Tissue and the Mechanism of Cardioprotection by Neonatal, Xenogenic, Cardiac Cells. Dynamics of Creatine Phosphate, Lactate and Malondialdehyde

Bogorodskaya S.L., Runovich A.A.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Svetlana L. Bogorodskaya, e-mail: sbogorodskaya@mail.ru

Abstract

The development of disturbances in energy processes and damaging free radical reactions in various pathological processes, including cardiovascular diseases, are interrelated and lead to a significant deterioration in the course of diseases.

Aim of the study. Research of the dynamics of malondialdehyde, creatine phosphate and lactate in the cardiac tissue of rats under experimental adrenaline stress and during its correction with neonatal, xenogenic, cardiac cells.

Methods. The experiment was carried out on outbred male rats. Adrenaline damage to the heart was simulated by a single subcutaneous injection of 0.1% adrenaline solution at a dose of 0.5 mg per 100 g of body weight. The first group (37 rats) was injected subcutaneously with adrenaline, the second group (41 rats) – adrenaline and isolated heart cells of a newborn rabbit at a dose of 500 000. The third group included 6 healthy rats.

Results. It was found that a spike in the level of malondialdehyde and, accordingly, the activation of free radical processes in adrenaline damage to the heart, occurred during the restructuring of the energy of the heart cell from intense glycolysis to the restoration of active mitochondrial ATP synthesis (which corresponded to the end of the depletion of lactate and creatine phosphate, and the beginning of the restoration of their content in heart cells).

The dynamics of MDA sensitively reflected both the activity and the inhibition of oxidative processes in mitochondria, which manifested itself, respectively, both in the form of peaks and in a low level of MDA and corresponded to the interpretation of the dynamics of lactate and creatine phosphate.

In the cardiac tissue of rats with transplantation of neonatal, xenogenic cardiac cells, the accumulation of lactate in the early stages of the experiment decreased, the subsequent depletion of the cellular reserves of creatine phosphate and lactate was inhibited, the period of inhibition (non-increase) in MDA was shorter, the subsequent increase in MDA was more moderate than in control animals.

Conclusion. *The data obtained indicate that neonatal cardiac cells are able to limit the disturbance of aerobic and of anaerobic processes in the heart tissue and promote the restoration of mitochondrial energy processes. Moreover, they contribute to a more efficient restoration of mitochondrial ATP synthesis, accompanied by a smaller burst of damaging free radical processes.*

Key words: *xenogenic heart cells, adrenaline damage, creatine phosphate, lactate, malondialdehyde*

For citation: Bogorodskaya S.L., Runovich A.A. To the Mechanism of Adrenaline Damage to the Heart Tissue and the Mechanism of Cardioprotection by Neonatal, Xenogenic, Cardiac Cells. Dynamics of Creatine Phosphate, Lactate and Malondialdehyde. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 265-270. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.35.

ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия для лечения различных патологий с неуклонно растущим интересом рассматриваются, изучаются в эксперименте, используются в клинике методы трансплантации, в том числе трансплантации клеток – ауто-, алло-, ксеногенных, клеток различных органов, различной зрелости и подготовки [1, 2, 3, 4], которые апробируются для лечения различных заболеваний, в том числе сердечно-сосудистых [5, 6, 7, 8, 9] и неврологических [10]. Одной из проблем, которую отмечают авторы при трансплантации, является окислительный стресс, который испытывают трансплантируемые донорские клетки, и который является результатом реакции иммунной системы [4, 11]. Однако нарушение энергетического обмена, сопровождающее патологию, также может приводить к активации повреждающих свободнорадикальных процессов [5]. Ранее на модели адреналинового стресса, который вызывает резкое нарушение метаболических процессов, приводящее к повреждению структуры сердечных клеток, нами было показано, что трансплантируемые неонатальные, сердечные клетки обладают способностью сдерживать данные изменения, в том числе сохраняют структуру, ограничивают нарушение различных ферментативных процессов [12, 13, 14], белкового, липидного [15], а также энергетического обмена [16]. Алгоритмы протективного действия трансплантируемых клеток находятся в состоянии изучения.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение динамики малонового диальдегида, креатинфосфата и лактата в сердечной ткани крыс при экспериментальном адреналиновом стрессе и при его коррекции неонатальными, ксеногенными, сердечными клетками.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проводили на беспородных крысах-самцах весом 250–300 г. Адреналиновое повреждение сердца моделировали однократным подкожным введением 0,1% раствора адреналина в дозе 0,5 мг на 100 г веса: животным первой группы ($n = 37$) сразу после адреналина вводили физиологический раствор; животным второй группы ($n = 41$) также сразу после введения адреналина подкожно инъецировали изолированные сердечные клетки новорожденного кролика в дозе 500 тыс. клеток в 0,5 мл физиологического раствора. При исследовании сердечной ткани здоровых крыс ($n = 6$) показатели принимали за исходные.

Экспериментальные исследования выполнены в соответствии с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях», принятой в Страсбурге 18 марта 1986 г. и «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755).

Взятие сердец для биохимических исследований осуществляли через 1, 4, 8, 12, 16 и 24 часа после введения адреналина, а также на 3-и и 7-е сутки, образцы немедленно помещали в жидкий азот. В сердечной ткани исследовали: креатинфосфат – методом, описанным С.Е. Севериным [17], с помощью реагентов ЗАО «РЕАКТИВ» (Россия) и стандартных наборов реактивов для определения неорганического фосфора «Analyticon» (Германия); лактат – с применением наборов реактивов «Analyticon» (Германия); малоновый диальдегид – с помощью наборов реактивов для определения ТБК-активных продуктов ООО «Агат-Мед» (Россия). При определении уровня креатинфосфата и лактата использовали спектрофотометр Ultrospec-4050 (Швеция), при определении уровня МДА – спектрофотометр СФ-46 (Россия).

Статистическую обработку полученных данных проводили с применением программы «Statistica 6.0» (StatSoft Inc., США), с использованием непараметрического U-критерия Манна – Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,050$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Уровень креатинфосфата (КФ) в сердечной ткани контрольных крыс после введения адреналина неуклонно и значительно снижался до минимума, отмеченного к 12 часам эксперимента. Затем происходило повышение уровня КФ, с восстановлением до близких к исходным величинам на 7-е сутки (рис. 1).

Концентрация КФ сердечной ткани опытных крыс также понижалась, но менее продолжительно – в 1–4-й час, с более высоким минимумом (меньшим истощением), восстановлением до исходных значений уже в первые сутки, а именно, к 8-му часу, с последующим накоплением КФ в сердечных клетках до 24 часов, небольшим снижением к 7-м суткам.

КФ транспортирует фосфатную группу (и энергию связи) от синтезируемой в митохондриях АТФ к месту нового синтеза и использования АТФ в цитоплазме, на мембранах сердечной клетки, а также выполняет функции

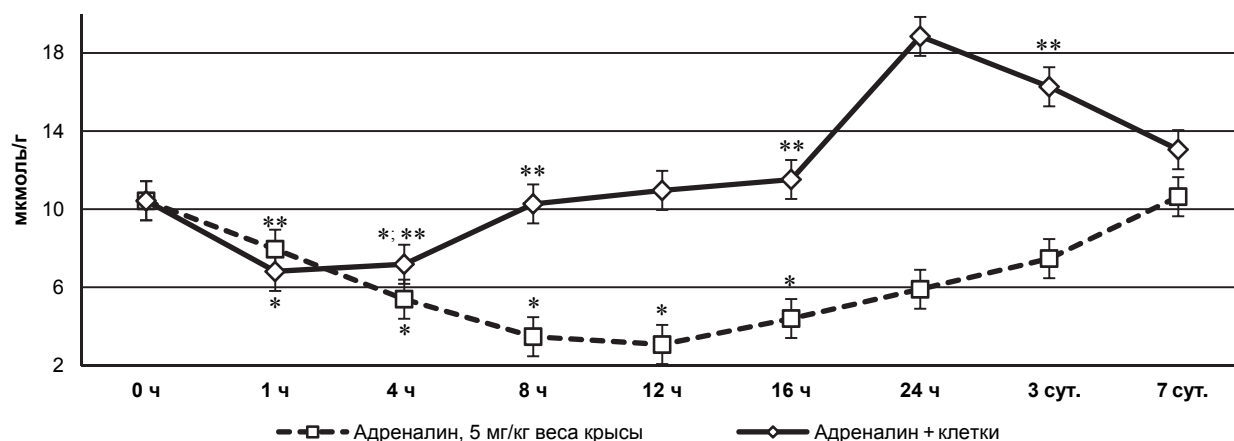


Рис. 1. Динамика содержания креатинфосфата в сердечной ткани крыс с адреналиновым повреждением сердца и его коррекцией с помощью трансплантации ксеногенных неонатальных сердечных клеток. * – $p < 0,050$ при сравнении с исходными значениями; ** – $p < 0,050$ при сравнении между группами

Fig. 1. Dynamics of creatine phosphate content in the heart tissue of rats with adrenaline damage to the heart and its correction by transplantation of xenogenic neonatal heart cells. * – $p < 0.050$ when compared with baseline values; ** – $p < 0.050$ when compared between groups

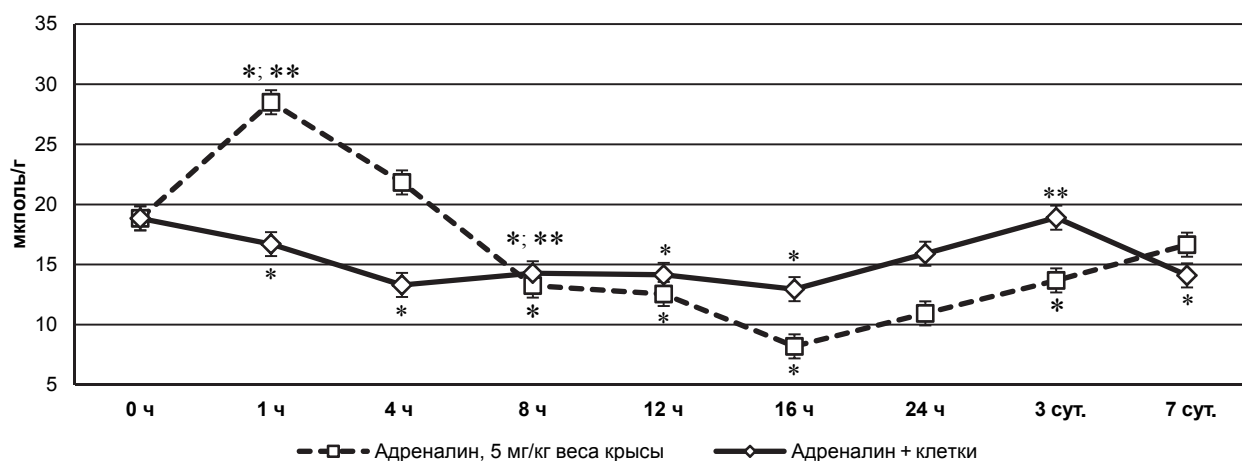


Рис. 2. Динамика содержания лактата в сердечной ткани крыс с адреналиновым повреждением сердца и его коррекцией с помощью трансплантации ксеногенных неонатальных сердечных клеток. * – $p < 0,050$ при сравнении с исходными значениями; ** – $p < 0,050$ при сравнении между группами

Fig. 2. Dynamics of the lactate content in the cardiac tissue of rats with adrenaline damage to the heart and its correction by transplantation of xenogenic neonatal heart cells. * – $p < 0.050$ when compared with baseline values; ** – $p < 0.050$ when compared between groups

депо фосфатных групп, используемых для синтеза АТФ в случае быстрой мобилизации энергетических процессов. Очевидно, что динамика КФ, связанная с процессами синтеза АТФ в митохондриях, чувствительно отражает его активность и эффективность в обеспечении клетки энергетическими ресурсами.

Повышение уровня КФ до значений, близких к норме, говорит о том, что, в отличие от контрольных животных, восстановление баланса между использованием КФ и его синтезом в сердечных клетках опытных животных происходит гораздо раньше – к 8 часам, а не к 7-м суткам. Восстановление уровня КФ связано как с активностью процессов фосфорилирования креатина в клетке и синтеза АТФ в митохондриях (от митохондриальной АТФ фосфатные группы передаются на креатин с образованием креатинфосфата), так, видимо, и с синтезом креатина. А также уровень креатинфосфата возвращается к норме, если потребность в обеспечении метаболических процессов и функций сердечных клеток экспериментального животного энергетическими ресурсами не превышает

возможности клеток, т. е., когда активность клеток приближается к физиологическим нормам. В данных условиях модели эксперимента, когда адреналин вызывает значительную активацию метаболических процессов с накоплением инактивирующих конечных продуктов и также значительный расход энергетических ресурсов, в процессе восстановления формируется «маятниковая» динамика активности метаболических процессов – с понижениями и новыми повышениями уровня активности ферментов и концентраций метаболитов [12–14]. В сердечной ткани опытных животных с трансплантацией уровень креатинфосфата не только восстанавливается до нормы, но к концу первых суток поднимается значительно выше нормы, т. е. происходит накопление резерва КФ с «учётом» перенесённой активации метаболических процессов. У контрольных животных наблюдается выраженная угнетённость данных процессов – наблюдается длительный период низких значений КФ и позднее восстановление до значений, близких к норме.

В сердечной ткани контрольных крыс к первому часу эксперимента наблюдалось резкое увеличение лактата, статистически значимо отличающееся от исходной величины лактата и от значения в опытной группе, затем происходило значительное снижение показателя с минимумом к 16 часам. В опытной группе понижение лактата отмечалось уже с первого часа, но было не таким выраженным, как у контрольных животных, восстановление до значений, близких к исходным величинам, происходило к 3-м суткам, и было к этому времени статистически значимо выше, чем в контроле.

Пик повышения лактата в 1-й час эксперимента в сердечной ткани контрольных животных свидетельствует как о значительной предшествующей активации гликолитических процессов, так и о развитии последующих выраженных анаэробных условий с торможением использования пирувата и накоплением лактата. Кроме того, лактат мог накапливаться при неэффективном удалении из сердечных клеток кровотоком.

Последующее снижение уровня лактата происходило, видимо, за счёт его активного использования по мере восстановления аэробных метаболических процессов (что согласуется с ранее полученными данными, в том числе с динамикой ЛДГ1 [13], что соответствует и повышенным энергетическим потребностям, и при этом в некоторой степени компенсирует недостаточный синтез митохондриальной АТФ, о чём судили по значительному снижению уровня, очевидно, активно используемого креатинфосфата.

В случае введения неонатальных сердечных клеток в сердечной ткани крыс не отмечалось накопления лактата к 1-му часу. Напротив, происходило постепенное снижение его уровня, что, очевидно, соответствовало использованию лактата и/или эффективному выведению лактата в кровоток, т. е. гораздо более щадящим нарушениям метаболизма и отсутствию выраженных анаэробных процессов. По мере снижения уровня лактата его минимальные значения были не столь низкими, как у контрольных животных, т. е. истощение ресурсов лактата по сравнению с исходными значениями было также менее выраженным. Восстановление уровня

лактата до значений, близких к исходным, происходило к 24-м часам, с последующим повторным понижением. Восстановления исходного уровня лактата к 7-м суткам не происходило.

В динамике продукта перекисного окисления липидов малонового диальдегида в сердечной ткани контрольных крыс с введением адреналина при данных условиях эксперимента в образцах, отобранных в 1-й, 4-й и 8-й час, отмечается незначительное колебание относительно исходных значений. Однако к 12 часам наблюдалось резкое, пикообразное увеличение уровня МДА с уменьшением к 1-м суткам и последующими низкими значениями в 1–7-е сутки (рис. 3).

У опытных животных с введением неонатальных, ксеногенных, сердечных клеток уровень МДА начинал повышаться раньше – к 8 часам. Но при этом максимальные величины МДА у опытных животных были значительно и статистически значимо меньше, чем у контрольных.

При сопоставлении динамики КФ и МДА можно отметить, что 12-часовой пик МДА в сердечной ткани контрольных животных приходится на время минимума КФ, но динамика КФ к 8–12 часам становится близкой к «платообразной», а к 16 часам наблюдается повышение. Вероятно, состояние на 12 часов можно оценить как начало восстановления процессов синтеза КФ, что возможно с началом восстановления и активации синтеза митохондриальной АТФ. Первый пик МДА (из нескольких) в сердечной ткани опытных крыс с трансплантацией приходится на 8 часов и соответствует повышению КФ в это же время.

При сопоставлении пиков МДА с динамикой лактата было отмечено, что после резкого снижения (использования) лактата – в контрольной группе в период до 8 часов, в опытной группе к 4 часам – затем последовала тенденция к стабилизации уровня, по крайней мере, замедление снижения уровня лактата – в контрольной группе к 12 часам, в опытной группе к 8 часам значения показателей близки к значениям в предыдущий срок. В эти же сроки – 12 часов в контрольной и 8 часов в опытной – отмечаются различной интенсивности пики МДА. Можно было бы предположить, что торможение использования лактата в ука-

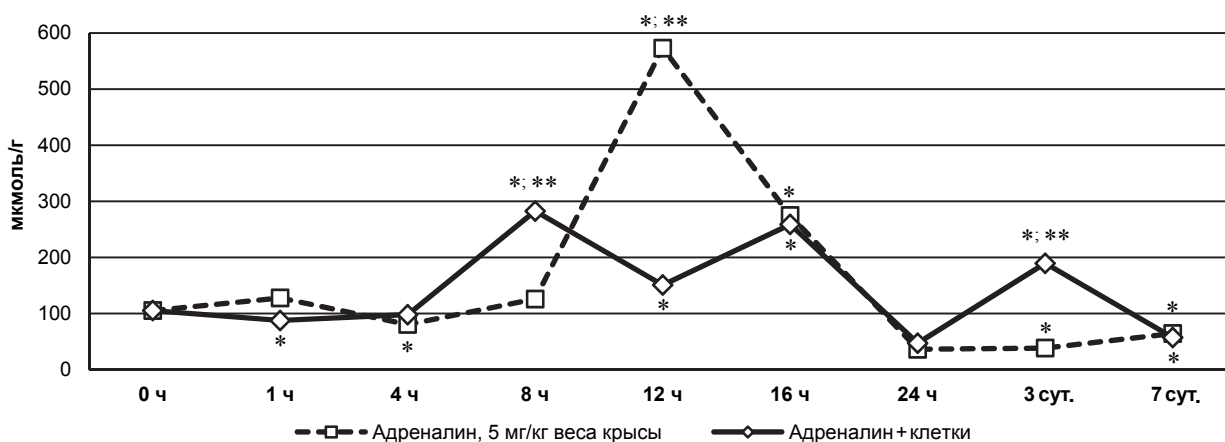


Рис. 3. Динамика содержания малонового диальдегида в сердечной ткани крыс с адреналиновым повреждением сердца и его коррекцией с помощью трансплантации ксеногенных неонатальных сердечных клеток. * – $p < 0,050$ при сравнении с исходными значениями; ** – $p < 0,050$ при сравнении между группами

Fig. 3. Dynamics of the content of malondialdehyde in the heart tissue of rats with adrenaline damage to the heart and its correction by transplantation of xenogenic neonatal heart cells. * – $p < 0.050$ when compared with baseline values. ** – $p < 0.050$ when compared between groups

занные часы связано с усилением анаэробных процессов и накоплением лактата. Но в это время в опытной группе к 8 часам КФ повышается, причём до исходного значения, а в контрольной группе динамика КФ выходит на «плато», т. е. баланс между использованием и синтезом КФ, видимо, сдвигается от использования в сторону синтеза, что, в свою очередь, свидетельствует, что в обеих группах происходит сдвиг в сторону аэробного синтеза АТФ.

Время перелома динамики лактата от его резкого снижения к платообразной динамике и повышению можно рассматривать как момент, когда активные гликолитические процессы уступают митохондриальному процессу синтеза АТФ. И пики МДА скорее пришлись на момент перехода сердечных клеток с интенсивного гликолиза к активации митохондриального синтеза АТФ.

Причём чем более выраженными были анаэробные процессы в первые часы эксперимента (о чём удалось судить по накоплению лактата), чем более длительное время и до более низкого уровня по мере восстановления метаболизма использовался лактат, тем больший всплеск активности перекисного окисления липидов (тем активнее свободнорадикальные процессы), тем, очевидно, с большими нарушениями происходило восстановление эффективного митохондриального синтеза АТФ.

Механизмы образования активированных кислородных метаболитов (АКМ) в митохондриях находятся в состоянии изучения. Указывается на два наиболее важных этапа начала образования АКМ в транспортной цепи электронов – комплекс I (НАДН-дегидрогеназа НАДН:убихинол-оксидоредуктаза) и комплекс III (убихинол-цитохром C-редуктаза). Авторами отмечается, что при нарушении в цепи переноса электронов и уменьшении синтеза АТФ продукция АКМ возрастает [1].

Но, судя по данным нашего исследования, торможение функции митохондрий, в том числе синтеза АТФ, при анаэробных условиях может достигать такой степени, что значительного увеличения продукции АКМ не происходит, но отмечается уровень, близкий к исходным величинам (1–8 часов) или даже более низкий (24 часа – 7-е сутки), как происходило в сердечной ткани крыс контрольной группы.

Объяснить подобную угнетённость, видимо, можно недостаточностью снабжения кислородом в условиях повышенной метаболической активности в сердечных клетках, а также снижением активности ферментов, участвующих в продукции АКМ, подобно тому, как происходило снижение активности КК и ЛДГ в условиях данного адреналинового стресса [13]. Накопление лактата, его быстрый переход в пируват и резкое, но, видимо, не одновременное восстановление этапов митохондриального синтеза АТФ приводят к всплеску свободнорадикальных процессов, при таком уровне активации являющихся повреждающими.

В сердечной ткани опытных крыс с трансплантацией неонатальных сердечных клеток, судя по уровню МДА, этап угнетённости свободнорадикальных процессов короче, что соответствует более короткому периоду ослабления синтеза макроэргических соединений в митохондриях. Повышение МДА и, соответственно, проявление свободнорадикальных процессов отмечаются раньше, что соответствует началу восстановления окислительных процессов, восстановления митохондриального синтеза, при этом свободнорадикальные процессы значительно менее активные, чем в контроле – со статистически значимо более низкими максимумами и, очевидно, менее

повреждающие. Т. е. восстановление митохондриального синтеза АТФ происходило с меньшими нарушениями и более эффективно, с меньшей активацией свободнорадикальных процессов. Развитие повреждающих процессов, возникающих при переходе клетки от анаэробных условий к аэробным, от активных гликолитических процессов к восстановлению митохондриального синтеза АТФ, видимо, можно сравнить с теми, что возникают при синдроме реперфузии. А неонатальные сердечные клетки ограничивали развитие подобного синдрома. Предупреждение значительного скачка свободнорадикальных реакций предполагает сдерживание запуска программ, повреждающих сердечные клетки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при экспериментальном адреналиновом повреждении в сердечной ткани крыс с трансплантацией неонатальных, ксеногенных сердечных клеток значительно уменьшается развитие анаэробных условий с ограничением накопления лактата в ранние сроки. В последующие сроки резервы лактата и креатинфосфата гораздо менее истощаются, быстрее восстанавливаются, чем в сердечной ткани контрольных крыс. Это свидетельствует о меньшем нарушении и более раннем восстановлении энергетических процессов: гликолиза, митохондриального синтеза АТФ. Введение неонатальных сердечных клеток ограничивало развитие скачкообразного повышения свободнорадикальных процессов, которыми сопровождалось восстановление активного митохондриального синтеза АТФ, т. е., очевидно, восстановление синтеза АТФ в митохондриях происходило с меньшими нарушениями, с большей сбалансированностью его этапов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Калинина Н.И., Сысоева В.Ю., Рубина К.А., Парфенова Е.В., Ткачук В.А. Мезенхимальные стволовые клетки в процессах роста и репарации тканей. *Acta Naturae (русскоязычная версия)*. 2011; (4): 32–39.
2. Golpanian S, Wolf A, Hatzistergos KE, Hare JM. Rebuilding the damaged heart: Mesenchymal stem cells, cell-based therapy, and engineered heart tissue. *Physiol Rev*. 2016; 96(3): 1127–1168. doi: 10.1152/physrev.00019.2015
3. Ju C, Shen Y, Ma G, Liu Y, Cai J, Kim IM, et al. Transplantation of cardiac mesenchymal stem cell-derived exosomes promotes repair in ischemic myocardium. *J Cardiovasc Transl Res*. 2018; 11(5): 420–428. doi: 10.1007/s12265-018-9822-0
4. Tang J, Cui X, Caranasos TG, Hensley MT, Vandergriff AC, Hartanto Y, et al. Heart repair using nanogel-encapsulated human cardiac stem cells in mice and pigs with myocardial infarction. *ACS Nano*. 2017; 11(10): 9738–9749. doi: 10.1021/acsnano.7b01008
5. Меньшикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А. Окислительный стресс. *Прооксиданты и антиоксиданты*. М.: Слово; 2006.
6. Orlic D, Hill JM, Arai AE. Stem cells for myocardial regeneration. *Circ Res*. 2002; 91(12): 1092–1102.
7. Parrotta El, Scalise S, Scaramuzzino L, Cuda G. Stem cells: the game changers of human cardiac disease modelling and regenerative medicine. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(22): 5760. doi: 10.3390/ijms20225760
8. Torella D, Ellison GM, Méndez-Ferrer S, Ibanez B, Nadal-Ginard B. Resident human cardiac stem cells: Role in cardiac cellular homeostasis and potential for myocardial regeneration. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2006; 3(1): 8–13. doi: 10.1038/ncpcardio0409
9. Wang Z, Dong N, Niu Y, Zhang Z, Zhang C, Liu V, et al. Transplantation of human villous trophoblasts preserves cardiac function in mice with acute myocardial infarction. *J Cell Mol Med*. 2017; 21(10): 2432–2440. doi: 10.1111/jcmm.13165

10. Chen KH, Cheng CH, Wallace CG, Yuen CM, Kao GS, Chen YL, et al. Intravenous administration of xenogenic adipose-derived mesenchymal stem cells (ADMSC) and ADMSC-derived exosomes markedly reduced brain infarct volume and preserved neurological function in rat after acute ischemic stroke. *Oncotarget*. 2016; 7(46): 74537-74556. doi: 10.18632/oncotarget.12902
11. Subramani B, Subbannagounder S, Ramanathanpullai C, Palanivel S, Ramasamy R. Impaired redox environment modulates cardiogenic and ion-channel gene expression in cardiac-resident and non-resident mesenchymal stem cells. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2017; 242(6): 645-656. doi: 10.1177/1535370216688568
12. Богородская С.Л., Клинова С.Н., Голубев С.С., Зарицкая Л.В., Батунова Е.В., Ежикеева С.Д. и др. АТФазная активность и уровень ионов в сердечной ткани при экспериментальном адреналиновом повреждении и проведении клеточной трансплантации. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2010; 97(6): 158-160.
13. Богородская С.Л., Клинова С.Н., Микашова М.Б., Голубев С.С., Пивоваров Ю.И., Курильская Т.Е. и др. Трансплантация ксеногенных кардиомиоцитов при экспериментальном адреналиновом повреждении миокарда: Ферментативная активность и морфологические параметры. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2008; (3): 132-135.
14. Рунович А.А., Бадюев Б.К., Богородская С.Л., Боровский Г.Б., Сергеева А.С. Влияние ксеногенных неонатальных кардиомиоцитов на индукцию белков теплового шока при катехоламинном повреждении миокарда в эксперименте. *Современные наукоёмкие технологии*. 2004; (3): 150-151.
15. Богородская С.Л., Курильская Т.Е., Рунович А.А. Динамика показателей липидного обмена в сердечной ткани в условиях экспериментального адреналинового повреждения и клеточной терапии. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2018; (3): 43-47.
16. Богородская С.Л., Клинова С.Н., Гутник И.Н., Пивоваров Ю.И., Курильская Т.Е., Рунович А.А. Оценка энергетических показателей миокарда при моделировании адреналинового повреждения в условиях клеточной трансплантации. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2009; (3): 154-156.
17. Северин С.Е., Соловьева Г.А. Практикум по биохимии: учебное пособие; 2-е изд., перераб. и доп. М.: Изд-во МГУ; 1989.

REFERENCES

1. Kalinina NI, Sysoeva VYu, Rubina KA, Parfenova EV, Tkachuk VA. Mesenchymal stem cells in the processes of tissue growth and repair. *Acta Naturae*. 2011; (4): 32-39. (In Russ.)
2. Golpanian S, Wolf A, Hatzistergos KE, Hare JM. Rebuilding the damaged heart: Mesenchymal stem cells, cell-based therapy, and engineered heart tissue. *Physiol Rev*. 2016; 96(3): 1127-1168. doi: 10.1152/physrev.00019.2015
3. Ju C, Shen Y, Ma G, Liu Y, Cai J, Kim IM, et al. Transplantation of cardiac mesenchymal stem cell-derived exosomes promotes repair in ischemic myocardium. *J Cardiovasc Transl Res*. 2018; 11(5): 420-428. doi: 10.1007/s12265-018-9822-0
4. Tang J, Cui X, Caranasos TG, Hensley MT, Vandergriff AC, Hartanto Y, et al. Heart repair using nanogel-encapsulated human

- cardiac stem cells in mice and pigs with myocardial infarction. *ACS Nano*. 2017; 11(10): 9738-9749. doi: 10.1021/acsnano.7b01008
5. Men'shchikova EB, Lankin VZ, Zenkov NK, Bondar' IA, Krugovykh NF, Trufakin VA. *Oxidative stress. Prooxidants and antioxidants*. Moscow: Slovo; 2006. (In Russ.)
6. Orlic D, Hill JM, Arai AE. Stem cells for myocardial regeneration. *Circ Res*. 2002; 91(12): 1092-1102.
7. Parrotta EI, Scalise S, Scaramuzzino L, Cuda G. Stem cells: the game changers of human cardiac disease modelling and regenerative medicine. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(22): 5760. doi: 10.3390/ijms20225760
8. Torella D, Ellison GM, Méndez-Ferrer S, Ibanez B, Nadal-Ginard B. Resident human cardiac stem cells: Role in cardiac cellular homeostasis and potential for myocardial regeneration. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2006; 3(1): 8-13. doi: 10.1038/ncpcardio0409
9. Wang Z, Dong N, Niu Y, Zhang Z, Zhang C, Liu V, et al. Transplantation of human villous trophoblasts preserves cardiac function in mice with acute myocardial infarction. *J Cell Mol Med*. 2017; 21(10): 2432-2440. doi: 10.1111/jcmm.13165
10. Chen KH, Cheng CH, Wallace CG, Yuen CM, Kao GS, Chen YL, et al. Intravenous administration of xenogenic adipose-derived mesenchymal stem cells (ADMSC) and ADMSC-derived exosomes markedly reduced brain infarct volume and preserved neurological function in rat after acute ischemic stroke. *Oncotarget*. 2016; 7(46): 74537-74556. doi: 10.18632/oncotarget.12902
11. Subramani B, Subbannagounder S, Ramanathanpullai C, Palanivel S, Ramasamy R. Impaired redox environment modulates cardiogenic and ion-channel gene expression in cardiac-resident and non-resident mesenchymal stem cells. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2017; 242(6): 645-656. doi: 10.1177/1535370216688568
12. Bogorodskaya SL, Klinova SN, Golubev SS, Zaritskaya LV, Batunova EV, Ezhikeeva SD, et al. ATPase activity and ion level in cardiac tissue during experimental adrenaline injury and cell transplantation. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*. 2010; 97(6): 158-160. (In Russ.)
13. Bogorodskaya SL, Klinova SN, Mikashova MB, Golubev SS, Pivovarov Yul, Kuril'skaya TE, et al. Transplantation of xenogenic cardiomyocytes in experimental adrenaline myocardial injury: Enzymatic activity and morphological parameters. *Kletochnye tekhnologii v biologii i meditsine*. 2008; (3): 132-135. (In Russ.)
14. Runovich AA, Baduev BK, Bogorodskaya SL, Bоровский GB, Sergeeva AS. The influence of xenogenic neonatal cardiomyocytes on the induction of heat shock proteins in catecholamine myocardial injury in experiment. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii*. 2004; (3): 150-151. (In Russ.)
15. Bogorodskaya SL, Kuril'skaya TE, Runovich AA. Dynamics of lipid metabolism indices in cardiac tissue under conditions of experimental adrenaline damage and cell therapy. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*. 2018; (3): 43-47. (In Russ.)
16. Bogorodskaya SL, Klinova SN, Gutnik IN, Pivovarov Yul, Kuril'skaya TE, Runovich AA. Evaluation of myocardial energy parameters in modeling adrenaline damage in conditions of cell transplantation. *Kletochnye tekhnologii v biologii i meditsine*. 2009; (3): 154-156. (In Russ.)
17. Severin SE, Solov'eva GA. *Biochemistry workshop: textbook. manual*. Moscow: MGU Publishing; 1989. (In Russ.)

Сведения об авторах

Богородская Светлана Леонидовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: sbogorodskaya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2471-4230>

Рунович Алексей Анатольевич – доктор медицинских наук, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»

Information about the authors

Svetlana L. Bogorodskaya – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: sbogorodskaya@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2471-4230>

Aleksey A. Runovich – Dr. Sc. (Med.), Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology

Статья получена: 18.11.2020. Статья принята: 30.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 18.11.2020. Accepted: 30.11.2020. Published: 26.12.2020.

Особенности репродукции вируса клещевого энцефалита в новой перевиваемой линии клеток сибирской ночницы *Myotis sibiricus* (Kastschenko, 1905)

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. Вирус клещевого энцефалита (ВКЭ) в природе существует за счёт постоянной циркуляции между позвоночными животными и иксодовыми клещами. Для изучения особенностей репродукции ВКЭ в клетках позвоночных хозяев различных видов необходимо моделирование инфекции в перевиваемых клеточных линиях не только естественных, но и случайных хозяев ВКЭ.

Цель исследования. Исследовать возможность репродукции ВКЭ в клеточной линии случайного хозяина вируса – сибирской ночницы *Myotis sibiricus* (Kastschenko, 1905).

Методы. Перевиваемая клеточная линия *M. sibiricus* была установлена с помощью серийного пассирования первичной культуры клеток почки. Перевиваемые клетки почки свиньи СПЭВ были использованы в качестве референс-культуры. Клетки заражали штаммом ВКЭ сибирского субтипа 92М и собирали образцы через каждые 2 часа в течение первых суток после заражения. Образцы отбирали ежедневно в течение 5 дней после заражения. Оценку количества внутриклеточной РНК ВКЭ положительной полярности (+РНК) проводили с помощью количественной реал-тайм ПЦР. Концентрацию инфекционного ВКЭ оценивали с использованием метода титрования ВКЭ по бляшкообразующим единицам.

Результаты. Перевиваемая линия клеток, обозначенная как MdbK, была создана после многократного пассирования суспензии клеток почки сибирской ночницы и использована для экспериментов на 20-м пассаже. Линия клеток MdbK способна поддерживать репликацию РНК ВКЭ и продуцировать инфекционный вирус. Концентрация вирусной РНК достигала 9,1 lg копий/мкл на третий день после заражения. Титр инфекционного ВКЭ составлял 5,5 БОЕ/мл и был отмечен на 4-й день. Как сразу после заражения, так и на всех стадиях репродуктивного цикла, концентрация внутриклеточной РНК ВКЭ в клетках MdbK была существенно ниже, чем в клетках СПЭВ. Количество инфекционного вируса в культуральной среде было снижено по сравнению с клетками СПЭВ.

Заключение. Полученные результаты позволяют предположить, что ВКЭ недостаточно адаптирован к внутриклеточной среде случайного хозяина.

Ключевые слова: флавивirus, вирус клещевого энцефалита, РНК ВКЭ, инфекционный ВКЭ, репродукция ВКЭ, количественная ОТ-ПЦР, рукокрылые, *Myotis sibiricus*, взаимоотношения «вирус – хозяин»

Для цитирования: Ляпунова Н.А., Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А. Особенности репродукции вируса клещевого энцефалита в новой перевиваемой линии клеток сибирской ночницы *Myotis sibiricus* (Kastschenko, 1905). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 271-275. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.36.

Features of Reproduction of Tick-Borne Encephalitis Virus in a New Cell Line of the Siberian Bat *Myotis sibiricus* (Kastschenko, 1905)

Liapunova N.A., Khasnatinov M.A., Danchinova G.A.

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

Corresponding author: Natalia A. Liapunova, e-mail: nataly2193@mail.ru

Abstract

Background. Tick-borne encephalitis virus (TBEV) in nature exists due to the constant circulation between vertebrate animals and tick viruses. To study the characteristics of reproduction of TBEV in the cells of vertebrate hosts of various species, it is necessary to simulate infection in the cell lines of both natural and accidental hosts of TBEV.

Aim. To study the possibility of reproduction of TBEV in the cell line of the kidney of Siberian bat *Myotis sibiricus* (Kastschenko, 1905) – an accidental host of the virus.

Materials and methods. The cell line of Siberian bat *M. sibiricus* was established by serial passages of primary culture of kidney cells. The SPEV line porcine kidney cells were used as reference. Cells were infected with a strain of TBEV of the Siberian subtype 92M and both cells and cell culture fluids were sampled every 2 hours during first 24 hours post infection. In addition, the samples were collected daily up to 5 days post infection. Evaluation of the amount of intracellular RNA of TBEV of positive polarity (+RNA) was performed using quantitative real-time PCR. The concentration of infectious TBEV was evaluated using the method of titration TBEV on plaque forming units.

Results. The continuous cell line, designated as MdbK, was established from the kidney cell suspension of *M. sibiricus* and was used for experiments after 20 serial passages. MdbK cells were able to support the replication of TBEV RNA and production of infectious virus was also possible. The concentration of intracellular RNA had reached 9.1 lg copies/μl by day 3 post infection, whereas highest titer of infectious TBEV in cell culture fluid had comprised 5.5 PFU/ml and was detected by day 4. The concentration of intracellular RNA and the virus infectivity in MdbK cell line was significantly lower than in convenient SPEV line porcine kidney cell.

Conclusions. The results suggest the low fitness of TBEV to the intracellular environment of an accidental host.

Key words: *flavivirus, tick-borne encephalitis virus, TBEV RNA, infectious TBEV, reproduction of TBEV, quantitative RT-PCR in real time bats, Myotis sibiricus, host-virus interaction*

For citation: Liapunova N.A., Khasnatinov M.A., Danchinova G.A. Features of Reproduction of Tick-Borne Encephalitis Virus in a New Cell Line of the Siberian Bat *Myotis sibiricus* (Kastschenko, 1905). *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 271-275. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.36.

ОБОСНОВАНИЕ

Вирус клещевого энцефалита (ВКЭ) относится к семейству *Flaviviridae* и в Российской Федерации вызывает до 10 тыс. случаев заболеваний человека [1, 2]. В природе вирус существует за счёт постоянной циркуляции между дикими позвоночными животными и иксодовыми клещами в качестве хозяев и переносчиков. Мелкие грызуны хорошо адаптированы к инфекции ВКЭ и выполняют роль усиливающих и резервуарных хозяев вируса. Многие животные, такие как плотоядные, насекомоядные или рукокрылые, являются случайными хозяевами вируса. Виды животных, являющиеся случайными хозяевами, не так многочисленны, как грызуны, и, в силу своих экологических особенностей, редко подвергаются нападению иксодовых клещей, поэтому они имеют сравнительно меньший шанс иметь контакт с ВКЭ в естественной среде. И хотя случайные хозяева вируса могут быть инфицированы возбудителем КЭ не только в лабораторных, но и в природных условиях, они не участвуют в циркуляции вируса [3]. Тем не менее, для изучения механизмов естественной циркуляции ВКЭ требуется моделирование инфекции у всех возможных участников экосистемы – как в клетках естественных, так и в клетках случайных позвоночных хозяев вируса. Сравнительный анализ результатов по изучению репродукции ВКЭ в клеточных линиях различных животных может дать дополнительную информацию о механизмах адаптации ВКЭ к определённым видам млекопитающих на эндемичных по КЭ территориях. Ранее нами было проведено исследование по изучению особенностей репродукции ВКЭ в новой клеточной линии восточноазиатской лесной мыши *Apodemus peninsulae* – естественного хозяина вируса [4]. Для изучения особенностей репродукции ВКЭ в клетках случайного хозяина мы создали новую перевиваемую линию клеток почки сибирской ночницы *M. sibiricus* (MdbK). Поскольку репликация вирусной геномной РНК является критичным для существования вируса процессом, который полностью зависит от реакции внутриклеточной среды хозяина и влияет на эффективность воспроизведения инфекционного вируса, в данной работе мы постарались изучить динамику репликации РНК ВКЭ, а также оценить эффективность выхода инфекционного ВКЭ в культуре клеток рукокрылых.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить особенности репродукции ВКЭ в клеточной линии сибирской ночницы *M. sibiricus* – случайного хозяина вируса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клеточные культуры и вирус клещевого энцефалита

Сибирских ночниц отлавливали энтомологическим сачком на местах зимовки в пещере «Охотничья» (Иркутская область, Иркутский район). Видовую принадлежность рукокрылых определяли по морфологическим

признакам согласно [5]. Первичные культуры клеток *M. sibiricus* получали из трипсинизированных гомогенатов почки. Перевиваемая культура была установлена в ходе 20 серийных пассажей. Полученная клеточная линия адгезивная, состоит из клеток эпителиоидной формы, обладает стабильными культуральными и морфологическими характеристиками и в дальнейшем обозначается акронимом MdbK. Культура клеток почки эмбриона свиньи СПЭВ была приобретена в «Коллекции клеточных линий человека и животных для исследований в области вирусологии» (ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России, Санкт-Петербург). Поддержание культур клеток осуществляли на среде RPMI1640 с добавлением антибиотиков и 5% или 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) HyClone (ThermoScientific, Великобритания) для культур СПЭВ и MdbK соответственно. Для заражения использовали монослои клеток, выращенные в 24-луночных планшетах с плотностью 150 000 клеток на лунку.

Для изучения репликации ВКЭ в клетках использовали изолят сибирского субтипа ВКЭ 92М [6]. Исходный препарат вируса приготавливали путём однократного пассажа в клетках СПЭВ. После этого стоковую вирусную суспензию аликвотировали и хранили при –80 °С. Концентрацию инфекционного вируса в стоковой суспензии определяли титрованием бляшкообразующих единиц (БОЕ) в культуре клеток СПЭВ [7] и выражали в виде десятичного логарифма БОЕ в миллилитре суспензии (log10 БОЕ/мл). Заражение культур клеток производили с расчётной множественностью инфекции 1 БОЕ на клетку. Вирус адсорбировали при температуре 37 °С в течение 1 часа. После этого инокулят удаляли, клетки промывали трижды средой RPMI1640 без добавления ЭТС и наслаивали сверху среду поддержки (RPMI1640 с добавлением антибиотиков и 2%-ной ЭТС). Отбор образцов для оценки внутриклеточной концентрации РНК ВКЭ положительной полярности (+РНК) производили сразу после нанесения среды поддержки (0 часов после заражения), а также через 4, 8, 10, 12, 14, 16, 20 и 24 часов, а также на второй, третий, четвёртый и пятый день после заражения. При отборе образцов среду поддержки удаляли, монослой клеток промывали стерильным фосфатно-солевым буфером (ФСБ, pH 7,4), отделяли от дна лунки, ресуспендировали в 100 мкл ФСБ и подсчитывали количество клеток в камере Горяева. Выделение РНК производили немедленно после сбора из равных для обеих культур количеств клеток. Выделенную РНК до исследования хранили в изопропанолe при –80 °С. Все эксперименты проводили в трёх независимых повторах.

Очистка РНК, обратная транскрипция и ПЦР

Выделение РНК проводили с помощью коммерческого комплекта реагентов «РИБО-преп» (Amplisens, Москва) в соответствии с инструкцией производителя. Для удаления случайных фрагментов ДНК, которые могли послужить в качестве неспецифичных праймеров при обратной транскрипции, полученную РНК обрабатывали свободной от РНКаз ДНКазой I (Thermo

Fisher Scientific, США) в соответствии с инструкцией производителя. Итоговую очистку РНК производили методом фенольной экстракции с использованием набора RNeasy Total RNA isolation system (Promega, США). Очищенную суммарную РНК растворяли в 30 мкл стерильной бидистиллированной воды и немедленно использовали для синтеза кДНК. Комплементарную ДНК к вирусной РНК положительной полярности (кДНК) получали с помощью набора для обратной транскрипции RevertAid M-Mlv reverse transcriptase (Fermentas, Литва). В качестве праймера использовали олигонуклеотид 11154R 5'-AGCGGTGTTTTCCTG-3'. В количественной ПЦР использовали 1 мкл полученной кДНК.

Количественную ПЦР проводили согласно методике M. Schwaiger и P. Cassinotti с модификациями [8]. Реакцию проводили в объёме 25 мкл в амплификаторе C1000Touch с оптическим модулем CFX96 (Bio-Rad Laboratories Inc., США). Реакционная смесь содержала 1 ед. полимеразы HSTaq (Евроген, Москва), 2,5 мкл оптимизированного реакционного буфера (Евроген, Москва), 0,25 ммоль каждого dNTP, праймеры F-TBE1 5'-GGGCGGTCTTGTCTCC-3' и R-TBE1 5'-ACACATCACCTCTGTGACAGT-3' в концентрации 50 нмоль и 300 нмоль соответственно, а также зонд TBE-Probe-WT 5'-(FAM)TGAGCCACCATCACCCAGACACA(RTQ1)-3' в концентрации 200 нмоль (Синтол, Москва). Режим ПЦР включал предварительный прогрев при 95 °C в течение 10 мин с последующими 45 циклами: 95 °C – 15 с, 60 °C – 1 мин. Регистрацию результатов проводили по каналу FAM на стадии 60 °C. 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 v3.1 (Bio-Rad Laboratories Inc., США). Относительное количество РНК в тестируемых образцах определяли на основе стандартной кривой, полученной при параллельной амплификации ранее разработанной нами панели стандартных образцов синтетической вирусной +РНК [9].

На ранних сроках инфекции (0–24 часа после заражения) полученную концентрацию РНК пересчитывали на количество клеток, использованных для выделения РНК. Концентрацию РНК выражали в количестве копий +РНК на одну клетку. Из-за разного цитопатического действия ВКЭ на исследуемые культуры клеток на более поздних сроках инфекции (1–5-й день после заражения) оценивали относительную концентрацию РНК в 1 мкл раствора после экстракции из 100 мкл клеточной суспензии. В каждом тесте были предусмотрены положительный и отрицательный контроли.

Способ представления результатов исследования

Результаты представлены в виде средних значений трёх независимых воспроизведений эксперимента. Эффективность ПЦР выражали в процентах и рассчитывали по формуле $\{(10^{1/Cq} - 1) \times 100\}$, где k – угловой коэффициент (slope) стандартной кривой. Соответствие определения концентрации ДНК линейной модели оценивали по коэффициенту детерминации R^2 , реакцию считали линейной при $R^2 > 0,98$. Для оценки вариабельности наблюдений рассчитывали стандартное отклонение средних значений. Выпадающие значения концентрации РНК

исключали с помощью квартильного метода [10]. Оценку статистической значимости межгрупповых различий производили с помощью t-критерия Стьюдента, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Расчёты производили с помощью программы MS Office Excel 2003.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Репликация РНК ВКЭ в культурах клеток MdbK и СПЭВ

На начальном этапе инфицирования (0 часов после заражения) в клетках MdbK концентрация внутриклеточной +РНК была существенно ниже, чем в клетках СПЭВ – в среднем 1,2 копии на каждую клетку против 7,6 копий соответственно ($p = 0,0005$, рис. 1). Через 4 часа после заражения не отмечено существенных отличий в концентрации РНК между культурами клеток, причём выравнивание концентраций произошло за счёт возрастания количества вирусной +РНК в клетках MdbK ($p = 0,301$, рис. 1). Через 8 часов после заражения в клетках MdbK концентрация +РНК осталась на уровне 4 часов, тогда как в клетках СПЭВ существенно возросла ($p = 0,0007$). В культуре клеток MdbK нарастание +РНК ВКЭ впервые отмечено через 10 часов после заражения, и к 12 часам её концентрация достигла 2 log₁₀ копий на клетку. В клетках СПЭВ в период с 8 до 12 часов после заражения количество +РНК росло более интенсивно и увеличилось примерно в 20 раз с 1,4 до 2,7 log₁₀ копий на клетку, что существенно больше, чем в клетках MdbK ($p = 0,00014$). В интервале между 12 и 14 часами после заражения отмечалось либо некоторое снижение концентрации +РНК (MdbK), либо сильное замедление скорости её нарастания (СПЭВ), после чего интенсивное увеличение количества +РНК продолжалось в обеих культурах клеток. На 16-м часу после заражения различия между MdbK и СПЭВ достигали максимума – 2,7 log₁₀ и 4,4 log₁₀ копий на клетку соответственно ($p = 0,0000002$). Далее эти различия незначительно уменьшались (рис. 1).

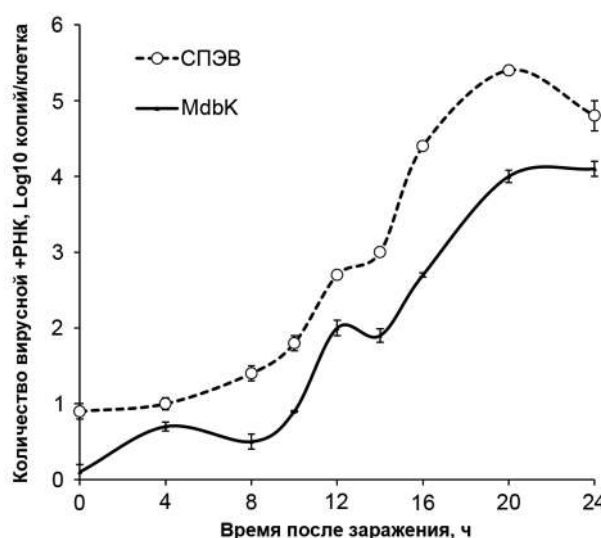


Рис. 1. Репликация РНК ВКЭ в культурах клеток. Динамика репликации +РНК ВКЭ на ранних стадиях инфекции. Планки погрешностей отображают стандартное отклонение по результатам трёх независимых повторов

Fig. 1. Replication of TBEV RNA in cell cultures. Dynamics of TBEV +RNA replication in the early stages of infection. Error bars display standard deviation based on three independent repetitions

После первого дня инфекции концентрация +РНК в клетках MdbK продолжала нарастать, хотя и была существенно ниже, чем в клетках СПЭВ ($p = 0,006$, рис. 2). На третий день после заражения в клетках MdbK отмечены максимальные концентрации +РНК – $9,1 \log_{10}$ копий/мкл, причём в клетках СПЭВ относительная концентрация +РНК ВКЭ в это же время была примерно в 100 раз выше – $11 \log_{10}$ копий/мкл ($p = 0,04$, рис. 2). К четвёртому дню после заражения концентрация РНК ВКЭ в клетках MdbK стабилизировалась чуть ниже максимальных значений и далее оставалась неизменной (рис. 2). В клетках СПЭВ концентрация РНК продолжала нарастать и выходила на плато только на 5-й день после заражения (рис. 2).

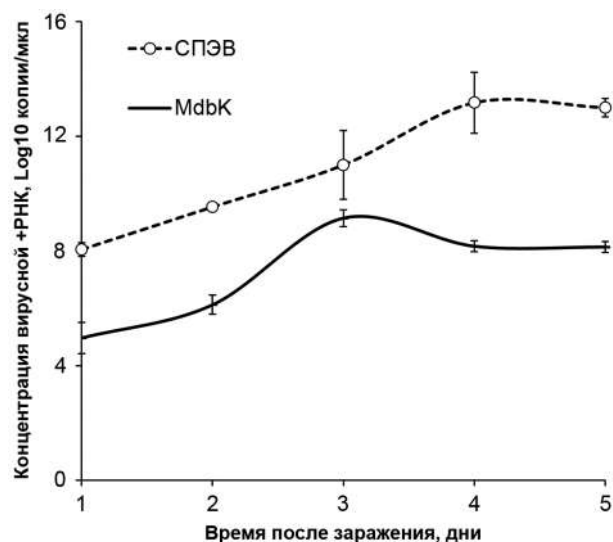


Рис. 2. Концентрация внутриклеточной +РНК ВКЭ в ходе длительной инфекции. Планки погрешностей отображают стандартное отклонение по результатам трёх независимых повторений

Fig. 2. Concentration of intracellular +RNA of TBEV during prolonged infection. Error bars display standard deviation based on three independent repetitions

Динамика репродукции инфекционного ВКЭ в культурах клеток MdbK и СПЭВ

Как видно из графика, практически на протяжении всего эксперимента концентрация инфекционного вируса была ниже в клеточной линии случайного хозяина MdbK, чем в клетках СПЭВ (рис. 3). На начальном этапе исследования (0–4 часов после заражения) в клеточных линиях MdbK и СПЭВ была отмечена небольшая разница в количестве инфекционного ВКЭ и варьировала от $0,7$ – $0,9 \log_{10}$ БОЕ/мл в пользу СПЭВ. Разница концентраций двух клеточных линий начала увеличиваться уже через 8–12 часов после заражения. В этом интервале времени в клеточной линии СПЭВ отмечается первичный интенсивный рост концентрации инфекционного ВКЭ, обусловленный выходом из клеток первой генерации вирионов в клетках СПЭВ в этом интервале времени. В клетках MdbK появление первой генерации было отмечено через 12–16 часов после заражения. Интересно, что в обеих культурах клеток через 14 часов после заражения отмечается стабилизация (СПЭВ) или снижение (MdbK) концентрации внутриклеточной РНК, что может быть связано с её выведением из внутриклеточной среды в виде геномной РНК вирионов (рис. 3).

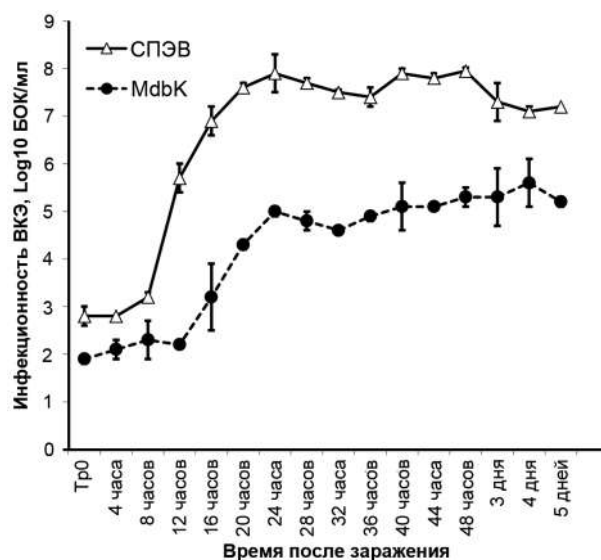


Рис. 3. Динамика репродукции инфекционного ВКЭ в культурах клеток MdbK и СПЭВ. Планки погрешностей отображают стандартное отклонение по результатам трёх независимых повторений

Fig. 3. The dynamics of reproduction of infectious TBEV in MdbK and PS cell cultures. Error bars display standard deviation based on three independent repetitions

Первые сутки инфекции количество БОЕ в обеих клеточных линиях продолжало увеличиваться вплоть до 24 часов инфекции, достигнув на этой точке своего максимума. При этом по истечении 16 часов было достигнуто максимальное различие в показателях концентрации инфекционного ВКЭ в двух рассматриваемых клеточных линиях, составившее $3,7 \log_{10}$ БОЕ/мл. В промежутке от 24 до 48 часов разница в количестве БОЕ клеточных линий MdbK и СПЭВ варьировала от $2,5$ – $2,9 \log_{10}$ БОЕ/мл с тенденцией к уменьшению. На вторые сутки инфекции было отмечено небольшое снижение концентрации инфекционного ВКЭ в рассматриваемых клеточных линиях: через 36 часов – в клетках СПЭВ, через 32 часа – в клетках MdbK. В течение оставшейся части вторых суток в обеих клеточных линиях вновь наблюдался рост количества инфекционного вируса. При исследовании более длительной инфекции – от 3 до 7 дней – в клеточной линии СПЭВ было отмечено заметное снижение количества инфекционного ВКЭ, какое не наблюдалось в клеточной линии случайного хозяина MdbK.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты показывают, что перевиваемая линия клеток почки сибирской ночницы MdbK способна поддерживать репликацию ВКЭ Сибирского субтипа. Однако проникновение вируса внутрь клеток, эффективность репликации РНК и продукция инфекционного вируса были снижены по сравнению с репликацией в культуре клеток почки эмбриона свиньи, которая является общепринятой лабораторной моделью инфекции ВКЭ. Воспроизведение инфекционного вируса с явным замедлением и в меньших титрах по сравнению с таковым в клетках СПЭВ может быть следствием того, что в клетках случайного хозяина, вдобавок к снижению эффективности репликации РНК, затруднены этапы сборки вириона и выхода зрелого инфекционного вируса из клетки.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gritsun TS, Lashkevich VA, Gould EA. Tick-borne encephalitis. *Antiviral Res.* 2003; 57(1-2): 129-146. doi: 10.1016/S0166-3542(02)00206-1
2. Lindquist L, Vapalahti O. Tick-borne encephalitis. *Lancet.* 2008; 371(9627): 1861-1871. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60800-4
3. Süss J. Epidemiology and ecology of TBE relevant to the production of effective vaccines. *Vaccine.* 2003; 21(Suppl 1): S19-S35. doi: 10.1016/S0264-410X(02)00812-5
4. 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
5. Krusko SV, Borisenko AV, Ivanova NV, Lim BK, Eger JL. Genetic diversity of northeastern palaearctic bats as revealed by DNA barcodes. *Acta Chiropterologica.* 2012; 14(1): 1-14. doi: 10.3161/150811012X654222
6. 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.
7. Gould EA, Clegg JCS. Growth, titration and purification of Togaviruses. In: Mahy BWJ (ed.). *Virology: A Practical Approach.* IRL Press; 1985: 43-48.
8. 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
9. Ляпунова Н.А., Хаснатинов М.А., Данчинова Г.А. Оптимизация методики количественной ОТ-ПЦР для оценки концентрации геномной +РНК вируса клещевого энцефалита. *Acta biomedica scientifica.* 2019; 4(5): 116-121. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.18

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>

Хаснатинов 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>

10. Walpole RE, Myers RH, Myers SL, Ye K. *Probability & Statistics for Engineers & Scientists, 8th ed.* Upper Saddle River: Pearson Education, Inc.; 2007.

REFERENCES

1. Gritsun TS, Lashkevich VA, Gould EA. Tick-borne encephalitis. *Antiviral Res.* 2003; 57(1-2): 129-146. doi: 10.1016/S0166-3542(02)00206-1
2. Lindquist L, Vapalahti O. Tick-borne encephalitis. *Lancet.* 2008; 371(9627): 1861-1871. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60800-4
3. Süss J. Epidemiology and ecology of TBE relevant to the production of effective vaccines. *Vaccine.* 2003; 21(Suppl 1): S19-S35. doi: 10.1016/S0264-410X(02)00812-5
4. Khasnatinov MA, Bolotova NA, Milovidov KS, Danchinova GA, Kondratov IG. Replication of RNA of tick-borne encephalitis virus in new transferable cell lines of the natural host *Apodemus peninsulae*. *Molecular genetics, microbiology and virology.* 2018; 33(1): 49-54. doi: 10.3103/S0891416818010068. (in Russ.)
5. Krusko SV, Borisenko AV, Ivanova NV, Lim BK, Eger JL. Genetic diversity of northeastern palaearctic bats as revealed by DNA barcodes. *Acta Chiropterologica.* 2012; 14(1): 1-14. doi: 10.3161/150811012X654222
6. Khasnatinov MA, Danchinova GA, Zlobin VI, Lyapunov AV, Arbatskaya YeV, Chaporgina YeA, et al. Tick-borne encephalitis virus in Mongolia. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk).* 2012; (4): 9-12. (In Russ.)
7. Gould EA, Clegg JCS. Growth, titration and purification of Togaviruses. In: Mahy BWJ (ed.). *Virology: A Practical Approach.* IRL Press; 1985: 43-48.
8. 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
9. Lyapunova NA, Khasnatinov MA, Danchinova GA. 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. (In Russ.)
10. Walpole RE, Myers RH, Myers SL, Ye K. *Probability & Statistics for Engineers & Scientists, 8th ed.* Upper Saddle River: Pearson Education, Inc.; 2007.

Статья получена: 05.06.2020. Статья принята: 16.09.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 05.06.2020. Accepted: 16.09.2020. Published: 26.12.2020.

Оценка эффективности воздействия VEGF на регенерацию передней поверхности трахеи в раннем послеоперационном периоде

Курганский И.С.¹, Лепехова С.А.², Гольдберг О.А.¹, Коробейникова Л.В.²,
Иноземцев Е.О.³, Пивоваров Ю.И.¹, Григорьев Е.Г.^{1,3}

¹ ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия);

² ФГБНУ Иркутский научный центр СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 134, Россия); ³ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Курганский Илья Сергеевич, e-mail: kurg.is@mail.ru

Резюме

Обоснование. Нарушение регенерации стенки трахеи после перенесённых реконструктивных операций остаётся актуальной проблемой современной хирургии. Одной из причин нарушения процессов регенерации является недостаточное кровоснабжение органа. Поиск новых способов улучшения кровоснабжения является перспективным направлением исследований.

Цель исследования: оценить эффективность воздействия VEGF на регенерацию передней поверхности трахеи в раннем послеоперационном периоде.

Материалы и методы. В исследование было включено 60 крыс-самцов линии Wistar в возрасте 10 месяцев. Всем животным выполняли реконструктивную операцию на трахее, животные были разделены на три группы: группа 1 – без лекарственной плёнки, группа 2 – с лекарственной плёнкой пролонгированного действия, группа 3 – с лекарственной плёнкой пролонгированного действия, содержащей VEGF. Забор гистологического материала осуществляли на 3-и, 7-е и 21-е сутки исследования, с помощью морфометрии определяли толщину стенки трахеи, толщину послеоперационного рубца, площадь зоны оперативного вмешательства, площадь сосудов, соотношение толщины послеоперационного рубца к толщине стенки трахеи и соотношение площади сосудов к площади зоны оперативного вмешательства.

Результаты. Выявлено, что при воздействии лекарственной плёнки пролонгированного действия, содержащей VEGF, значимые гистологические изменения возникали на 7-е сутки исследования. В группах 1 и 2 заживление происходило к 21-м суткам и сопровождалось дефектами слизистой оболочки и хряща. На 7-е сутки в группе 3 отмечалась полная эпителизация стенки трахеи, увеличение количества новообразованных сосудов и желёз в зоне оперативного вмешательства. Заживление осуществлялось тонким послеоперационным рубцом без дефектов во всех слоях стенки трахеи.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о стимулирующем воздействии VEGF на регенерацию стенки трахеи в раннем послеоперационном периоде после перенесённой реконструктивной операции. Применение VEGF уменьшает сроки заживления послеоперационной раны и позволяет сохранить анатомическое строение стенки трахеи.

Ключевые слова: трахея, регенерация, VEGF, эксперимент, крыса

Для цитирования: Курганский И.С., Лепехова С.А., Гольдберг О.А., Коробейникова Л.В., Иноземцев Е.О., Пивоваров Ю.И., Григорьев Е.Г. Оценка эффективности воздействия VEGF на регенерацию передней поверхности трахеи в раннем послеоперационном периоде. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 276-281. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.37.

Evaluation of the Effectiveness of VEGF Effect on the Regeneration of the Anterior Tracheal Surface in the Early Postoperative Period

Kurganskiy I.S.¹, Lepekhova S.A.², Goldberg O.A.¹, Korobeynikova L.V.²,
Inozemtsev E.O.³, Pivovarov Y.I.¹, Grigoryev E.G.^{1,3}

¹ Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation);

² Irkutsk Scientific Center SB RAS (Lermontova str. 134, Irkutsk 664033, Russian Federation); ³ Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Ilya S. Kurganskiy, e-mail: kurg.is@mail.ru

Abstract

Background. Violation of the regeneration of the tracheal wall after undergoing reconstructive surgeries remains an urgent problem of modern surgery. One of the reasons for the violation of the regeneration processes is insufficient blood supply to the organ. Finding new ways to improve blood flow is a promising area of research.

Aim. To evaluate the effectiveness of VEGF effect on the regeneration of the anterior tracheal surface in the early postoperative period.

Materials and methods. The study included 60 male Wistar rats at the age of 10 months. All animals underwent tracheal reconstructive surgery; the animals were divided into three groups: group 1 – without medicinal film, group 2 – with prolonged-release medicinal film, group 3 – with prolonged-release medicinal film containing VEGF. The sampling of histological material was carried out on days 3, 7 and 21 of the study, using morphometry to determine the thickness of the tracheal wall, the thickness of the postoperative scar, the area of the surgical intervention zone, the area of the vessels, the ratio of the thickness of the postoperative scar to the wall thickness trachea and the ratio of the area of the vessels to the area of the surgical intervention zone.

Results. It was revealed that when exposed to a long-acting medicinal film containing VEGF, significant histological changes occurred on day 7 of the study. In groups 1 and 2, healing occurred by day 21 and was accompanied by defects of the mucous membrane and cartilage. On day 7 in group 3, there was a complete epithelialization of the tracheal wall, an increase in the number of newly formed vessels and glands in the area of surgical intervention. Healing was carried out with a thin postoperative scar without defects in all layers of the tracheal wall.

Conclusion. The results obtained indicate the stimulating effect of VEGF on the regeneration of the tracheal wall in the early postoperative period after undergoing reconstructive surgery. The use of VEGF reduces the time of postoperative wound healing and preserves the anatomical structure of the tracheal wall.

Key words: trachea, regeneration, VEGF, experiment, rat

For citation: Kurganskiy I.S., Lepekhova S.A., Goldberg O.A., Korobeynikova L.V., Inozemtsev E.O., Pivovarov Y.I., Grigoryev E.G. Evaluation of the Effectiveness of VEGF Effect on the Regeneration of the Anterior Tracheal Surface in the Early Postoperative Period. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 276-281. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.37.

ОБОСНОВАНИЕ

Нарушение регенерации стенки трахеи после перенесённых реконструктивных операций является актуальной проблемой современной хирургии. По данным литературы, до 28 % оперативных вмешательств на трахее сопровождаются осложнениями [1]. Нарушение процессов регенерации стенки трахеи связаны с особенностями анатомии органа: наличием гиалиновых хрящей с развитием аутоиммунного воспаления; сегментарным характером кровоснабжения, с наименее выраженными сосудами по передней поверхности трахеи, легко повреждаемыми в результате оперативного вмешательства без возможности коллатерального кровоснабжения; присоединением госпитальной микрофлоры в виде ассоциаций микроорганизмов; развитием системной гипоксии с уменьшением доставки кислорода в ткани. Одним из актуальных направлений в профилактике осложнений после перенесённых реконструктивных операций на трахее является разработка новых методов стимуляции регенерации стенки трахеи, направленных на улучшение кровоснабжения в зоне оперативного вмешательства. Одним из ключевых факторов, обеспечивающих процесс регенерации в организме, является фактор роста сосудистого эндотелия (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF). VEGF – сигнальный белок, вырабатываемый клетками для стимуляции васкулогенеза и ангиогенеза. Данные о роли VEGF в регенерации стенки трахеи противоречивы: ряд авторов отмечают улучшение заживления в зоне реконструктивной операции на трахее, другие описывают разрастание избыточной грануляционной ткани или отсутствие эффекта.

Известно, что ингибирование VEGF вызывает апоптоз эндотелиальных клеток, уменьшение количества капилляров в трахее на 19 % к 7-м суткам и на 30 % к 21-м суткам [2]. По данным других авторов, после перенесённых реконструктивных операций на трахее повышались уровни VEGF и мРНК VEGF. Фактор продуцировался эпителиальными клетками трахеи и перикапиллярными макрофагами, которые мигрировали для закрытия грануляционного дефекта. Интактный эпителий трахеи VEGF не продуцировал [3]. В другом исследовании после реконструктивной операции на трахее с использованием аутоотрансплантата, обработанного VEGF, отмечалось уменьшение количества грануляционной ткани, фиброза, воспаления и увеличение количества сосудов, а также улучшение процессов заживления. Отмечалось, что активировалась выработка собственного VEGF в подслизистых железах и плазматических клетках [4, 5]. Известно, что экзогенное введение VEGF вызывает увеличение скорости эпителизации слизистой трахеи на 37 % [6].

Роль фактора роста эндотелия сосудов в регенерации стенки трахеи в условиях хирургической реконструкции является актуальным вопросом и требует дальнейшего изучения.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить эффективность воздействия VEGF на регенерацию передней поверхности трахеи в раннем послеоперационном периоде.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было выполнено на базе научного отдела экспериментальной хирургии с виварием ФГБНУ ИНЦХТ, с использованием 60 белых крыс-самцов линии Wistar 10-месячного возраста с массой тела 300–350 г. Животных содержали в условиях вивария при свободном доступе к воде и пище, что соответствует нормативам ГОСТ «Содержание экспериментальных животных в питомниках НИИ» (виварий I категории, вет. удостоверение 238 № 000360 от 30 апреля 2015 г., служба ветеринарии Иркутской области) по утверждённым СОП [7]. Опыты на животных выполняли в соответствии с правилами гуманного обращения с животными, регламентированными «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утверждёнными Приказом МЗ СССР № 742 от 13.11.1984 «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и № 48 от 23.01.1985 «О контроле за проведением работ с использованием экспериментальных животных». Все оперативные вмешательства проводили в стерильных условиях под общим обезболиванием. Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ «ИНЦХТ» (протокол заседания № 8 от 26.06.2017).

Моделирование реконструктивной операции на трахее производили путём выполнения линейного разреза трахеи на 1 хрящевое кольцо ниже перешейка щитовидной железы протяжённостью 2 хрящевых кольца по передней поверхности трахеи, с последующим ушиванием раны нитью пролен 7-0 одним Z-образным швом через хрящевое кольцо с покрытием передней поверхности трахеи лекарственной плёнкой пролонгированного действия [8]. Животных выводили из эксперимента на 3-и, 7-е и 21-е сутки. Всем животным выполняли реконструктивную операцию на трахее. Животные были разделены на три группы: группа 1 – без лекарственной плёнки, группа 2 – с лекарственной плёнкой пролонгированного действия, группа 3 – с лекарственной плёнкой пролонгированного действия, содержащей VEGF. Для оценки регенерации стенки трахеи выполняли обзорную

световую микроскопию, материал фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина. На светооптическом уровне исследовали депарафинированные срезы, окрашенные гематоксилином и эозином. Препараты исследовали на фотомикроскопе Olympus BX41 (Япония). Морфометрию проводили с помощью пакета программ Image J [9]. За норму принимали показатели, полученные у шести здоровых животных, содержащихся в одинаковых условиях с экспериментальными крысами.

Все экспериментальные данные исследований были статистически обработаны с использованием программы Statistica 10.0 (лицензия № AXAR402G263414FA-V) и представлены в виде медианы с нижним и верхним квартилями. Определение статистической значимости различий полученных данных (p) в сравниваемых выборках проведено с использованием непараметрических методов (U-критерий Манна – Уитни, W-критерий Вилкоксона) [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки влияния лекарственной плёнки пролонгированного действия, содержащей VEGF, на регенерацию стенки трахеи выполнено морфологическое исследование зоны оперативного вмешательства стенки трахеи.

При гистологическом исследовании на 3-и сутки эксперимента у животных во всех группах на поперечном срезе трахеи в зоне оперативного вмешательства выявлено сопоставление краёв раны в зоне оперативного вмешательства, эпителизация отсутствует. Во всех группах визуализируется послеоперационная рана, отмечается деформация хрящей и дефект слизистой оболочки (рис. 1).

При гистологическом исследовании в группе 3 на 7-е сутки эксперимента у животных на поперечном срезе трахеи в зоне оперативного вмешательства выявлено сращение краёв раны без дефектов во всех слоях стенки трахеи, множественные железы в подслизистом слое трахеи и множественные новообразованные сосуды. В группах 1 и 2 отмечалось сращение краёв раны, в зоне операции лейкоцитарная инфильтрация, слизистая просвета трахеи с дефектом, хрящи узурированы и деформированы (рис. 2).

При гистологическом исследовании в группах 1 и 2 на 21-е сутки эксперимента у животных на поперечном срезе трахеи в зоне оперативного вмешательства выявлено сращение краёв раны, слизистая просвета трахеи с дефектом в виде кармана, хрящ трахеи деформирован. В группе 3 на 21-е сутки эксперимента у животных на поперечном

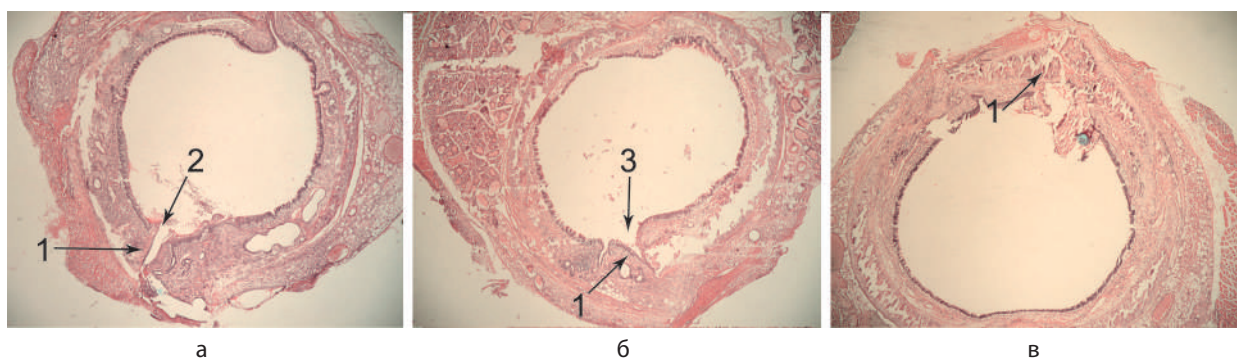


Рис. 1. Крыса, морфологическая структура стенки трахеи, просвет трахеи, срез на уровне средней трети трахеи, 3-и сутки исследования: а – группа 1 (1 – послеоперационная рана, 2 – диастаз краёв раны); б – группа 2 (1 – послеоперационная рана, 3 – карман в слизистой оболочке трахеи); в – группа 3 (1 – послеоперационная рана). Окраска гематоксилином и эозином. Объектив $\times 10$, окуляр $\times 10$

Fig. 1. Rat, morphological structure of the tracheal wall, tracheal lumen, section at the level of the middle third of the trachea, day 3 of the study: а – group 1 (1 – postoperative wound, 2 – diastasis of the wound edges); б – group 2 (1 – postoperative wound, 3 – pocket in the mucous membrane of the trachea); в – group 3 (1 – postoperative wound). Staining with hematoxylin and eosin, $\times 10$ objective, $\times 10$ ocular



Рис. 2. Крыса, морфологическая структура стенки трахеи, просвет трахеи, срез на уровне средней трети трахеи, 7-е сутки исследования: а – группа 1 (1 – послеоперационная рана, 2 – лейкоцитарный инфильтрат, 3 – карман в слизистой оболочке трахеи); б – группа 2 (1 – послеоперационная рана, 2 – лейкоцитарный инфильтрат, 3 – карман в слизистой оболочке трахеи); в – группа 3 (1 – послеоперационная рана, 4 – слизистая оболочка трахеи без дефекта). Окраска гематоксилином и эозином. Объектив $\times 10$, окуляр $\times 10$

Fig. 2. Rat, morphological structure of the tracheal wall, tracheal lumen, section at the level of the middle third of the trachea, day 7 of the study. а – group 1 (1 – postoperative wound, 2 – leukocyte infiltrate, 3 – pocket in the tracheal mucosa); б – group 2 (1 – postoperative wound, 2 – leukocyte infiltrate, 3 – pocket in the tracheal mucosa); в – group 3 (1 – postoperative wound, 4 – tracheal mucosa without defects). Staining with hematoxylin and eosin, $\times 10$ objective, $\times 10$ ocular

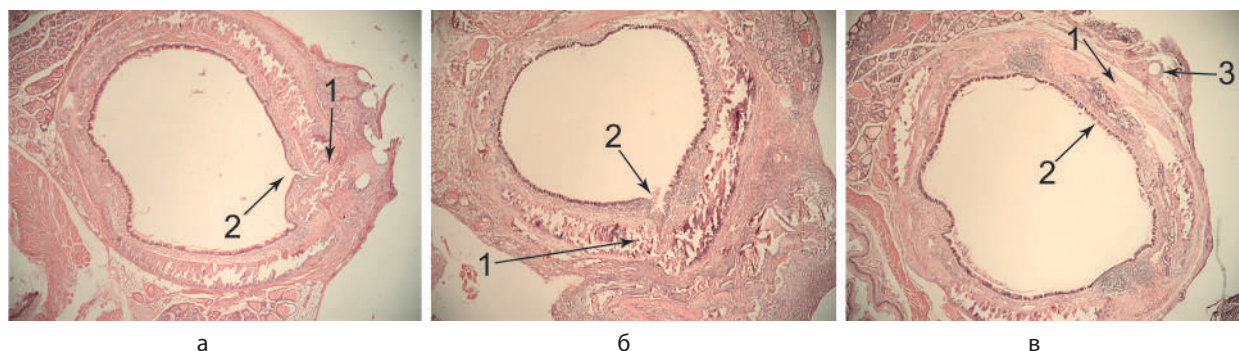


Рис. 3. Крыса, морфологическая структура стенки трахеи, просвет трахеи, срез на уровне средней трети трахеи, 21-е сутки исследования. а – группа 1 (1 – послеоперационная рана, 2 – карман в слизистой оболочке трахеи); б – группа 2 (1 – послеоперационная рана, 2 – карман в слизистой оболочке трахеи); в – группа 3 (1 – послеоперационная рана, 2 – слизистая оболочка трахеи без дефекта, 3 – просвет от шовного материала). Окраска гематоксилином и эозином. Объектив $\times 10$, окуляр $\times 10$

Fig. 3. Rat, morphological structure of the tracheal wall, tracheal lumen, section at the level of the middle third of the trachea, day 21 of the study. а – group 1 (1 – postoperative wound, 2 – pocket in the tracheal mucosa); б – group 2 (1 – postoperative wound, 2 – pocket in the tracheal mucosa); в – group 3 (1 – postoperative wound, 2 – tracheal mucosa without defect, 3 – lumen from the suture material). Staining with hematoxylin and eosin, objective $\times 10$, ocular $\times 10$

Результаты морфометрии тканей трахеи в группах 1, 2 и 3 (усл. ед.)

Таблица 1

The results of morphometry of tracheal tissues in groups 1, 2 and 3 (standard units)

Table 1

Параметр	Группы	Сутки		
		3-и	7-е	21-е
Толщина стенки трахеи, усл. ед.	1	598,5 (440–664)	610 (484–647)	458 (438–499)
	2	425 (391–709)	584,5 (543–626)	341,5 (296,5–445) [°]
	3	485 (352–570)	602,5 (524–630) [*]	370,5 (340–425) ^{°; °}
Толщина рубца, усл. ед.	1	236 (141–467)	295 (183–367)	338 (273–426)
	2	250 (209–411)	301 (261–341)	255 (191–281) [°]
	3	237,5 (220–274)	259 (201–365)	144,5 (142–161) ^{°; #; °}
Площадь зоны операции, усл. ед.	1	589441,5 (526472–669725)	449400 (443216–504963)	352878 (311953–461386)
	2	331324 (262233–558061)	468602,5 (417918–519287)	236843 (168731,5–320001) ^{*, °}
	3	477580,5 (421533–516670)	627433,5 (561469–707666) [#]	398487 (222046–483714) [°]
Площадь сосудов, %	1	3846,5 (2339–8502)	2725 (1680–3579)	722 (471–2128)
	2	2204 (1541–8218)	1751,5 (1751–1752)	4967 (2700,5–5572) ^{*, °}
	3	5994,5 (3260–6587)	10219,5 (4210–14704)	10059,5 (5837–15239) ^{°, #}
Соотношение толщины рубца к толщине стенки, %	1	37,05 (32,4–70)	48,4 (40,6–56,7)	77,2 (56,3–93)
	2	58 (49,2–64)	51,25 (48–54,5)	64,25 (52,35–75,1)
	3	52,4 (48,2–62,5)	46,5 (31,9–57,4)	36,15 (30,2–49,7) ^{°, #}
Соотношение площади сосудов к площади зоны операции, %	1	1 (0,3–1,8)	0,6 (0,3–0,7)	0,2 (0,2–0,5)
	2	0,6 (0,4–2,5)	0,35 (0,3–0,4) [*]	1,6 (0,95–2,45) ^{*, °}
	3	1,35 (0,6–1,6)	1,6 (0,4–2,3)	2,85 (2,8–3,3) [°]

Примечание. * – статистически значимые различия по критерию Манна – Уитни между группами 1 и 2 ($p_U \leq 0,05$); [°] – статистически значимые различия по критерию Манна – Уитни между группами 1 и 3 ($p_U \leq 0,05$); [#] – статистически значимые различия по критерию Манна – Уитни между группами 2 и 3 ($p_U \leq 0,05$); * – статистически значимые различия по критерию Вилкоксона по сравнению с показателем в той же группе на 3–7-е сутки ($p_W \leq 0,05$); [°] – статистически значимые различия по критерию Вилкоксона по сравнению с показателем в той же группе на 7–21-е сутки ($p_W \leq 0,05$).

срезе трахеи в зоне оперативного вмешательства выявлено сращение краёв раны без дефектов во всех слоях стенки трахеи, множественные железы в подслизистом слое трахеи, множественные новообразованные сосуды (рис. 3).

Полученные результаты морфометрии тканей трахеи представлены в таблице 1.

При исследовании толщины стенки трахеи выявлено, что в группе 3 отмечалось увеличение к 7-м суткам

исследования ($p_W = 0,0277$) и уменьшение на 21-е сутки исследования ($p_W = 0,0277$). При сравнении между группами выявлено уменьшение толщины стенки в группе 3 по сравнению с группой 1 ($p_U = 0,0453$).

При оценке толщины послеоперационного рубца выявлено, что в динамике в группе 3 показатель статистически значимо уменьшается на 21-е сутки исследования ($p_W = 0,0277$). При сравнении между группами наимень-

шая толщина рубца определялась в группе 3 ($p_U = 0,0051$, $p_U = 0,0416$).

Площадь зоны оперативного вмешательства статистически значимо уменьшалась в группе 3 на 21-е сутки исследования ($p_U = 0,0464$). При сравнении между группами выявлено, что на 7-е сутки площадь зоны операции в группе 3 статистически значимо больше, чем в группе 2 ($p_U = 0,0185$).

При исследовании площади сосудов в динамике статистически значимого увеличения в группе 3 не выявлено. При сравнении между группами выявлено, что на 21-е сутки исследования показатель в группе 3 был больше чем в группах 1 и 2 соответственно ($p_U = 0,0082$, $p_U = 0,0449$).

При оценке соотношения толщины послеоперационного рубца к толщине стенки трахеи выявлено, что наименьший рубец образуется в группе 3 на 21-е сутки исследования ($p_U = 0,0131$, $p_U = 0,0129$). Внутри групп статистически значимых различий не выявлено.

Соотношение площади сосудов к площади зоны оперативного вмешательства в динамике статистически значимо не меняется в группе 3. Статистически значимые различия между группами выявлены на 21-е сутки исследования: показатель был больше в группах 3 и 2 по сравнению с группой 1 ($p_U = 0,0127$, $p_U = 0,0080$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами установлено, что при локальном воздействии лекарственной плёнки пролонгированного действия с VEGF, различия в регенерации тканей трахеи проявлялись уже на 7-е сутки исследования. Выявлена полная эпителизация стенки трахеи со стороны просвета, в зоне послеоперационной раны определялось большое количество новообразованных сосудов и желёз. К 21-м суткам исследования сохранялась высокая плотность сосудов, по сравнению с группами контроля отмечалось увеличение их количества от 2 до 14 раз, заживление раны происходило тонким послеоперационным рубцом. Полученные результаты соответствуют литературным данным, отмечающим увеличение количества сосудов, улучшение регенерации стенки трахеи и ускорение эпителизации слизистой. Избыточного роста грануляционной ткани не выявлено. По мнению авторов, применение фактора роста эндотелия сосудов для улучшения регенерации стенки трахеи является перспективным направлением исследований и требует дальнейшего изучения.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов

ЛИТЕРАТУРА

1. Сангинов А.Б., Мосин И.В., Мосина Н.В. Этиология и патогенез рубцовых стенозов трахеи. *Вестник Авиценны*. 2010; 1: 33-39.
2. Baffert F, Le T, Sennino B, Thurston G, Kuo CJ, Hu-Lowe D, et al. Cellular changes in normal blood capillaries undergoing regression after inhibition of VEGF signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006; 290(2): 547-559. doi: 10.1152/ajpheart.00616.2005
3. Pokharel RP, Maeda K, Yamamoto T, Noguchi K, Iwai Y, Nakamura H, et al. Expression of vascular endothelial growth factor in exuberant tracheal granulation tissue in children. *J Pathol*. 1999; 188(1): 82-86. doi: 10.1002/(SICI)1096-9896(199905)188:1<82::AID-PATH324>3.0.CO;2-4

4. Dodge-Khatami A, Backer CL, Holinger LD, Mavroudis C, Cook KE, Crawford SE. Healing of a free tracheal autograft is enhanced by topical vascular endothelial growth factor in an experimental rabbit model. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2001; 122(3): 554-561. doi: 10.1067/mtc.2001.116206
5. Dodge-Khatami A, Niessen HW, Baidoshvili A, van Gulik TM, Klein MG, Eijssman L, et al. Topical vascular endothelial growth factor in rabbit tracheal surgery: Comparative effect on healing using various reconstruction materials and intraluminal stents. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2003; 23(1): 6-14. doi: 10.1016/s1010-7940(02)00722-4
6. Govindaraj S, Gordon R, Genden EM. Effect of fibrin matrix and vascular endothelial growth factor on reepithelialization of orthotopic murine tracheal transplants. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2004; 113(10): 797-804. doi: 10.1177/000348940411301005
7. Лепехова С.А. Программа стандартных операционных процедур: лабораторные животные (приём, содержание, уход и контроль здоровья животных в вивариях медицинского учреждения): учебное пособие. Иркутск: НЦРВХ СО РАМН, ИГМУ; 2012.
8. Курганский И.С., Фаткулин Р.Р., Лепехова С.А., Махутов В.Н., Зарицкая Л.В., Костыро Я.А. и др. *Лекарственная плёнка пролонгированного действия и способ её получения*: Пат. № 2678200 Рос. Федерация. № 018127796; заявл. 27.07.2018; опубл. 24.01.2019; Бюл. № 3.
9. Мычик А.В. Использование программы ImageJ для автоматической морфометрии в гистологических исследованиях. *Омский научный вестник*. 2011; 1(100): 187.
10. Спрейс И.Ф., Алферова М.А., Михалевич И.М., Рожкова Н.Ю. *Основы прикладной статистики (использование Excel и Statistica в медицинских исследованиях)*: учебное пособие. Иркутск: РИО ГИУВа; 2006.

REFERENCES

1. Sanginov AB, Mosin IV, Mosina NV. Etiology and pathogenesis of cicatricial tracheal stenosis. *Vestnik Avitsenny*. 2010; 1: 33-39. (In Russ.)
2. Baffert F, Le T, Sennino B, Thurston G, Kuo CJ, Hu-Lowe D, et al. Cellular changes in normal blood capillaries undergoing regression after inhibition of VEGF signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006; 290(2): 547-559. doi: 10.1152/ajpheart.00616.2005
3. Pokharel RP, Maeda K, Yamamoto T, Noguchi K, Iwai Y, Nakamura H, et al. Expression of vascular endothelial growth factor in exuberant tracheal granulation tissue in children. *J Pathol*. 1999; 188(1): 82-86. doi: 10.1002/(SICI)1096-9896(199905)188:1<82::AID-PATH324>3.0.CO;2-4
4. Dodge-Khatami A, Backer CL, Holinger LD, Mavroudis C, Cook KE, Crawford SE. Healing of a free tracheal autograft is enhanced by topical vascular endothelial growth factor in an experimental rabbit model. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2001; 122(3): 554-561. doi: 10.1067/mtc.2001.116206
5. Dodge-Khatami A, Niessen HW, Baidoshvili A, van Gulik TM, Klein MG, Eijssman L, et al. Topical vascular endothelial growth factor in rabbit tracheal surgery: Comparative effect on healing using various reconstruction materials and intraluminal stents. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2003; 23(1): 6-14. doi: 10.1016/s1010-7940(02)00722-4
6. Govindaraj S, Gordon R, Genden EM. Effect of fibrin matrix and vascular endothelial growth factor on reepithelialization of orthotopic murine tracheal transplants. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2004; 113(10): 797-804. doi: 10.1177/000348940411301005
7. Lepekhova SA. *The program of standard operating procedures: laboratory animals (reception, maintenance, care and monitoring of animal health in the vivariums of a medical institution)*: Study guide. SCRRS SB RAMS, Irkutsk State Medical University; 2012. (In Russ.)
8. Kurganskiy IS, Fatkulov RR, Lepekhova SA, Makhutov VN, Zaritskaya LV, Kostyrov YaA, et al. *Sustained-release medicinal film and method for its production*: Patent N 2678200 of the Russian Federation. (In Russ.)

9. Mytsik AV. Using the ImageJ program for automatic morphometry in histological studies. *Omskiy nauchnyy vestnik*. 2011; 1(100): 187. (In Russ.)

10. Spreis IF, Alferova MA, Mikhalevich IM, Rozhkova NYu. *Fundamentals of applied statistics (using Excel and Statistica in medical research)*: textbook. Irkutsk; 2006. (In Russ.)

Сведения об авторах

Курганский Илья Сергеевич – аспирант, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; младший научный сотрудник отдела медико-биологических исследований и технологий, ФГБНУ Иркутский научный центр СО РАН, e-mail: kurg.is@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4386-5162>

Лепехова Светлана Александровна – доктор биологических наук, заведующий отделом медико-биологических исследований и технологий, ФГБНУ Иркутский научный центр СО РАН, e-mail: isc@isc.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7961-4421>

Гольдберг Олег Аронович – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных технологий и регенеративной медицины, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: scrrs.irk@gmail.com

Иноземцев Евгений Олегович – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: rektorat@ismu.baikal.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0146-3395>

Коробейникова Лилия Владимировна – младший научный сотрудник отдела медико-биологических исследований и технологий, ФГБНУ Иркутский научный центр СО РАН, e-mail: isc@isc.irk.ru

Пивоваров Юрий Иванович – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: scrrs.irk@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6094-3583>

Григорьев Евгений Георгиевич – член-корреспондент РАН, научный руководитель, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; заведующий кафедрой госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: iscst@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5715-5113>

Information about the authors

Ilya S. Kurganskiy – Junior Research Officer at the Scientific Department of Experimental Surgery with Vivarium, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: kurg.is@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0146-3395>

Svetlana A. Lepekhova – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Department of Biomedical Research and Technology, Irkutsk Scientific Center of the Siberian Branch of the RAS, e-mail: isc@isc.irk.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7961-4421>

Oleg A. Goldberg – Cand. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Laboratory of Cell Technologies and Regenerative Medicine, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: iscst@mail.ru

Evgeniy O. Inozemtsev – Cand. Sc. (Med.), Teaching Assistant at the Department of Advanced Level Surgery, Irkutsk State Medical University, e-mail: rektorat@ismu.baikal.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0146-3395>

Liliya V. Korobeynikova – Junior Research Officer at the Department of Biomedical Research and Technology, Irkutsk Scientific Center of the Siberian Branch of the RAS, e-mail: isc@isc.irk.ru

Yuri I. Pivovarov – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Laboratory of Cellular Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: scrrs.irk@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6094-3583>

Evgeniy G. Grigoryev – Corresponding Member of RAS, Scientific Advisor, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Head of the Department of Advanced Level Surgery, Irkutsk State Medical University, e-mail: iscst@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5715-5113>

Статья получена: 07.09.2020. Статья принята: 25.10.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 07.09.2020. Accepted: 25.10.2020. Published: 26.12.2020.

Способ изготовления лекарственной плёнки пролонгированного действия, содержащей VEGF

Курганский И.С.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Курганский Илья Сергеевич, e-mail: kurg.is@mail.ru

Резюме

Обоснование. Разработка новых способов доставки биологически активных веществ в зону оперативного вмешательства является перспективным направлением современной хирургии. Одним из биологически активных веществ, применяемых для стимуляции регенерации, является фактор роста эндотелия сосудов (VEGF). Поиск способов, позволяющих постепенно и в течение длительного времени доставлять VEGF в зону оперативного вмешательства, является перспективным направлением исследований.

Цель исследования: разработать лекарственную плёнку пролонгированного действия, содержащую VEGF. **Материалы и методы.** В исследование было включено 78 крыс-самцов линии Wistar в возрасте 10 месяцев. Всем животным выполняли реконструктивную операцию на трахее, животные были разделены на три группы: группа 1 – без лекарственной плёнки, группа 2 – с лекарственной плёнкой пролонгированного действия, группа 3 – с лекарственной плёнкой пролонгированного действия, содержащей VEGF. Забор крови осуществляли на 1-е, 3-и, 7-е и 21-е сутки исследования, с помощью метода иммуноферментного анализа определяли уровень VEGF плазмы крови, единица измерения – пг/мл.

Результаты. Разработана лекарственная плёнка пролонгированного действия, содержащая VEGF. Выявлено, что использование лекарственной плёнки, содержащей VEGF, сопровождалось повышением показателя VEGF в плазме крови в 2 раза, начиная с первых суток исследования, показатель оставался высоким в течение всего исследования.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности разработанной лекарственной плёнки пролонгированного действия. Высвобождение VEGF начиналось с первых суток исследования и продолжалось до 21-х суток. Высокие показатели VEGF, по мнению авторов, были связаны с экзогенным внесением VEGF в организм животных в виде плёнки пролонгированного действия и индукцией эндогенного VEGF крыс.

Ключевые слова: трахея, лекарственная плёнка, VEGF, эксперимент, крыса

Для цитирования: Курганский И.С. Способ изготовления лекарственной плёнки пролонгированного действия, содержащей VEGF. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 282-285. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.38.

A Method of Manufacturing a Long-Acting Medicinal Film Containing VEGF

Kurganskiy I.S.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Ilya S. Kurganskiy, e-mail: kurg.is@mail.ru

Abstract

Background. The development of new methods for delivering biologically active substances to the surgical site is a promising area of modern surgery. One of the biologically active substances used to stimulate regeneration is the vascular endothelial growth factor (VEGF). The search for ways to gradually and over a long period of time deliver VEGF to the surgical site is a promising area of research.

Aim. To develop a method for delivering VEGF to the surgical site and to assess its elimination in the early postoperative period.

Materials and methods. The study included 78 male Wistar rats at the age of 10 months. All animals underwent reconstructive surgery on the trachea, the animals were divided into 3 groups: group 1 – without a medicinal film, group 2 – with a medicinal film of prolonged action, group 3 – with a medicinal film of prolonged action containing VEGF. Blood sampling was carried out on days 1, 3, and 21 of the study, using the method of enzyme-linked immunosorbent assay to determine the level of VEGF in blood plasma, the unit of measurement was pg/ml.

Results. A long-acting medicinal film containing VEGF has been developed. It was revealed that the use of a medicinal film containing VEGF significantly increases the VEGF index in blood plasma by 26 times starting from the first day of the study and remained high throughout the study.

Conclusion. The results obtained indicate the effectiveness of the developed medicinal film of prolonged action. Elimination of VEGF starts from the first day of the study and lasts up to 21 days. High VEGF indices, according to the authors, are associated with the exogenous introduction of VEGF into the animal organism in the form of a prolonged-action film and the induction of endogenous VEGF in rats.

Key words: trachea, medicinal film, VEGF, experiment, rat

For citation: Kurganskiy I.S. A Method of Manufacturing a Long-Acting Medicinal Film Containing VEGF. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 282-285. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.38.

ОБОСНОВАНИЕ

Нарушение регенерации передней поверхности трахеи после перенесённых реконструктивных операций является актуальной проблемой современной хирургии. Одним из способов стимуляции регенерации является улучшение кровоснабжения трахеи. В литературе предложено большое количество способов: озонотерапия, клеточная терапия, гипербарическая оксигенация, использование лоскута тимуса или большого сальника [1–3]. Одним из факторов в организме, отвечающим за кровоснабжение тканей, является фактор роста эндотелия сосудов (VEGF). Разработка лекарственной плёнки пролонгированного действия, содержащей VEGF, позволила бы изучить его воздействие на регенерацию передней поверхности трахеи в раннем послеоперационном периоде.

Одним из способов доставки биологически активных веществ является лекарственная плёнка пролонгированного действия. Лекарственные плёнки пролонгированного действия применяются для доставки лекарственных веществ в ткани организма в течение длительного времени после нанесения плёнки, с одномоментным высвобождением дозы вещества и высвобождением поддерживающей дозы с постоянной скоростью, соответствующей скорости элиминации и обеспечивающей постоянство желаемой терапевтической концентрации [4]. Разработка лекарственной плёнки пролонгированного действия, содержащей VEGF, поддерживающей длительную и постоянную концентрацию лекарственного вещества в тканях организма, является актуальной проблемой современной фармакологии и биотехнологий.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработать лекарственную плёнку пролонгированного действия, содержащую VEGF.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было выполнено на базе научного отдела экспериментальной хирургии с виварием ФГБНУ ИНЦХТ, с использованием 78 белых крыс-самцов линии Wistar 10-месячного возраста с массой тела 300–350 г. Животных содержали в условиях вивария при свободном доступе к воде и пище, что соответствует нормативам ГОСТ «Содержание экспериментальных животных в питомниках НИИ» (виварий I категории, вет. удостоверение 238 № 000360 от 30 апреля 2015 г., служба ветеринарии Иркутской области) по утверждённому СОП [5]. Опыты на животных проводили в соответствии с правилами гуманного обращения с животными, регламентированными «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утверждёнными Приказом МЗ СССР № 742 от 13.11.84 г. «Об утверждении правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и № 48 от 23.01.85 г. «О контроле за проведением работ с использованием экспериментальных животных». Все оперативные вмешательства проводили в стерильных условиях под общим обезболиванием. Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ «ИНЦХТ» (протокол заседания № 8 от 26.06.2017 г.).

Разработку лекарственной плёнки пролонгированного действия проводили в группе фармацевтической разработки ФГБНУ «Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского» СО РАН совместно с к.м.н. Я.А. Костыро.

Апробацию лекарственной плёнки пролонгированного действия осуществляли путём интраоперационного размещения плёнки на передней поверхности трахеи после перенесённой реконструктивной операции. Моделирование реконструктивной операции на трахее производили путём выполнения линейного разреза трахеи на 1 хрящевое кольцо ниже перешейка щитовидной железы протяжённостью 2 хрящевых кольца по передней поверхности трахеи, с последующим ушиванием раны нитью пролен 7-0 одним Z-образным швом через хрящевое кольцо [6]. Животных выводили из эксперимента на 1-е, 3-и, 7-е и 21-е сутки. Всем животным выполняли реконструктивную операцию на трахее. Животные были разделены на три группы: группа 1 – без лекарственной плёнки, группа 2 – с лекарственной плёнкой пролонгированного действия, группа 3 – с лекарственной плёнкой пролонгированного действия, содержащей VEGF. Забор крови для лабораторных исследований проводили у всех крыс в утренние часы на голодный желудок. Определение уровня VEGF плазмы проводили в лабораторном отделе Центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» Минздрава России совместно с к.м.н. Л.В. Зарецкой. Исследование выполняли с использованием метода иммуноферментного анализа, единица измерения – пг/мл (тест система eBioscience Rat VEGF-C Platinum ELISA BMS626/2 BMS626/2TEN, Австрия). За норму принимали показатели, полученные у шести здоровых животных, содержащихся в одинаковых условиях с экспериментальными крысами.

Все экспериментальные данные исследований были статистически обработаны с использованием программы Statistica 10.0 (лицензия № AXAR402G263414FA-V) и представлены в виде медианы с нижним и верхним квартилями. Определение статистической значимости различий полученных данных (*p*) в сравниваемых выборках проведено с использованием непараметрических методов (U-критерий Манна – Уитни, W-критерий Вилкоксона) [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изготовление лекарственной плёнки пролонгированного действия выполняли следующим способом: 1,5 части 30% водного раствора желатина с 10 частями физиологического раствора нагревали до температуры 70 °С, постоянно перемешивая до образования гомогенной жидкой субстанции. Далее прекращали процесс нагревания, не переставая перемешивать субстанцию. При остывании до температуры в 50 °С добавляли 1/10 часть поливинилпирролидона, при достижении 37 °С добавляли 1 часть альбумина, биологически активное вещество (VEGF). Полученную субстанцию разливали в полистироловые формы, предварительно обезжиренные спиртом. В форме равномерно раскладывали волокна лиофилизированного коллагена. Форму помещали в холодильник при температуре +4–6 °С. Через 48 часов плёнки отделяли от основы и затем металлическими лезвиями рассекали на полоски 5×5 мм. Готовые лекарственные плёнки подвергали низкотемпературной стерилизации этиленоксидом в течение 5 часов. Готовая лекарственная плёнка имеет шероховатую поверхность, эластичная, бледно-жёлтого цвета, прилипает к влажной поверхности. Каждую плёнку упаковывали в полиэтиленовую оболочку и герметично закрывали. Упакованные плёнки

до использования хранили в холодильнике при температуре +4–6 °C до 14 суток.

Концентрация VEGF в одной лекарственной плёнке 5×5 мм определялась в количестве 148,00 пг.



Рис. 1. Лекарственная плёнка в полистироловой форме
Fig. 1. Medicinal film in polystyrene form

Лекарственную плёнку перед применением извлекали из оболочки и размещали поверх линейной раны, высокая адгезия плёнки к тканям не требовала дополнительной фиксации к ране.

Основными заложенными характеристиками плёнки являлись высвобождение VEGF в течение 7 суток, создание аэро- и гемостаза в зоне реконструктивной операции, адгезия плёнки к стенке трахеи. Заявленные характеристики были достигнуты в лекарственной плёнке вышеуказанного состава и способа изготовления.

Оценка высвобождения VEGF плазмы крови проводилась на 1-е, 3-и, 7-е и 21-е сутки исследования (табл. 1).

При оценке количества VEGF на 1-е сутки исследования отмечается увеличение показателя в группе 3 ($p_U = 0,0050$) по сравнению с нормой. При сравнении между группами выявлены статистически значимые различия между группами 3 и 1 ($p_U = 0,0050$) и 3 и 2 ($p_U = 0,0050$).

На 3-и сутки исследования выявлено, что показатель VEGF в группе 3 был статистически значимо выше нормы ($p_U = 0,0050$). Между группами 1 и 3, 2 и 3 выявлены статистически значимые различия ($p_U = 0,0050$; $p_U = 0,0050$).

При анализе количества VEGF на 7-е сутки исследования показатель в группе 3 оставался выше нормы ($p_U = 0,0050$). При сравнении между группами 1 и 3, 2 и 3 выявлены аналогичные различия с предыдущими сроками исследования ($p_U = 0,0050$; $p_U = 0,0050$).

К 21-м суткам исследования показатель VEGF в группе 3 оставался повышен относительно нормы ($p_U = 0,0050$) и группы 1 ($p_U = 0,0050$).

При анализе показателя VEGF внутри группы 3 выявлено снижение показателя на 7-е сутки исследования ($p_W = 0,0277$), с дальнейшим снижением на 21-е сутки исследования ($p_W = 0,0277$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами разработана лекарственная плёнка пролонгированного действия с высвобождением VEGF в течение 21 суток, обеспечивающая аэро- и гемостаз в зоне реконструктивной операции и обладающая адгезией к стенке трахеи. При оценке высвобождения VEGF показатель в группе 3 был выше нормы в 26 раз на 1-е сутки исследования и выше, чем в группах 1 и 2 в течение всего исследования. Высокие показатели в группе 3, по мнению авторов, связаны с экзогенным внесением VEGF в организм животных в виде плёнки пролонгированного действия и индукцией выработки эндогенного VEGF крыс. Эффективность применения лекарственной плёнки пролонгированного действия, содержащей VEGF, и механизмы воздействия VEGF на регенерацию стенки трахеи являются перспективным направлением исследований и требуют дальнейшего изучения.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Решетов И.В., Шехтер А.Б., Кабисов Р.К. Применение воздушно-плазменного аппарата Плазон в режимах коагуляции и NO-терапии при реконструктивно-пластических операциях у онкологических больных. *Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии*. 2000; 4: 24–39.
2. Чернеховская Н.Е., Андреев В.Г., Поваляев А.В. *Лечебная бронхоскопия в комплексной терапии заболеваний органов дыхания: учебное пособие*. М.: МЕДпресс-информ; 2011.
3. Celik B, Meydan AD, Kefeli M, Gülen EK, Okumus NO. The effects of hyperbaric oxygen treatment on the healing of tracheal anastomosis following irradiation in rats. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2010; 58(8): 481–485. doi: 10.1055/s-0030-1250273

Таблица 1
Результаты оценки количества VEGF в плазме крови (пг/мл) после реконструктивной операции на трахее (медиана, квартили)
Table 1
Results of assessing the amount of VEGF in blood plasma (pg/ml) after reconstructive surgery on the trachea (median, quartiles)

Группы	Сутки			
	1-е	3-и	7-е	21-е
Группа 1	4,1 (2,6–6,8)*	5,00 (4,5–7,0)*	8,9 (5,3–10,4)	12,4 (9,9–16,3)*, *
Группа 2	7,3 (5,6–15,6)	6,1 (3,1–10,2)	12,9 (7,4–14,7)	17,9 (11,9–26,4)*
Группа 3	232,2 (217,7–240,9)*, #, ^	246,3 (191,4–270,3)*, #, ^	187,3 (146,2–212,1)*, #, ^	42,1 (25,8–47,9)*, *
Норма	8,9 (8,2–10,0)			

Примечания. * – статистически значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с нормой ($p_U \leq 0,05$); # – статистически значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с тем же показателем между группами 1 и 3 на один срок ($p_U \leq 0,05$); ^ – статистически значимые различия по критерию Манна – Уитни по сравнению с тем же показателем между группами 2 и 3 на один срок ($p_U \leq 0,05$); ° – статистически значимые различия по критерию Вилкоксона по сравнению с показателем в той же группе на 3–7-е сутки ($p_W \leq 0,05$); * – статистически значимые различия по критерию Вилкоксона по сравнению с показателем в той же группе на 7–21-е сутки ($p_W \leq 0,05$).

4. Коржавых Э.А., Румянцев А.С. Лекарственные формы с модифицированным высвобождением и действием. *Российские аптеки*. 2003; 4: 15-18.

5. Лепехова С.А. *Программа стандартных операционных процедур: лабораторные животные (приём, содержание, уход и контроль здоровья животных в вивариях медицинского учреждения): учебное пособие*. Иркутск: НЦРВХ СО РАМН, ИГМУ; 2012.

6. Курганский И.С., Фаткулин Р.Р., Лепехова С.А., Махутов В.Н., Зарицкая Л.В., Костыро Я.А., и др. *Лекарственная плёнка пролонгированного действия и способ её получения*: Пат. № 2678200 Рос. Федерация. № 018127796; заявл. 27.07.2018; опубл. 24.01.2019; Бюл. № 3.

7. Спрейс И.Ф., Алферова М.А., Михалевич И.М., Рожкова Н.Ю. *Основы прикладной статистики (использование Excel и Statistica в медицинских исследованиях): учебное пособие*. Иркутск: РИО ГИУВа; 2006.

REFERENCES

1. Reshetov IV, Shehter AB, Kabisov RK. The use of the Plazon air-plasma apparatus in the modes of coagulation and NO-therapy in reconstructive plastic operations in cancer patients. *Annaly*

plasticheskoy, rekonstruktivnoy i esteticheskoy khirurgii. 2000; 4: 24-39. (In Russ.)

2. Chernehovskaja NE, Andreev VG, Povaljaev AV. *Therapeutic bronchoscopy in the complex therapy of respiratory diseases: textbook*. Moscow: MEDpress-inform; 2011.

3. Celik B, Meydan AD, Kefeli M, Gülen EK, Okumus NO. The effects of hyperbaric oxygen treatment on the healing of tracheal anastomosis following irradiation in rats. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2010; 58(8): 481-485. doi: 10.1055/s-0030-1250273

4. Korzhavyyh EA, Rumjancev AS. Dosage forms with modified release and action. *Rossijskie apteki*. 2003; 4: 15-18. (In Russ.)

5. Lepekhova SA. *The program of standard operating procedures: laboratory animals (reception, maintenance, care and monitoring of animal health in the vivariums of a medical institution): study guide*. SCRRS, Irkutsk State Medical University; 2012. (In Russ.)

6. Kurganskiy IS, Fatkulin RR, Lepekhova SA, Makhutov VN, Zaritskaya LV, Kostyro YaA, et al. Sustained-release medicinal film and method for its production: Patent N 2678200 of the Russian Federation. (In Russ.)

7. Spreis IF, Alferova MA, Mikhalevich IM, Rozhkova NYu. *Fundamentals of applied statistics (using Excel and Statistica in medical research): textbook*. Irkutsk; 2006. (In Russ.)

Сведения об авторе

Курганский Илья Сергеевич – аспирант, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; младший научный сотрудник отдела медико-биологических исследований и технологий, ФГБНУ Иркутский научный центр СО РАН, e-mail: kurg.is@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4386-5162>

Information about the author

Ilya S. Kurganskiy – Junior Research Officer at the Scientific Department of Experimental Surgery with Vivarium, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: kurg.is@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0146-3395>

Статья получена: 07.09.2020. Статья принята: 01.12.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.
Received: 07.09.2020. Accepted: 01.12.2020. Published: 26.12.2020.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ EPIDEMIOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.39

Приверженность родителей и врачей г. Иркутска вакцинопрофилактике клещевого вирусного энцефалита*

Казанцева Е.Д.¹, Петрова А.Г.¹, Ваняркина А.С.¹, Баянова Т.А.², Новикова Е.А.¹

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

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

Автор, ответственный за переписку: Казанцева Екатерина Дмитриевна, e-mail: kat.smile7@yandex.ru

Резюме

Клещевой энцефалит – природно-очаговая вирусная инфекционная болезнь с трансмиссивным механизмом передачи возбудителя, которая характеризуется преимущественным поражением центральной нервной системы и полиморфизмом клинических проявлений. Актуальность заболевания сохраняется в связи с возможностью развития тяжёлых форм болезни, приводящих к стойкой инвалидизации и летальным исходам, которые регистрируются ежегодно.

Практически на всей территории Иркутской области сохраняется эпидемиологическое неблагополучие по инфекциям, переносимым клещами. В настоящее время заметно увеличилось количество присасываний иксодовых клещей на городских жителей. В клещах г. Иркутска обнаружены все известные в настоящее время для Восточной Сибири возбудители опасных для человека болезней клещевого энцефалита, клещевого боррелиоза, моноцитарного эрлихиоза, гранулоцитарного анаплазмоза, риккетсиоза и клещевой возвратной лихорадки.

Целью исследования явилось оценить мнение родителей и врачей по вопросам вакцинации от клещевого вирусного энцефалита в г. Иркутске по данным анонимного анкетирования.

Материалы и методы. Проведено описательное ретроспективное эпидемиологическое исследование в период с ноября 2018 г. по январь 2019 г. среди 1620 родителей и 193 врачей различных специальностей г. Иркутска. Статистическую обработку материала проводили с помощью таблиц Excel (Windows 2010) и программы Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение. В целом отношение к вакцинации выглядит позитивно – 98 % опрошенных родителей вакцинируют своих детей. От клещевого энцефалита прививают своих детей 11,3 % родителей, 23,3 % врачей прививаются самостоятельно. Каждый четвёртый врач прививает своего ребёнка от этой инфекции.

Заключение. Отмечается недостаточный охват вакцинации против клещевого энцефалита как среди населения, так и среди врачей г. Иркутска. Необходима активная санитарно-просветительская работа с населением, внедрение новых методов совершенствования квалификации врачей по вопросам иммунизации.

Ключевые слова: вакцинация, дети, врачи, вирусный клещевой энцефалит

Для цитирования: Казанцева Е.Д., Петрова А.Г., Ваняркина А.С., Баянова Т.А., Новикова Е.А. Приверженность родителей и врачей г. Иркутска вакцинопрофилактике клещевого вирусного энцефалита. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 286-291. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.39.

Commitment of Parents and Doctors of Irkutsk City to Vaccination against Tick-Borne Encephalitis

Kazantseva E.D.¹, Petrova A.G.¹, Vanyarkina A.S.¹, Bayanova T.A.², Novikova E.A.¹

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

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

Corresponding author: Ekaterina D. Kazantseva, e-mail: kat.smile7@yandex.ru

Abstract

Today in Irkutsk region, we face a noticeable increase in the number of cases of ixodid tick sucking to urban residents. Ticks, found in the territory of Irkutsk city, were detected to have all currently known pathogens causing such serious diseases as tick-borne encephalitis, tick-borne borreliosis, monocytic ehrlichiosis, granulocytic anaplasmosis, rickettsiosis and tick-borne recurrent fever. These diseases may develop to severe forms, and lead to disability or even death.

* Статья опубликована по материалам доклада на IV Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты в медицине и биологии» (Иркутск, 16 октября 2020 года).

The aim of the study was to evaluate the opinion of parents and doctors on vaccination against tick-borne viral encephalitis in Irkutsk based on the data of an anonymous questionnaire survey.

Material and methods. The descriptive retrospective epidemiological study was conducted between November 2018 and January 2019. It included 1620 parents and 193 doctors of various specialties in Irkutsk. Statistical processing of the material was carried out using Excel tables (Windows 2010) and the Statistica 6.0 program.

Results and discussion. In general, the attitude towards vaccination looks positive – 98 % of the parents vaccinate their children. 11.3 % of parents vaccinate their children from tick-borne encephalitis, 23.3 % of doctors vaccinate themselves. Every fourth doctor vaccinates his child against this infection.

Conclusion. Insufficient vaccination coverage against tick-borne encephalitis is noted both among the population and among doctors of Irkutsk. It is important to introduce health education for the population and to adopt new ways for improving the qualifications of doctors in immunization issues.

Key words: vaccination, children, doctors, tick-borne encephalitis

For citation: Kazantseva E.D., Petrova A.G., Vanyarkina A.S., Bayanova T.A., Novikova E.A. Commitment of Parents and Doctors of Irkutsk City to Vaccination against Tick-Borne Encephalitis. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 286-291. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.39.

ВВЕДЕНИЕ

Клещевой энцефалит (КЭ), также известный как клещевой вирусный энцефалит, клещевой весенне-летний энцефалит, дальневосточный энцефалит – природно-очаговая вирусная инфекционная болезнь с трансмиссивным механизмом передачи возбудителя, характеризующаяся преимущественным поражением центральной нервной системы и полиморфизмом клинических проявлений. Последствия заболевания разнообразны – от полного выздоровления до нарушений здоровья, приводящих к инвалидности и смерти [1].

КЭ распространён по всей умеренно-климатической лесной и лесостепной зоне евразийского континента и за его пределами. Большая часть ареала приходится на Россию. Высокоэндемичны по КЭ территории Уральского, Сибирского и Дальневосточного регионов [1, 2].

Актуальность проблемы сохраняется ввиду возможности развития тяжёлых форм болезни, приводящих к стойкой инвалидизации и летальным исходам, которые регистрируются ежегодно. В 2018 г. в РФ зарегистрировано 1727 случаев КЭ (1,18 на 100 тыс. населения), умерло 28 человек (летальность – 1,6 %) [3].

Практически на всей территории Иркутской области сохраняется эпидемиологическое неблагополучие по инфекциям, переносимым клещами: в 2019 г. зарегистрировано 14 538 случаев присасывания клещей, показатель обращаемости составил 605,4 на 100 тыс. населения, что на 17 % меньше, чем в 2018 г. (726,9) и в 1,7 раза выше, чем в среднем по России (355,3). Более 23 % пострадавших составили дети до 17 лет (3472 случая), показатель обращаемости в этой группе остался практически на уровне предыдущего года (611,1) и в 1,4 раза превысил среднероссийский уровень (452,0). Выше чем в среднем по стране остаётся и заболеваемость клещевым энцефалитом, превышая российские показатели в 3 раза [4].

Основной мерой профилактики вирусного клещевого энцефалита остаётся иммунизация населения, которая проводится в рамках календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям людям из групп риска [5].

Вакцинопрофилактика на сегодняшний день является самым эффективным и экономически выгодным профилактическим мероприятием в борьбе с инфекционными болезнями. С начала проведения вакцинации в СССР произошло резкое падение заболеваемости корью (в 500 раз), дифтерией (в 200 раз), эпидемическим паротитом (в 150 раз), коклюшем (в 40 раз) и столбняком (в 50 раз) [6].

Коллегами из г. Екатеринбурга было установлено, что охват детей прививками по Национальному календарю в

регламентированные сроки недостаточный. В поликлинике ведущими причинами нарушений графика вакцинации оказались: временные медицинские отводы (острые респираторные инфекции, острые кишечные инфекции и аллергический дерматит), несвоевременная явка на прививку и отказы родителей [7].

Приверженность родителей к вакцинации у детей раннего возраста связана с социальным влиянием и доверием к профессии врача [8]. В Индии уровень знаний о вакцинации напрямую зависит от материнской грамотности [9], а родители из штата Аризона (США) менее склонны доверять врачам и более склонны получать медицинскую помощь от натуропата [10].

Для КЭ характерны черты природно-очаговой инфекции, трансмиссивный путь передачи, высокая восприимчивость непривитых людей, особенно детей, у которых заболевание протекает преимущественно с поражением ЦНС. Дети, своевременно вакцинированные от КЭ, болеют в 5 раз реже по сравнению с непривитыми [11].

КЭ составляет 43 % случаев в структуре клещевых инфекций в детском возрасте по данным Областной инфекционной клинической больницы г. Иркутска за 3-летний период (2015–2017 гг.). У детей, перенёсших эту инфекцию, преобладает лихорадочная и менингеальная формы, у 84 % детей отмечается благоприятный исход после перенесённого КЭ [12].

В настоящее время заметно увеличилось количество присасываний иксодовых клещей на городских жителей. В клещах в черте г. Иркутска обнаружены все известные в настоящее время для Восточной Сибири возбудители опасных для человека болезней клещевого энцефалита, клещевого боррелиоза, моноцитарного эрлихиоза, гранулоцитарного анаплазмоза, риккетсиоза и клещевой возвратной лихорадки [13].

Российские врачи расценивают вакцинацию как безопасный и надёжный способ противoinфекционной защиты. Большинство врачей (71 %) считают необходимым рекомендовать родителям пациентов не только профилактические прививки, которые включены в Национальный календарь, но и иммунизацию по эпидемиологическим показаниям и прививки от актуальных инфекций. Многие высказывали мнение о необходимости правового воздействия на родителей ребёнка в случае их отказа от вакцинации [14].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка приверженности родителей и врачей г. Иркутска вакцинопрофилактике клещевого энцефалита.

ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Оценка динамики заболеваемости КЭ в РФ и Иркутской области в частности;
2. Анализ приверженности родителей и врачей различных специальностей по вопросам вакцинопрофилактики клещевого энцефалита;
3. Выявление факторов, которые влияют на приверженность вакцинации от КЭ;
4. Выявление оптимальных подходов для увеличения приверженности населения в пользу вакцинации от клещевого энцефалита.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами было проведено описательное ретроспективное эпидемиологическое исследование в г. Иркутске в период с ноября 2018 г. по январь 2019 г. Многолетняя динамика заболеваемости КЭ совокупного населения проанализирована по данным федерального государственного статистического наблюдения (форма 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях») за период 2010–2019 гг.; объёмы вакцинации против КЭ представлены за период 2013–2018 гг. по данным федерального государственного статистического наблюдения (форма 5 «Сведения о профилактических прививках»).

В исследовании приняли участие две группы респондентов:

1. Родители детей от 0 до 18 лет включительно на амбулаторном приёме в двенадцати городских детских поликлиниках г. Иркутска ($n = 930$); родители детей, которые находились на лечении в педиатрическом стационаре Клиники ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ ($n = 104$); будущие мамы, посещающие женские консультации ($n = 339$); и пациентки городского перинатального центра III уровня ($n = 247$). Разработанная нами анкета включала 15 вопросов с выяснением степени информированности в необходимости вакцинации от инфекций согласно Национальному календарю профилактических прививок (НКПП), при-

верженности вакцинации по эпидемиологическим показаниям, в частности от клещевого энцефалита, а также личный профиль родителей (возраст, пол, образование, материальное положение).

2. Врачи различных специальностей ($n = 324$) в 19 медицинских учреждениях г. Иркутска. Респондентам была предложена анкета из 12 вопросов с выяснением степени информированности в необходимости иммунопрофилактики у пациентов, приверженности соблюдения вакцинации согласно НКПП и календаря по эпидемиологическим показаниям для себя и своих детей, а также выяснение демографических и профессиональных характеристик (специальность, место работы).

Статистический анализ результатов проводили с помощью программы Statistica 6.0, сравнение частот при наличии таблиц сопряжённости 2×2 в двух несвязанных выборках. Статистическая значимость межгрупповых различий по качественным признакам оценивалась с помощью критерия χ^2 с поправкой Йетса. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез о существовании различий показателей между группами принят равным 0,05. Коэффициент корреляции Спирмена с оценкой силы связи по шкале Чеддока рассчитан с применением программы Medstatistic (<https://medstatistic.ru/calculators.html>). Графическая обработка данных выполнена с помощью программы Excel (Windows 2010).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В многолетней динамике заболеваемости КЭ населения Иркутской области за 2010–2019 гг. отмечается тенденция к снижению, среднегодовой темп убыли составил 2,5 %. Показатели заболеваемости в Иркутской области значительно выше средних по Российской Федерации (рис. 1).

За анализируемый период в структуре заболевших доля городского населения составила $69,4 \pm 1,4$ %. В возрастной структуре заболевших преобладают взрос-

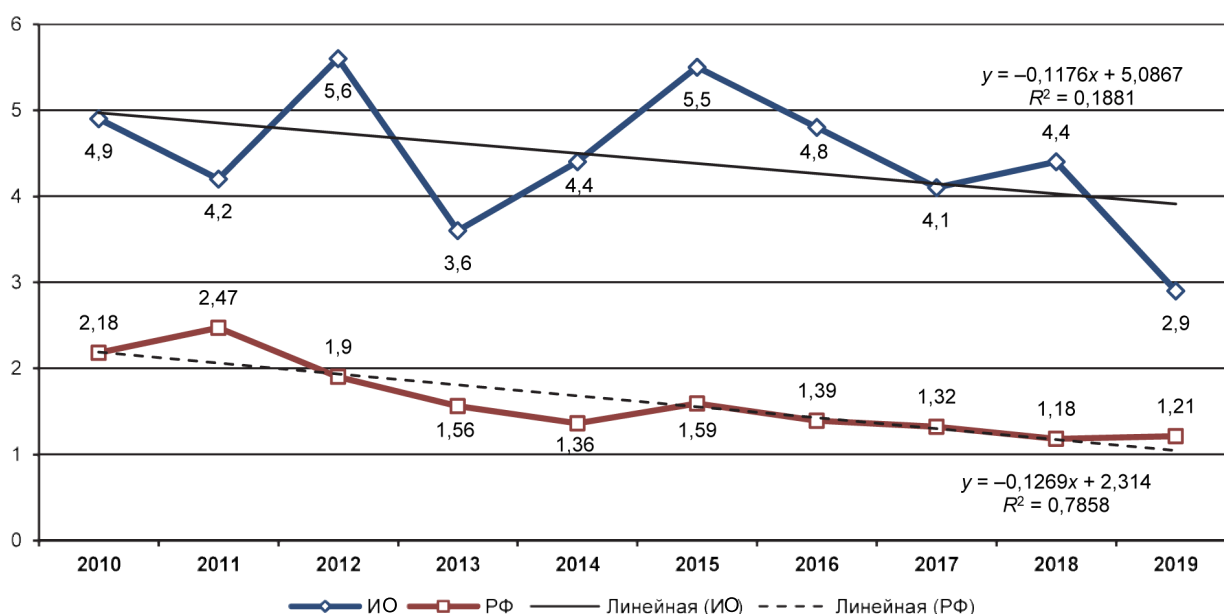


Рис. 1. Динамика заболеваемости КЭ в Иркутской области и в РФ (на 100 тыс. населения)

Fig. 1. Dynamics of the incidence of tick-borne encephalitis in the Irkutsk Region and in the Russian Federation (per 100 thousand population)

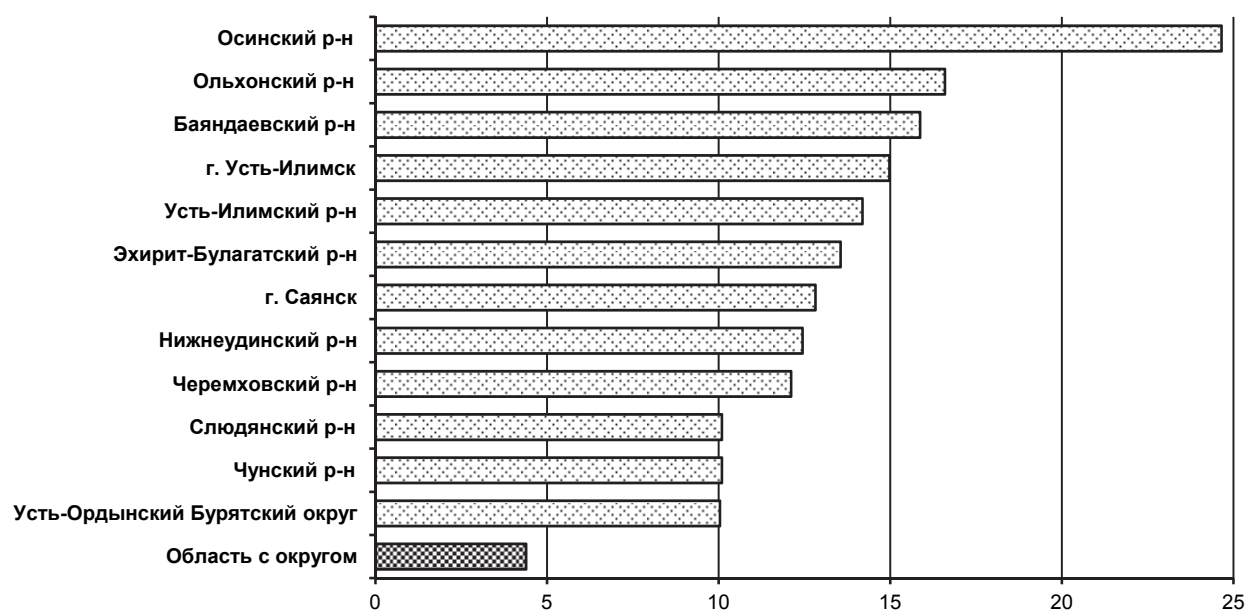


Рис. 2. Территориальное распределение показателей заболеваемости КЭ населения Иркутской области (на 100 тыс. населения, по среднемугодовым значениям 2015–2019 гг.)

Fig. 2. Territorial distribution of TBE incidence rates in the population of the Irkutsk region (per 100 thousand population, according to average annual values of 2015–2019)

лые – $82,4 \pm 1,2$ %, удельный вес детей до 17 лет составил $17,6 \pm 1,2$ %.

Анализ заболеваемости по административным территориям Иркутской области позволил выявить районы эпидемиологического неблагополучия, где заболеваемость выше среднеобластного уровня более чем в 2 раза (рис. 2).

За период наблюдения число вакцинированных в Иркутской области составило более 209 тыс. человек, число ревакцинированных – более 200 тыс. человек, что составило 8,6 и 8,3 % от совокупного населения соответственно. По годам отмечена статистически незначимая обратная корреляционная связь ($r = -0,771$, $p > 0,05$) между числом привитых лиц и заболеваемостью КЭ совокупного населения области в следующем году.

При анализе анкет для родителей выяснилось, что основной группой участников анкетирования явились женщины – 70,6 % (1145/1620), средняя возрастная группа – от 21–40 лет, 84,3 % (1367/1620). Родители с высшим образованием преобладали – 928/1620, что составляет 57,2 %, однако лица, имеющие среднее или средне-специальное образование, тоже занимают значимое положение – 479/1620 (29,5 %). В результате исследования выяснилось, что 98 % родителей (1590/1620) прививают своих детей согласно НКПП, включая и дополнительную вакцинацию, а 2 % опрошенных респондентов отказываются прививать своих детей. Вакцинацию против клещевого энцефалита имеют 11,3 % опрошенных родителей (180/1590). Среди них преобладают женщины 87,7 % (158/180). Высшее образование имеют 47,2 % респондентов (85/180), среднее и средне-специальное – 31,6 % (57/180) человек. Установлено, что лица, имеющие высшее образование, привержены вакцинации от клещевого энцефалита больше, чем лица, имеющие среднее и средне-специальное образование, что статистически значимо (χ^2 с поправкой Йетса – 8,53, $p = 0,0035$, $p < 0,05$).

Среднее материальное положение имеет 47,2 % (85/180) родителей, неудовлетворительное и ниже среднего – 6,6 % (12/180), выше среднего и высокое – 22,2 % (40/180). Установлено, что материальное положение семьи не влияет на приверженность вакцинации против КЭ (χ^2 с поправкой Йетса – 0,03, $p = 0,8728$, $p > 0,05$), что не имеет статистических различий.

При анализе анкет для врачей выяснилось, что 23,5 % (76/324) специалистов имеют прививку от клещевого энцефалита. Среди них 59 % педиатров (45/76), 5,3 % терапевтов (4/76), 11,8 % неонатологов (9/76), 9,2 % акушеров-гинекологов (7/76). Преобладают врачи поликлиник – 57,9 % (44/76), врачи стационара составляют 30,3 % (23/76), врачи женских консультаций – 5,3 % (4/76).

Отмечено, что 29,6 % врачей (96/324) прививают своих детей от этой инфекции.

Основной мерой профилактики вирусного клещевого энцефалита остаётся иммунизация населения. Для предупреждения заболевания в рамках календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям вакцинируют людей: проживающих на эндемичных по КЭ территориях; выезжающих на эндемичные по КЭ территории, работающих с живыми культурами возбудителя клещевого вирусного энцефалита [5]. Привитым считается лицо, получившее законченный курс вакцинации и одну или более ревакцинацию.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Жители эндемичных районов подвержены высокому риску заражения КЭ. Дети, кто своевременно вакцинирован от КЭ болеют в 5 раз реже по сравнению с непривитыми [11].

В Иркутской области, как на эндемичной для иксодовых клещей территории, целесообразно включить вакцинацию детей от КЭ в календарь профилактических прививок с 12-месячного возраста. Следует придержи-

ваться схемы: 12, 14 месяцев, первая ревакцинирующая прививка в 2 года, а отдалённые ревакцинации – в 5, 8, 11, 14 и 17 лет [11].

Плановая иммунизация детского населения от КЭ с годовалого возраста приведёт к снижению заболеваемости, уменьшению тяжести клинических проявлений и летальных исходов.

ВЫВОДЫ

1. Показатели заболеваемости КЭ в Иркутской области значительно выше средних по Российской Федерации, что составляет 2,9 на 100 тыс. населения. С 2010–2019 гг. отмечена статистически незначимая обратная корреляционная связь между числом привитых лиц и предполагаемой заболеваемостью КЭ в следующем году.

2. В целом отношение к вакцинации выглядит позитивно. Согласно Национальному календарю вакцинации и по календарю вакцинации по эпидемиологическим показаниям прививается большинство опрошенных родителей, что составляет 98 %. Прививают своих детей от клещевого энцефалита 11,3 % родителей. От КЭ самостоятельно прививается 23,3 % врачей различных специальностей, среди них преобладают педиатры, работники поликлиник. Почти каждый четвёртый врач (29,6 %) прививает своего ребёнка от КЭ.

3. На приверженность вакцинации против КЭ влияет образованность родителей, а материальное положение семьи не влияет. Отмечается недостаточный охват вакцинации против клещевого энцефалита, как среди населения, так и среди врачей г. Иркутска.

4. Необходима активная санитарно-просветительская работа с населением, внедрение новых методов совершенствования квалификации врачей по вопросам иммунизации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Брико Н.И., Онищенко Г.Г., Покровский В.И. *Руководство по эпидемиологии инфекционных болезней*. М.: Изд-во МИА; 2019.
2. Широкопуп С.П., Лукьяненко Н.В. Эпидемиологическая диагностика заболеваемости клещевым энцефалитом сельского населения регионов Сибирского федерального округа. *Бюллетень медицинской науки*. 2018; 4(12): 19–23.
3. *О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году: Государственный доклад*. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2019.
4. *О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Иркутской области в 2019 году: Государственный доклад*. Иркутск: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2020.
5. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 21 марта 2014 г. N 125н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям». М.; 2014.
6. Ильина С.В., Намазова-Баранова Л.С., Баранов А.А. *Вакцинация для всех: простые ответы на непростые вопросы*. М.: Педиатр; 2016.
7. Платонова Т.А., Колтунова Е.С., Голубкова А.А., Жилыева И.В., Абдулвалиева В.В. Практические вопросы вакцинации детей в условиях поликлиники (по материалам экспертной оценки привитости в индикаторных группах). *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2018; (3): 33–37. doi: 10.17238/PmJ1609-1175.2018.3.33-37
8. Smith LE, Amlôt R, Weinman J, Yiend J, Rubin GJ. A systematic review of factors affecting vaccine uptake in young children. *Vaccine*. 2017; 35(45): 6059–6069. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.09.046

9. Akunuri S, Dayal A. What do parents think? Knowledge and awareness about newer vaccines: A cross-sectional study in South Indian city. *Int J Contemp Pediatr*. 2016; 3(4): 1301–1306. doi: 10.18203/2349-3291.ijcp20163665

10. Pottinger HL, Jacobs ET, Haenchen SD, Ernst KC. Parental attitudes and perceptions associated with childhood vaccine exemptions in high-exemption schools. *PLOS ONE*. 2018; 13(6): e0198655. doi: 10.1371/journal.pone.0198655

11. Анкудинова А.В. *Тактика плановой иммунизации и профилактическая эффективность детских вакцин против клещевого вирусного энцефалита*: автореф. дис. ... канд. мед. наук. 2015.

12. Казанцева Е.Д., Казанцев А.Ю., Петрова А.Г., Кириллова Т.А. Структура и особенности клинической картины клещевых инфекций у детей Иркутской области. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(1): 26–30. doi: 10.29413/ABS.2019-4.1.4

13. Khasnatinov MA, Danchinova GA, Liapunov AV, Manzarova EL, Petrova IV, Liapunova (Bolotova) NA, et al. Prevalence of tick-borne pathogens in hard ticks that attacked human hosts in Eastern Siberia. *Int J Biomed*. 2017; 7(4): 307–309. doi: 10.21103/Article7(4)_OA7

14. Ваняркина А.С., Петрова А.Г., Покровская С.А., Бахмат Я.А., Векексер О.А. Современные представления врачей о вакцинопрофилактике: результаты анкетирования. *Журнал инфектологии*. 2019; 11(1 S1): 31–32.

REFERENCES

1. Briko NI, Onishchenko GG, Pokrovsky VI. *Infectious Disease Epidemiology Guide*. Moscow: MIA; 2019. (In Russ.)
2. Shirokostup SP, Lukyanenko NV. Epidemiological diagnostics of tick-borne encephalitis among the rural population of the Siberian federal district regions. *Bulletin of Medical Science*. 2018; 4(12): 19–23. (In Russ.)
3. *On the state of the sanitary-epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2018: State report*. Moscow: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being; 2019. (In Russ.)
4. *On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Irkutsk region in 2019: State report*. Irkutsk: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being; 2020. (In Russ.)
5. Ministry of Health of the Russian Federation. *Order of the Ministry of Health of the Russian Federation dated 21 March 2014 N 125n "On approval of the national calendar of preventive vaccinations and the calendar of preventive vaccinations according to epidemic indications"*. Moscow; 2014. (In Russ.)
6. Ilyina SV, Namazova-Baranova LS, Baranov AA. *Vaccination for all: simple answers to difficult questions*. Moscow: Pediatr; 2016. (In Russ.)
7. Platonova TA, Koltunova ES, Golubkova AA, Zhilyaeva IV, Abdulvalievai VV. Practical issues of vaccination of children in a polyclinic. *Pacific Medical Journal*. 2018 ;(3): 33–37. doi: 10.17238/PmJ1609-1175.2018.3.33-37. (In Russ.)
8. Smith LE, Amlôt R, Weinman J, Yiend J, Rubin GJ. A systematic review of factors affecting vaccine uptake in young children. *Vaccine*. 2017; 35(45): 6059–6069. doi: 10.1016/j.vaccine.2017.09.046
9. Akunuri S, Dayal A. What do parents think? Knowledge and awareness about newer vaccines: A cross-sectional study in South Indian city. *Int J Contemp Pediatr*. 2016; 3(4): 1301–1306. doi: 10.18203/2349-3291.ijcp20163665
10. Pottinger HL, Jacobs ET, Haenchen SD, Ernst KC. Parental attitudes and perceptions associated with childhood vaccine exemptions in high-exemption schools. *PLOS ONE*. 2018; 13(6): e0198655. doi: 10.1371/journal.pone.0198655
11. Ankudinova AV. *Tactics of routine immunization and prophylactic efficacy of childhood vaccines against tick-borne viral encephalitis*. Abstract of Dissertation of Cand. Sc. (Med.). 2015. (In Russ.)

12. Kazantseva ED, Kazantsev AY, Petrova AG, Kirillova TA. Structure and peculiarities of a clinical course of tick-borne infections in children of the Irkutsk Region. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(1): 26-30. doi: 10.29413/ABS.2019-4.1.4 (In Russ.)

13. Khasnatinov MA, Danchinova GA, Liapunov AV, Manzarova EL, Petrova IV, Liapunova (Bolotova) NA, et al. Prevalence

of tick-borne pathogens in hard ticks that attacked human hosts in Eastern Siberia. *Int J Biomed*. 2017; 7(4): 307-309. doi: 10.21103/Article7(4)_OA7

14. Vanyarkina AS, Petrova AG, Pokrovskaya SA, Bukhmat YaA, Vekesser OA. Current views of doctors about vaccine prevention: survey results. *Journal Infectology*. 2019; 11(1 S1): 31-32. (In Russ.)

Сведения об авторах

Казанцева Екатерина Дмитриевна – клинический ординатор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: kat.smile7@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0692-2295>

Петрова Алла Германовна – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: rudial75@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7965-8061>

Ваняркина Анастасия Сергеевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nasty-191@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8434-1600>

Баянова Татьяна Александровна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры эпидемиологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: t.bayanova@ismu.baikal.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4289-3460>

Новикова Евгения Анатольевна – младший научный сотрудник лаборатории инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: europe411@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9353-7928>

Information about the authors

Ekaterina D. Kazantseva – Clinical Resident, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: kat.smile7@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0692-2295>

Alla G. Petrova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: rudial75@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7965-8061>

Anastasiya S. Vanyarkina – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nasty-191@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8434-1600>

Tatiana A. Bayanova – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Epidemiology, Irkutsk State Medical University, e-mail: t.bayanova@ismu.baikal.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4289-3460>

Evgenia A. Novikova – Junior Research Officer at the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: europe411@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9353-7928>

Статья получена: 10.06.2020. Статья принята: 16.09.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 10.06.2020. Accepted: 16.09.2020. Published: 26.12.2020.

Формат 60×84/8. Бумага офсетная. Сдано в набор 08.12.2020. Подписано в печать 26.12.2020.
Печ. л. 34,5. Усл. печ. л. 33,73. Уч. изд. л. 31,8. Зак. 053-20. 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

