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

16+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

2021

Том 6 № 2

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

16+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Том 6 N2 2021

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

Авторы опубликованных материалов несут ответственность за подбор и точность приведённых 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 (РОСКОМНАДЗОР). Свидетельство о регистрации СМИ – ПИ № ФС 77-69383 от 06 апреля 2017 г.

До апреля 2017 г. журнал имел название «Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской Академии медицинских наук» (Бюллетень ВСНЦ СО РАМН). Основан в 1993 году.

Соучредители – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ) (664003, Иркутская обл., г. Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16), Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (ИНЦХТ) (664003, Иркутская обл., г. Иркутск, ул. Борцов Революции, д. 1), Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России) (127486, г. Москва, Бескудниковский б-р, д. 59А).

Журнал включён в Реферативный журнал и базу данных ВИНИТИ. Сведения о журнале публикуются в международной справочной системе по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals Directory». Журнал индексируется в таких базах данных, как РИНЦ, Scopus, DOAJ и др.

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 учёной степени кандидата и доктора наук».

Подписной индекс 24347. Свободная цена.

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

Ключевое название: Acta Biomedica Scientifica

© ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», 2021 г.
© Оригинал-макет РИО ИНЦХТ, 2021 г.

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

16+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

Vol. 6 N2 2021

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*); Dzyatkovsksaya 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 the presented facts, quotations, historical data and other information; the authors are also responsible for not presenting data which are not meant for open publication.

Authors and the Editorial Board's opinions may not coincide.

Address of publisher and editorial board: SC FHHRP. 16 Timiryazev str., Irkutsk, Russia, 664003
Tel. (3952) 20-90-48.
http://actabiomedica.ru E-mail: journalirk@gmail.com

Acta Biomedica Scientifica is registered in Federal Service of Supervision in communication sphere, information technologies and mass media (ROSKOMNADZOR). Certificate of Mass Media Registration – PI No FS 77-69383 from 06 April 2017.

Previous title changed after 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 Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (16 Timiryazev str., Irkutsk, Russia, 664003), Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (1 Bortsov Revolyutsii str., Irkutsk, Russia, 664003), S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution (59A Beskudnikovskiy blvd, Moscow, 127486).

Acta Biomedica Scientifica is in Abstract Journal and Data base of All-Russian Institute of Scientific and Technical Information. Information about our journal is published in Ulrich's Periodicals Directory. The journal is indexed in Russian Science Citation Index (Russian platform), Scopus, DOAJ, etc.

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».

Subscription index is 24347 in Russia. Open price.

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

Key title: Acta Biomedica Scientifica

© Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, 2021
© Compart performed by Publishing Department of ISCST, 2021

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

Клиническое значение маловодия у пациенток с преждевременным разрывом плодных оболочек при недоношенной беременности. *Чистякова О.М., Гуреева Л.В., Радьков О.В.* 9

БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ

Синдром обструктивного апноэ сна и особенности нейрофизиологического паттерна сна. *Ухинов Э.Б., Мадаева И.М., Бердина О.Н., Колесникова Л.И.* 16

БИОХИМИЯ

Метаболический синдром: влияние адипокинов на L-аргинин-NO-синтаза-NO сигнальный путь. *Кузнецова Л.А.* 22

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

Опыт применения комплексного антигенного препарата чумного микроба для оценки выраженности специфического противочумного ответа. *Дубровина В.И., Корытов К.М., Пятидесятникова А.Б., Киселева Н.О., Войткова В.В., Брюхова Д.Д., Николаев В.Б., Половинкина В.С., Салчак Л.К., Щучинов Л.В., Балахонов С.В.* 41

Ретроспектива международных серологических исследований по формированию и динамике гуморального иммунного ответа к SARS-CoV-2: от 2020 к 2021. *Новикова Е.А., Петрова А.Г., Москалева Е.В., Ваняркина А.С., Рычкова Л.В.* 47

Состояние показателей иммунного статуса у детей после перенесённой новой коронавирусной инфекции. *Москалева Е.В., Петрова А.Г., Рычкова Л.В., Новикова Е.А., Ваняркина А.С.* 58

КАРДИОЛОГИЯ

Антитромботическая терапия у пожилых пациентов с фибрилляцией предсердий: состояние проблемы в реальной клинической практике врача семейной медицины. *Канат кызы Базира, Киндербаева Н.К., Турдалиев С.О., Махмудова Ж.А., Кундашев У.К., Маматов С.М.* 63

Влияние нарушений метаболизма жирных кислот, гипоксии артериальной стенки и внутрибляшечных кровоизлияний на аккумуляцию липидов в сосудах с атеросклерозом. *Осипенко А.Н.* 70

Факторы риска тромботических осложнений и антитромботическая терапия кардиохирургических пациентов детского возраста. *Карахалис Н.Б., Карахалис М.Н.* 81

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ

Роль медиаторов воспаления в развитии эндотелиальной дисфункции сосудов пуповины при реактивации латентной цитомегаловирусной инфекции в третьем триместре беременности. *Дорофиенко Н.Н., Андриевская И.А., Ишутина Н.А.* 92

OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY

Clinical Significance of Oligohydramnios in Patients with Preterm Premature Rupture of Membranes. *Chistyakova O.M., Gureeva L.V., Radkov O.V.* 9

BIOLOGY AND MEDICAL BIOLOGY

Obstructive Sleep Apnea Syndrome and Features of the Neurophysiological Sleep Pattern. *Ukhinov E.B., Madaeva I.M., Berdina O.N., Kolesnikova L.I.* 16

BIOCHEMISTRY

Metabolic Syndrome: the Influence of Adipokines on the L-Arginine-NO syntHase-Nitric Oxide Signaling Pathway. *Kuznetsova L.A.* 22

INFECTIOUS DISEASES

Experience of Using a Complex Antigenic Preparation of the Plague Microbe to Assess the Severity of a Specific Anti-Plague Response. *Dubrovina V.I., Korytov K.M., Petyatestnikova A.B., Kiseleva N.O., Voitkova V.V., Bryukhova D.D., Nikolaev V.B., Polovinkina V.S., Salchak L.K., Shchuchinov L.V., Balakhonov S.V.* 41

Retrospective of International Serological Studies on the Formation and Dynamics of the Humoral Immune Response to SARS-CoV-2: from 2020 to 2021. *Novikova E.A., Petrova A.G., Moskaleva E.V., Vanyarkin**a** A.S., Rychkova L.V.* 47

Indicators of the Immune Status in Children after a New Coronavirus Infection. *Moskaleva E.V., Petrova A.G., Rychkova L.V., Novikova E.A., Vanyarkina A.S.* 58

CARDIOLOGY

Antithrombotic Therapy in Elderly Patients with Atrial Fibrillation: The State of the Problem in the Real Clinical Practice of a Family Medicine Doctor. *Kanat kyzy Bazira, Kinderbaeva N.K., Turdaliyev S.O., Mahmudova Zh.A., Kundashev U.K., Mamatov S.M.* 63

Influence of Disorders of Fatty Acid Metabolism, Arterial Wall Hypoxia, and Intraplaque Hemorrhages on Lipid Accumulation in Atherosclerotic Vessels. *Osipenko A.N.* 70

Risk Factors of Thrombotic Complications and Antithrombotic Therapy in Paediatric Cardiosurgical Patients. *Karakhalis N.B., Karakhalis M.N.* 81

MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

Role of Inflammatory Mediators in Endothelial Dysfunction of Umbilical Cord Vessels in Pregnant Women after Third-Trimester Nonprimary Cytomegaloviral Infection. *Dorofienko N.N., Andrievskaya I.A., Ishutina N.A.* 92

ОНКОЛОГИЯ

Перспективные диагностические маркёры рака толстой кишки. *Волков С.В., Лобанов С.Л.* 98

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ

Биомаркеры миопической хориоидальной неоваскуляризации у женщин, определяющие особенности клинического течения и ответ на анти-VEGF терапию. *Григорьева А.В., Юрьева Т.Н., Курсакова Ю.В., Иванова Е.И., Самсонов Д.Ю., Михалевич И.М.* 105

Основы диабетического катарактогенеза и перспективные пути его фармакологической коррекции. *Спасов А.А., Науменко Л.В., Говорова Ю.А.* 114

Роль биологически активных молекул влаги передней камеры глаза и слёзной жидкости в реализации гипотензивного эффекта непроникающей глубокой склерэктомии (НГСЭ). *Волкова Н.В., Малышева Ю.В., Юрьева Т.Н., Колесников С.И.* 126

ПЕДИАТРИЯ

Оптимизация диагностики гипоксического поражения головного мозга у доношенных новорождённых. *Панова М.С., Панченко А.С., Мудров В.А.* 133

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

Важность создания абилитационных программ для детей с фетальным алкогольным синдромом и фетально-алкогольным спектром нарушений. *Марянян А.Ю., Молчанова Е.В., Акудович Н.В., Калькова А.Н.* 142

Деятельность врачебной комиссии при диспансеризации спортсменов. *Власова И.А., Губин Д.Г.* 149

ТРАВМАТОЛОГИЯ

Анализ степени вовлечённости мышц нижних конечностей в патологический процесс у подростков с идиопатическим сколиозом. *Щурова Е.Н., Сайфутдинов М.С., Долганова Т.И., Ахмедова М.А., Горбач А.П.* 154

Клеточные технологии в регенерации сухожилий: от клетки до тканевой инженерии. *Дремина Н.Н., Трухан И.С., Шурыгина И.А.* 166

Оптимизация алгоритма выбора хирургического лечения передней рецидивирующей нестабильности плечевого сустава. *Чирков Н.Н., Николаев Н.С., Пашенцев Ю.А., Алексеева А.В., Яковлев В.Н.* 176

Экспериментальное моделирование комбинированного и последовательного применения чрескостного и интрамедуллярного блокируемого остеосинтеза. *Щепкина Е.А., Лебедков И.В., Нетылько Г.И., Соломин Л.Н., Трушников В.В., Вершинин Д.М.* 184

ХИРУРГИЯ

Значение цистоскопии в оценке интерстициального цистита/синдрома болезненного мочевого пузыря. *Шолан Р.Ф.* 198

ONCOLOGY

Promising Diagnostic Markers of Colon Cancer. *Volkov S.V., Lobanov S.L.* 98

OPHTALMOLOGY

Biomarkers of Myopic Choroidal Neovascularization in Women, Determining the Clinical Course and Response to Anti-VEGF Therapy. *Grigorieva A.V., Iureva T.N., Kursakova Ju.V., Ivanova E.I., Samsonov D.Yu., Mikhalevich I.M.* 105

Fundamentals of Diabetic Cataractogenesis and Promising Ways of its Pharmacological Correction. *Spassov A.A., Naumenko L.V., Govorova Yu.A.* 114

The Role of Biologically Active Aqueous Humor Molecules of the Anterior Chamber and Lacrimal Fluid in the Implementation of the Hypotensive Effect of Non-Penetrating Deep Sclerectomy. *Volkova N.V., Malysheva Ju.V., Iureva T.N., Kolesnikov S.I.* 126

PEDIATRICS

Optimization of Hypoxic Brain Injuries Diagnostics in Full-Term Newborns *Panova M.S., Panchenko A.S., Mudrov V.A.* 133

PREVENTIVE MEDICINE

The Importance of Creating Habilitation Programs for Children with Fetal Alcohol Syndrome and Fetal Alcohol Spectrum Disorders. *Marianian A.Yu., Molchanova E.V., Akudovich N.V., Kalkova A.N.* 142

Activities of the Medical Commission during the Prophylactic Medical Examination of Athletes. *Vlasova I.A., Gubin D.G.* 149

TRAUMATOLOGY

Analysis of the Degree of Involvement of the Lower Limb Muscles in the Pathological Process in Adolescents with Idiopathic Scoliosis. *Shchurova E.N., Saifutdinov M.S., Dolganova T.I., Akhmedova M.A., Gorbach A.P.* 154

Cellular Technologies in Traumatology: From Cells to Tissue Engineering. *Dremina N.N., Trukhan I.S., Shurygina I.A.* 166

Optimization of the Algorithm for Choosing the Surgical Treatment of Anterior Recurrent Instability of the Shoulder Joint. *Chirkov N.N., Nikolaev N.S., Pashentsev Y.A., Alekseeva A.V., Yakovlev V.N.* 176

Experimental Modeling of Combined and Sequential Use of Transosseous and Intramedullary Blocking Osteosynthesis. *Shchepkina E.A., Lebedkov I.V., Netylko G.I., Solomin L.N., Trushnikov V.V., Vershinin D.M.* 184

SURGERY

The Value of Cystoscopy in the Assessment of Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome. *Sholan R.F.* 198

ЭКОНОМИКА И МЕНЕДЖМЕНТ В ЗДРАВООХРАНЕНИИ

Маркетинг генетических исследований: пилотное исследование. *Баирова Т.А., Немчинова Н.В., Самбялова А.Ю.* 205

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

Эпидемиологический риск дирофиляриоза на территории Воронежской области. *Беспалова Н.С., Золотых Т.А.* 213

ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ И ЮБИЛЕИ

Всеволод Иванович Астафьев – человек, опередивший время. *Григорьев Е.Г., Оленькина Т.В.* 218

ECONOMICS AND MANAGEMENT IN PUBLIC HEALTH SERVICE

The Commercialization of Genetic Research: A Pilot Study. *Bairova T.A., Nemchinova N.V., Sambyalova A.Yu.* 205

EPIDEMIOLOGY

Epidemiological Risk of Dirofilariasis in the Voronezh Region. *Bespalova N.S., Zolotykh T.A.* 213

HISTORY OF MEDICINE AND ANNIVERSARIES

Vsevolod I. Astafyev – the Man ahead of Time. *Grigoryev E.G., Olenkina T.V.* 218

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ
OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.1

Клиническое значение маловодия у пациенток с преждевременным разрывом плодных оболочек при недоношенной беременности

Чистякова О.М., Гуреева Л.В., Радьков О.В.

ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России
(170100, г. Тверь, ул. Советская, 4, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Чистякова Ольга Михайловна, canyou@yandex.ru

Резюме

Обоснование. *Преждевременный разрыв плодных оболочек (ПРПО) при недоношенной беременности является одной из основных причин перинатальной заболеваемости и смертности. Маловодие у пациенток с досрочным ПРПО может быть связано с интраамниальным воспалительным синдромом и, вероятно, предрасполагает к увеличению частоты неблагоприятных перинатальных исходов при недоношенной беременности.*

Цель исследования. *Определить клиническое значение маловодия у пациенток с ПРПО при недоношенной беременности.*

Методы. *Проведён ретроспективный анализ двух групп пациенток с ПРПО при сроке беременности от 24+0 до 33+6 недель. В основную группу вошли 56 женщин с маловодием, группу контроля составили 111 респонденток без маловодия. При поступлении в стационар у пациенток исследовались: индекс амниотической жидкости, бактериологические свойства отделяемого цервикального канала, параметры лейкограммы с расчётом нейтрофил-лимфоцитарного соотношения (НЛС), уровни прокальцитонина и С-реактивного белка в плазме.*

Результаты. *Для пациенток с маловодием характерны статистически значимо более короткий латентный период, более высокая частота клинического хорионамнионита, антенатального дистресса плода, роста условно патогенной флоры в цервикальном канале, статистически значимо более высокие уровни С-реактивного белка, лейкоцитов, нейтрофилов, НЛС и более низкое количество лимфоцитов, чем в группе контроля. Пациентки с маловодием родоразрешались кесаревым сечением статистически значимо чаще, чем женщины группы контроля. Новорождённые в группе с маловодием чаще рождались с более низкой оценкой по шкале Апгар на 5-й минуте, отличались более высокой частотой респираторного дистресс-синдрома, врождённой пневмонии, некротизирующего энтероколита и необходимостью лечения в отделении реанимации и интенсивной терапии при сравнении с группой без маловодия.*

Заключение. *Маловодие у пациенток с ПРПО при недоношенной беременности ассоциируется со статистически значимым увеличением частоты акушерских осложнений и неблагоприятных перинатальных исходов.*

Ключевые слова: *маловодие, преждевременный разрыв плодных оболочек, внутриутробная инфекция, хорионамнионит*

Для цитирования: Чистякова О.М., Гуреева Л.В., Радьков О.В. Клиническое значение маловодия у пациенток с преждевременным разрывом плодных оболочек при недоношенной беременности. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 9-15. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.1.

Clinical Significance of Oligohydramnios in Patients with Preterm Premature Rupture of Membranes

Chistyakova O.M., Gureeva L.V., Radkov O.V.

Tver State Medical University (Sovetskaya str. 4, Tver 170100, Russian Federation)

Corresponding author: Olga M. Chistyakova, canyou@yandex.ru

Abstract

Background. *Preterm premature rupture of membranes (PPROM) is one of the main causes of perinatal morbidity and mortality. Associated oligohydramnios may further exacerbate the condition leading to intra-amniotic inflammation and adverse obstetric and perinatal outcomes in preterm labor.*

Aim of the research. *To determine an impact of oligohydramnios on patients with preterm premature rupture of membranes.*

Materials and methods. *We performed a retrospective analysis of two groups of patients with PPROM: 56 patients with oligohydramnios were included in the main group, 111 patients without oligohydramnios were included in the control group. The gestational age varied from 24+0 weeks to 33+6 weeks. Amniotic fluid index, endocervical culture, leukogram and neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), serum procalcitonin and C-reactive protein levels were assessed in all participants.*

Results*. We witnessed a plethora of consequences in the group of women with PPROM and oligohydramnios: shorter latent phase, higher incidence of clinical chorioamnionitis, antenatal fetal distress, higher levels of C-reactive protein, leukocytes, neutrophils and NLR, lower level of lymphocytes, and increased growth of potentially pathogenic cervical flora. Moreover, the patients with oligohydramnios demonstrated a significantly higher rate of cesarean delivery. The combination of PPROM and oligohydramnios also take a toll on the condition of the newborns: they have lower 5-minute Apgar score and higher prevalence of respiratory distress syndrome, congenital pneumonia, and necrotizing enterocolitis. Furthermore, newborns from the main group are more likely to be admitted to the neonatal intensive care unit, compared with newborns from the control group.*

Conclusion. *Oligohydramnios in PPROM is associated with a dramatic rise of numerous complications affecting both the women and the newborns.*

Key words: *oligohydramnios, preterm premature rupture of membranes, intrauterine infection, chorioamnionitis*

For citation: Chistyakova O.M., Gureeva L.V., Radkov O.V. Clinical Significance of Oligohydramnios in Patients with Preterm Premature Rupture of Membranes. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 9-15. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.1.

ВВЕДЕНИЕ

Преждевременный разрыв плодных оболочек (ПРПО) встречается в 3–4 % беременностей, но осложняет более трети преждевременных родов и является причиной непропорционально высокой частоты заболеваемости, включая преждевременную отслойку плаценты, выпадение пуповины, последствия недоношенности и инфекции (хориоамнионит, врожденная пневмония и неонатальный сепсис) [1, 2, 3]. До 30–60 % случаев досрочного ПРПО происходят на фоне микробной инвазией амниотической полости и гистологического хориоамнионита, которые связаны внутриамниотической воспалительной реакцией плода, ассоциирующейся с неблагоприятными исходами для новорожденных [4, 5]. Прогнозирование и раннее выявление осложнений со стороны матери и плода в латентном периоде после досрочного ПРПО имеют решающее значение для оптимального ведения пациенток в сроки от 24+0 до 36+6 недель гестации, когда рекомендована выжидательная тактика [1, 2, 6]. Помимо биохимических маркеров, ультразвуковое исследование может быть потенциальным неинвазивным инструментом для верификации признаков осложнений, ассоциированных с внутриамниальным воспалительным синдромом у пациенток при досрочном ПРПО [7, 8]. В этой связи верифицируемое маловодие среди 37–45 % недоношенных беременностей с ПРПО может являться значимым предиктором неблагоприятных акушерских и перинатальных исходов [9, 10], однако в настоящее время не разработана чёткая тактика ведения пациенток при данном гестационном осложнении. Остаётся открытым вопрос о влиянии маловодия при досрочном ПРПО на продолжительность латентного периода перед родами: так, в одном мета-анализе [4] описывается увеличение этого периода, тогда как в другом исследовании приводятся противоположные данные [6]. Кроме того, есть сведения об отсутствии связи между маловодием у пациенток с ПРПО в сроке недоношенной беременности и реализацией внутриутробной инфекции у новорождённых [11]. Учитывая актуальность научно-практической проблемы и её недостаточную разработанность, была сформулирована цель исследования.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определить клиническое значение маловодия у пациенток с преждевременный разрыв плодных оболочек при недоношенной беременности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведён ретроспективный анализ выборки из 167 пациенток с преждевременными родами, инициированными ПРПО, родоразрешённых в Областном клиническом перинатальном центре имени Е.М. Бакуниной (Тверская область) за период с 2016 по 2019 год. Диагностика ПРПО проведена на основании жалоб пациентки, результатов осмотра шейки матки в зеркалах с идентификацией подтекания околоплодных вод и данных экспресс-теста «AmniSure» (Qiagen, США), основанного на качественном определении плацентарного альфа-микроглобулина-1 в шеечно-влагалищном отделяемом. Пациентки с ПРПО разделены на две группы в зависимости от остаточного объёма околоплодных вод, определяемого по индексу амниотической жидкости (ИАЖ) на момент поступления в клинику с помощью номограммы E.F. Magann и T.R. Moore [12]. Анализ остаточного объёма околоплодных вод выполнен при использовании сонографической системы Voluson E8 Expert (GE Healthcare, США). В основную группу вошли 56 пациенток с ультразвуковыми признаками умеренного маловодия (ИАЖ менее 5 см); группу контроля составили 111 пациенток с нормальным значением ИАЖ. Критерии включения в группы: срок беременности от 24+0 до 33+6 недель; одноплодная беременность. Критерии исключения: выраженное маловодие (ИАЖ менее 3 см) при поступлении; многоплодная беременность; врождённые пороки развития плода; аутоиммунные и гематологические заболевания; сахарный диабет; беременность, наступившая с помощью вспомогательных репродуктивных технологий. При поступлении в клинику пациентки планировалась выжидательная тактика ведения. В латентном периоде проводились антибактериальная терапия, профилактика респираторного дистресс-синдрома новорождённого и токолитическая терапия при отсутствии противопоказаний, регламентированных критериями национальных и международных рекомендаций [1, 2]. Критериями прекращения выжидательной тактики явились: клинический хорионамнионит; осложнения беременности, требующие срочного родоразрешения; дистресс-плода, включая наличие мекония в околоплодных водах; выраженное маловодие; срок гестации ≥ 36+6 недель; регулярная родовая деятельность [2, 3]. Родоразрешение кесаревым сечением проводилось при наличии у пациенток абсолютных противопоказаний к естественным родам или в случае отсутствия условий для быстрого родоразрешения через естественные родовые пути при наличии показаний для прекращения выжидательной тактики.

При поступлении в клинику у пациенток проводилось взятие образцов крови для анализа лейкограммы на гематологическом анализаторе BC-3600 (Mindray, Китай), а также рассчитывалось нейтрофил-лимфоцитарное соотношение (НЛС). При поступлении исследованы

уровни в плазме крови С-реактивного белка на биохимическом анализаторе Selectra Junior (Vital Scientific B.V., Нидерланды) и прокальцитонина – с помощью тест-наборов «Прокальцитонин-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», Россия) на микропланшетном фотометре Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific Inc., Финляндия). Кроме этого, при поступлении у пациенток проводился забор образцов цервикального содержимого для проведения бактериологического анализа с выявлением аэробной и анаэробной флоры рутинным методом.

Исследования одобрены Этическим комитетом ФГБОУ ВО Тверской ГМУ Минздрава России (протокол № 4 от 15.03.2020). Работа выполнена в соответствии с Правилами надлежащей клинической практики в России и принципами Хельсинкской декларации.

Нормальность распределения фактических оценена критерием Колмогорова – Смирнова. Сравнение независимых выборок выполняли при помощи критерия χ^2 или точного критерия Фишера, а также с использованием *t*-критерия Стьюдента или *U*-критерия Манна – Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез составил < 0,05. Расчёты проведены в среде программ SPSS, версия 22.0 (IBM Corp., США) или WINPEPI, версия 11.65 (Abramson J.H., 2016).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В таблице 1 приведена клиническая характеристика беременных с ПРПО в сроки от 24+0 до 33+6 недель, различавшихся остаточным объёмом околоплодных при поступлении в клинику.

Результаты исследований лейкограммы указывают, что у пациенток с маловодием количество лейкоцитов ($p < 0,001$) и нейтрофилов ($p = 0,020$) в периферической крови, а также значения НЛС ($p = 0,022$) статистически значимо выше, а количество лимфоцитов – статистически значимо ниже ($p = 0,044$), чем у беременных группы контроля. Исследование уровня С-реактивного белка в плазме крови выявило статистически значимо более высокие его значения в основной группе при сравнении с данными пациенток группы контроля ($p = 0,002$). По концентрации прокальцитонина группы статистически значимо не различалась, однако частота детекции этого фактора острой фазы воспаления была статистически значимо выше у пациенток с маловодием группы, чем в группе контроля ($p = 0,023$).

По результатам бактериологического исследования образцов содержимого цервикального канала установлено, что у беременных с маловодием статистически значимо чаще выделялись *Candida albicans* (18 (32,1 %) против 10 (9,0 %) случаев; $p < 0,001$), *Corynebacterium striatum* (8 (14,2 %) против 2 (1,8 %) случаев; $p = 0,003$) и *Staphylococcus epidermidis* (7 (12,5 %) против 1 (0,9 %) случая; $p < 0,001$), а также отмечалась смешанная контаминация *Candida albicans* + *Staphylococcus epidermidis* (10 (17,8 %) против 4 (3,6 %) случаев; $p = 0,003$), чем у пациенток группы контроля. С другой стороны, состав микробиоты цервикального содержимого среди пациенток группы контроля характеризовался статистически значимо более высокой частотой выделения *Lactobacillus* spp. (26 (23,42 %) против 3 (5,35 %) случаев; $p = 0,002$) и отрицательных результатов посевов анализируемых образцов (68 (61,2 %) против 10 (17,8 %) случаев; $p < 0,001$), чем в группе с маловодием.

Среди пациенток с маловодием отмечался статистически значимо более короткой латентный период (p = 0,029), а количество респонденток с длительностью латентного периода 168–336 часов было статистически значимо меньше ($p = 0,015$), чем в группе контроля (табл. 2). Для пациенток в группе с маловодием латентный период после ПРПО статистически значимо реже завершался спонтанным началом родовой деятельности, чем в группе контроля ($p = 0,001$). С другой стороны,

Таблица 1

Клиническая характеристика пациенток при поступлении в клинику

Table 1

Clinical characteristics of patients at admission to the clinic

Показатели	Группа с маловодием (*n* = 56)	Группа контроля (*n* = 111)	*p*
Возраст (лет), *m* ± SD	31,0 ± 5,4	30,1 ± 5,1	0,266
Срок гестации при поступлении (недели), Me (Q1; Q3)	30,1 (24,0; 33,6)	31,3 (29,0; 33,6)	0,088
Индекс массы тела ≥ 30 кг/м², *n* (%)	5 (8,9 %)	8 (7,9 %)	0,454
Первородящие, *n* (%)	20 (35,7 %)	35 (31,5 %)	0,588
Преждевременные роды в анамнезе, *n* (%)	4 (7,1 %)	6 (5,4 %)	0,446
Послеоперационный рубец на матке, *n* (%)	9 (16,1 %)	20 (18,0 %)	0,755
Поперечное и косое положение плода, *n* (%)	2 (3,5 %)	4 (3,6 %)	0,657
Ягодичное и ножное предлежание плода, *n* (%)	7 (12,5 %)	6 (5,4 %)	0,107
Лейкоциты (10^9/л), Me (Q1; Q3)	15,05 (8,81; 21,35)	12,02 (9,03; 17,31)	< 0,001
Нейтрофилы (10^9/л), Me (Q1; Q3)	13,98 (7,82; 13,25)	7,95 (4,24; 17,60)	0,020
Лимфоциты (10^9/л), Me (Q1; Q3)	1,59 (0,97; 1,94)	2,24 (1,70; 3,05)	0,044
НЛС, Me (Q1; Q3)	8,22 (6,05; 15,32)	7,22 (4,08; 17,05)	0,022
С-реактивный белок (мг/л), Me (Q1; Q3)	8,03 (4,08; 18,25)	5,55 (3,77; 13,7)	0,002
Положительная детекция прокальцитонина, *n* (%)	45 (80,3 %)	70 (63,0 %)	0,023
Прокальцитонин (нг/мл), Me (Q1; Q3)	0,038 (0,001; 0,398)	0,030 (0,000; 0,254)	0,234

Примечание. *p* – уровень статистической значимости различий данных основной группы и группы контроля

в основной группе прекращение выжидательной тактики значимо чаще было связано с развитием клинического хориоамнионита (p = 0,031), антенатального дистресса плода (без учёта случаев нарушения состояния плода при других осложнениях латентного периода), верифицируемого на основании патологических вариантов кардиотокограмм и наличия мекония в околоплодных водах (p = 0,035), а также верификации выраженного маловодия (ИАЖ менее 3 см) в динамике наблюдения (p < 0,001), чем у женщин группы контроля. Нужно отметить, что диагностика выраженного маловодия в динамике наблюдения свидетельствовала о прогрессировании его исходной формы, и в 5 случаях оно сочеталось с признаками антенатального дистресса плода, а в 3 – с развитием клинического хориоамнионита.

Пациентки с маловодием статистически значимо чаще родоразрешились путём кесарева сечения (32 (57,1 %) против 44 (39,6 %) случаев; p = 0,033), чем женщины в группе контроля. Из таблицы 3 следует, что в основной группе показанием для абдоминального родоразрешения статистически значимо чаще при сравнении с данными группы контроля являлись клинический хориоамнионит (p = 0,026) и дистресс плода (p = 0,026). Нужно отметить, что, кроме антенатального дистресса плода, показанием к кесареву сечению было также интранатальное нарушение его состояния у одной пациентки с маловодием и у одной женщины группы контроля.

Для новорождённых основной группы были характерны статистически значимо более низкая оценка по шкале Апгар на 5-й минуте (p < 0,001), а также статистически значимо большее число наблюдений с оценкой по шкале Апгар < 7 баллов на 5-й минуте (p = 0,014), чем в группе контроля (табл. 4). Кроме того, у матерей с маловодием в латентном периоде после ПРПО статистически значимо чаще рождались дети, маловесные для гестационного срока (p = 0,007), с респираторным дистресс-синдромом (p = 0,045), а также с реализацией внутриутробной инфекции в виде врождённой пневмонии (p < 0,001) и некротизирующего энтероколита (p = 0,017), чем у пациенток из группы контроля.

Учитывая тяжесть состояния новорождённых, статистически значимо более высокая необходимость лечения

Таблица 2

Продолжительность латентного периода и причины прекращения выжидательной тактики

Table 2

Latency period duration and the reasons for the termination of expectant management

Показатели	Группа с маловодием (n = 56)	Группа контроля (n = 111)	p
Латентный период (часы), Me (Q1; Q3)	48,0 (14,3; 118,5)	100,1 (27,5; 333,0)	0,029
Латентный период < 48 часов, n (%)	28 (50,0 %)	51 (46,0 %)	0,621
Латентный период 48–168 часов, n (%)	18 (32,1 %)	27 (24,3 %)	0,284
Латентный период 168–336 часов, n (%)	1 (1,7 %)	14 (12,6 %)	0,015
Латентный период более 336 часов, n (%)	9 (16 %)	19 (17,1 %)	0,865
Спонтанное начало родовой деятельности, n (%)	32 (57,1 %)	90 (81,1 %)	0,001
Клинический хорионамнионит, n (%)	11 (19,6 %)	9 (8,1 %)	0,031
Преждевременная отслойка плаценты, n (%)	3 (5,3 %)	2 (1,8 %)	0,210
Антенатальный дистресс плода, n (%)	7 (12,5 %)	4 (3,6 %)	0,035
Выпадение петель пуповины, n (%)	3 (5,3 %)	2 (1,8 %)	0,210
Срок гестации ≥ 36+6 недель, n (%)	0	4 (3,6 %)	0,192
Выраженное маловодие в динамике наблюдения, n (%)	8 (14,3 %)	0	< 0,001
Срок родоразрешения (недели), Me (Q1; Q3)	32,6 (24,4; 34,0)	33,1 (29,2; 34,1)	0,252

Примечание. p – уровень статистической значимости различий данных основной группы и группы контроля

Таблица 3

Показания к кесареву сечению у пациенток в исследуемых группах

Table 3

Indications for caesarean section in patients of studied groups

Показатели	Группа с маловодием (n = 56)	Группа контроля (n = 111)	p
Клинический хорионамнионит, n (%)	8 (14,3 %)	5 (4,5 %)	0,026
Показания, ассоциированные с послеоперационным рубцом матки, n (%)	5 (8,9 %)	16 (14,4 %)	0,314
Преждевременная отслойка плаценты, n (%)	3 (5,3 %)	2 (1,8 %)	0,210
Антенатальный и интранатальный дистресс плода, n (%)	8 (14,3 %)	5 (4,5 %)	0,026
Выпадение петель пуповины n (%)	2 (3,5 %)	1 (0,9 %)	0,261
Ягодичное и ножное предлежание плода, n (%)	3 (5,3 %)	5 (4,5 %)	0,539
Поперечное и косое положение плода, n (%)	2 (3,4 %)	4 (3,6 %)	0,657
Соматические заболевания матери, n (%)	1 (1,8 %)	6 (5,4 %)	0,254

Примечание. p – уровень статистической значимости различий данных основной группы и группы контроля

Таблица 4

Клинические характеристики новорождённых в исследуемых группах

Table 4

Clinical characteristics of newborns in the studied groups

Показатели	Группа с маловодием (*n* = 56)	Группа контроля (*n* = 111)	*p*
Масса при рождении (г), Me (Q1; Q3)	1203,0 (854,0; 2346,0)	1330,0 (823,0; 2440,0)	0,370
Оценка по шкале Апгар на 1-й минуте (баллы), Me (Q1; Q3)	5,0 (3,3; 7,0)	5,0 (4,0; 8,0)	0,070
Оценка по шкале Апгар на 5-й минуте, (баллы), Me (Q1; Q3)	6,0 (4,3; 7,0)	7,0 (6,0; 8,0)	< 0,001
Оценка по шкале Апгар на 1-й минуте < 7 баллов, *n* (%)	20 (35,7 %)	32 (28,8 %)	0,366
Оценка по шкале Апгар на 5-й минуте < 7 баллов, *n* (%)	15 (26,8 %)	13 (11,7 %)	0,014
Маловесный для гестационного срока плод, *n* (%)	9 (16,0 %)	4 (3,6 %)	0,007
Респираторный дистресс-синдром, *n* (%)	52 (92,8 %)	90 (81,0 %)	0,045
Врождённая пневмония, *n* (%)	40 (71,4 %)	44 (43,2 %)	< 0,001
Некротизирующий энтероколит, *n* (%)	5 (8,9 %)	1 (0,9 %)	0,017
Неонатальный сепсис, *n* (%)	3 (5,4 %)	1 (0,9 %)	0,110
Лечение в ОРИТ новорождённых, *n* (%)	52 (92,8 %)	87 (78,3 %)	0,018

Примечание. *p* – уровень статистической значимости различий данных основной группы и группы контроля

в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) отмечалась в группе пациенток с маловодием ($p = 0,018$), чем в группе контроля.

В основной группе отмечены 4 (7,1 %) случая перинатальной смерти, из которых 1 зафиксирован антенатально и 3 – в раннем неонатальном периоде; в группе контроля 2 (1,8%) новорождённых умерли также в раннем неонатальном периоде. Ведущая причина смерти во всех случаях – реализация внутриутробной инфекции в сочетании с недоношенностью и дыхательными расстройствами в раннем неонатальном периоде. Количество перинатальных потерь в основной группе было выше, чем в группе контроля, однако статистической значимости различий по этому признаку между группами достигнуто не было ($p = 0,098$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В работе приведены новые данные о клиническом значении маловодия у пациенток с ПРПО при недоношенной беременности. Так, при поступлении в клинику у беременных наблюдались особенности параметров лейкограммы и белков острой фазы воспаления, ассоциированные с остаточным объёмом околоплодных вод. Можно полагать, что выявленные показатели циркулирующих факторов воспаления у пациенток с маловодием являются маркерами процессов, в значительной мере определяющих характер течения латентного периода при ПРПО и исходы гестации для этих женщин. Другими исследователями также указано, что снижение количества лимфоцитов при повышении уровня С-реактивного белка, интерлейкина-6 и НЛС является предиктором клинико-морфологической реализации воспалительного синдрома в системе «мать – плацента – плод» у пациенток с маловодием при досрочном ПРПО [7, 13, 14], а механизм снижения уровня лимфоцитов заключается в активации их апоптоза и иммуносупрессии провоспалительными цитокинами [6, 11]. Согласно нашим данным, маловодие после ПРПО связано с развитием клинического хориоамнионита. Прямая связь между ПРПО с олигогидрамнионом и хориоамнионитом была продемонстрирована и другими авторами [4, 6, 15], которые предлагают выделять пациенток с маловодием в группу высокого риска по реализации внутриутробной инфекции. Однако имеются данные других исследователей, которые не обнаружили взаимосвязь между маловодием при досрочном ПРПО и хориоамнионитом, хотя последний, согласно их мнению, все-таки ассоциирован с неблагоприятными перинатальными исходами [8, 10, 16]. Для пациенток с маловодием был характерен более короткий латентный период. В этой части большинство работ приводят аналогичные нашим данные [6, 7, 8, 10], хотя имеется и противоположное мнение [9, 17]. Вероятно, укорочение латентного периода в основной группе связано с более ранним началом спонтанной родовой деятельности на фоне субклинической и клинически выраженной внутриамниотической инфекции, а также с более частой необходимостью прекращения выжидательной тактики среди пациенток с маловодием. Обращает на себя внимание статистически значимо более высокая частота родоразрешения путём кесарева сечения у пациенток в основной группе. Относительно этого факта в литературе существует наибольшее количество разногласий. Одни авторы [8, 9, 17] пришли к аналогичному нашему заключению, другие [4, 7, 10] указывают на отсутствие связи между олигогидрамнионом при ПРПО и частотой оперативных родов, но есть и данные о том, что, напротив, пациентки с ПРПО и маловодием родоразрешаются абдоминальным путём реже, чем женщины с нормальным ИАЖ [16]. Нужно отметить, что данные о более высокой частоте кесарева сечения приводят авторы, применявшие как выжидательную тактику [8, 17], так и активное ведение пациенток с маловодием при досрочном ПРПО [9].

Новорождённые в основной группе характеризовались более низкой оценкой по шкале Апгар на 5-й минуте и более высокой частотой маловесных детей. Аналогичную тенденцию прослеживают и другие авторы, но отмечают более низкую оценку по шкале Апгар на 1-й минуте, а гипотрофию новорождённых – только при прогрессировании маловодии [6, 15, 17]. Олигогидрамнион

увеличивал частоту реализации внутриутробной инфекции, но это не касается случаев неонатального сепсиса, что согласуется с данными актуального метаанализа по этой проблеме [4]. Однако в других работах, включая последнюю редакцию руководства по ведению пациенток с досрочным ПРПО [1, 15, 17], указано на значимое увеличение риска неонатального сепсиса при верификации маловодия. Объём околоплодных вод играет важную роль в развитии лёгких плода, а маловодие при досрочном ПРПО, по нашим данным, статистически значимо увеличивает частоту респираторного дистресс-синдрома новорождённых, на что указываю и другие авторы [1, 3, 16]. Однако существует и противоположное мнение о том, что маловодие при ПРПО не связано с увеличением частоты дыхательных расстройств недоношенных новорождённых [8, 9, 17]. С маловодием при ПРПО связывают более высокие показатели перинатальной смертности у новорождённых, родившихся до срока [4, 8, 15], хотя не все авторы это подтверждают [6]. Однако в нашей работе статистически значимых различий между группами по этому признаку не установлено, и можно говорить лишь о тенденции, прослеживаемой относительно влияния олигогидрамниона на частоту перинатальных потерь.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, маловодие при недоношенной беременности, осложнённой ПРПО, ассоциировано с инфекционно-воспалительными процессами в системе «мать – плацента – плод», маркерами которых явились особенности лейкограммы, уровень белков острой фазы воспаления и характер цервикального биотопа, выявленные у пациенток при поступлении в стационар. Клиническое значение маловодия при досрочном ПРПО заключается в уменьшении латентного периода перед родами, увеличении частоты клинического хориоамнионита и антенатального дистресса плода, а также кесарева сечения. Недоношенные новорождённые у матерей с маловодием при ПРПО характеризуются более низкой оценкой по шкале Апгар на 5-й минуте, а также статистически значимо более высокой частой заболеваний в раннем неонатальном периоде. Установленные обстоятельства являются основанием для поиска новых подходов к ведению и родоразрешению пациенток с маловодием и ПРПО при недоношенной беременности для улучшения акушерских и перинатальных показателей у этой категории пациенток.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Thomson AJ. Care of women presenting with suspected preterm prelabour rupture of membranes from 24+0 weeks of gestation: Green-top guideline № 73. *BJOG*. 2019; 126(9): 152-166. doi: 10.1111/1471-0528.15803

2. *Преждевременные роды. Клинические рекомендации*. М.; 2020. URL: http://cr.rosminzdrav.ru/schema/331_1 [Дата обращения: 17.03.2021].

3. Баев О.Р., Васильченко О.Н., Кан Н.Е., Клименченко Н.И., Митрохин С.Д., Тетруашвили Н.К., и др. Преждевременный разрыв плодных оболочек. Преждевременное излитие вод. *Акушерство и гинекология*. 2013; 9: 123-134.

4. Pergialiotis V, Bellos I, Fanaki M, Antsaklis A, Loutradis D, Daskalakis G. The impact of residual oligohydramnios following preterm premature rupture of membranes on adverse pregnancy outcomes: a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol*. 2020; 222(6): 628-630. doi: 10.1016/j.ajog.2020.02.022

5. Wagner P, Sonek J, Mayr S, Abele H, Goelz R, Hoopmann M., et al. Outcome of pregnancies with spontaneous PPROM before 24+0 weeks' gestation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2016; 203:121-126. doi: 10.1016/j.ejogrb.2016.05.018

6. Ekin A, Gezer C, Taner CE, Ozeren M, Uyar I, Gulhan I. Risk factors and perinatal outcomes associated with latency in preterm premature rupture of membranes between 24 and 34 weeks of gestation. *Arch Gynecol Obstet*. 2014; 290(3): 449-455. doi: 10.1007/s00404-014-3227-3

7. Günay T, Erdem G, Bilir RA, Hocaoglu M, Ozdamar O, Turgut A. The association of the amniotic fluid index (AFI) with perinatal fetal and maternal outcomes in pregnancies complicated by preterm premature rupture of membranes. *Ginekol Pol*. 2020; 91(8): 465-472. doi: 10.5603/GP.2020.0069

8. Tavassoli F, Ghasemi M, Mohamadzade A, Sharifian J. Survey of pregnancy outcome in preterm premature rupture of membranes with amniotic fluid index < 5 and ≥ 5. *Oman Med J*. 2010; 25(2): 118-123. doi: 10.5001/omj.2010.32

9. Kacerovsky M, Musilova I, Andrys C, Drahosova M, Hornychova H, Rezac A, et al. Oligohydramnios in women with preterm prelabor rupture of membranes and adverse pregnancy and neonatal outcomes. *PLoS One*. 2014; 9(8): e105882. doi: 10.1371/journal.pone.0105882

10. Lee JY, Ahn TG, Jun JK. Short-term and long-term postnatal outcomes of expectant management after previable preterm premature rupture of membranes with and without persistent oligohydramnios. *Obstet Gynecol*. 2015; 126(5): 947-953. doi: 10.1097/AOG.0000000000001099

11. Cho HY, Jung I, Kwon JY, Kim SJ, Park YW, Kim YH. The delta neutrophil index as a predictive marker of histological chorioamnionitis in patients with preterm premature rupture of membranes: A retrospective study. *PLoS One*. 2017; 12(3): e0173382 doi: 10.1371/journal.pone.0173382

12. Мудров В.А., Мочалова М.Н., Мудров А.А. Особенности определения объема околоплодных вод на современном этапе. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2018; 67(5): 74-84. doi: 10.17816/JOWD67574-84

13. Lee SM, Park KH, Jung EY, Kook SY, Park H, Jeon SJ. Inflammatory proteins in maternal plasma, cervicovaginal and amniotic fluids as predictors of intra-amniotic infection in preterm premature rupture of membranes. *PLoS One*. 2018; 13(7): e0200311 doi: 10.1371/journal.pone.0200311

14. Чистякова О.М., Гребенщикова Л.Ю., Гуреева Л.В., Радьков О.В. Прогнозирование реализации внутриутробной инфекции при досрочном преждевременном разрыве плодных оболочек. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2020; 20(6): 71-75 doi: 10.17116/rosakush20202006171

15. Souza AS, Patriota AF, Guerra GV, Melo BC. Evaluation of perinatal outcomes in pregnant women with preterm premature rupture of membranes. *Rev Assoc Med Bras (1992)*. 2016; 62(3): 269-275. doi: 10.1590/1806-9282.62.03.269

16. Weiner E, Barrett J, Zaltz A, Ram M, Aviram A, Kibel M, et al. Amniotic fluid volume at presentation with early preterm prelabor rupture of membranes and association with severe neonatal respiratory morbidity. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2019; 54(6): 767-773. doi: 10.1002/uog.20257

17. Mousavi AS, Hashemi N, Kashanian M, Sheikhansari N, Bordbar A, Parashi S. Comparison between maternal and neonatal outcome of PPROM in the cases of amniotic fluid index (AFI) of more and less than 5 cm. *J Obstet Gynaecol*. 2018; 38(5): 611-615. doi: 10.1080/01443615.2017.1394280

REFERENCES

1. Thomson AJ. Care of women presenting with suspected preterm prelabour rupture of membranes from 24+0 weeks of gestation: Green-top guideline № 73. *BJOG*. 2019; 126(9): 152-166. doi: 10.1111/1471-0528.15803

2. *Preterm labour. Clinical guidelines.* Moscow; 2020. URL: http://cr.rosminzdrav.ru/schema/331_1. [Accessed: 17th March 2021]. (In Russ.)

3. Baev OR, Vasilchenko ON, Kan NE, Klimenchenko NI, Mitrohin SD, Tetruashvili NK, et al. Clinical guidelines for preterm amniorrhea. *Obstetrics and gynecology*. 2013; 9: 123-134. (In Russ.)

4. Pergialiotis V, Bellos I, Fanaki M, Antsaklis A, Loutradis D, Daskalakis G. The impact of residual oligohydramnios following preterm premature rupture of membranes on adverse pregnancy outcomes: a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2020; 222(6): 628-630. doi: 10.1016/j.ajog.2020.02.022

5. Wagner P, Sonek J, Mayr S, Abele H, Goelz R, Hoopmann M., et al. Outcome of pregnancies with spontaneous PPROM before 24+0 weeks' gestation. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016; 203:121-126. doi: 10.1016/j.ejogrb.2016.05.018

6. Ekin A, Gezer C, Taner CE, Ozeren M, Uyar I, Gulhan I. Risk factors and perinatal outcomes associated with latency in preterm premature rupture of membranes between 24 and 34 weeks of gestation. *Arch Gynecol Obstet.* 2014; 290(3): 449-455. doi: 10.1007/s00404-014-3227-3

7. Günay T, Erdem G, Bilir RA, Hocaoglu M, Ozdamar O, Turgut A. The association of the amniotic fluid index (AFI) with perinatal fetal and maternal outcomes in pregnancies complicated by preterm premature rupture of membranes. *Ginekol Pol.* 2020; 91(8): 465-472. doi: 10.5603/GP.2020.0069

8. Tavassoli F, Ghasemi M, Mohamadzade A, Sharifian J. Survey of pregnancy outcome in preterm premature rupture of membranes with amniotic fluid index < 5 and ≥ 5. *Oman Med J.* 2010; 25(2): 118-123. doi: 10.5001/omj.2010.32

9. Kacerovsky M, Musilova I, Andrys C, Drahosova M, Hornychova H, Rezac A, et al. Oligohydramnios in women with preterm prelabor rupture of membranes and adverse pregnancy and neonatal outcomes. *PLoS One*. 2014; 9(8): e105882. doi: 10.1371/journal.pone.0105882

10. Lee JY, Ahn TG, Jun JK. Short-term and long-term postnatal outcomes of expectant management after previable preterm premature rupture of membranes with and without persistent oligohydramnios. *Obstet Gynecol*. 2015; 126(5): 947-953. doi: 10.1097/AOG.0000000000001099

11. Cho HY, Jung I, Kwon JY, Kim SJ, Park YW, Kim YH. The delta neutrophil index as a predictive marker of histological chorioamnionitis in patients with preterm premature rupture of membranes: A retrospective study. *PLoS One*. 2017; 12(3): e0173382 doi: 10.1371/journal.pone.0173382

12. Mudrov VA, Mochalova MN, Mudrov AA. Features of determining the volume of amniotic fluid at the present stage. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2018; 67(5): 74-84. (In Russ.). doi: 10.17816/JOWD67574-84

13. Lee SM, Park KH, Jung EY, Kook SY, Park H, Jeon SJ. Inflammatory proteins in maternal plasma, cervicovaginal and amniotic fluids as predictors of intra-amniotic infection in preterm premature rupture of membranes. *PLoS One.* 2018; 13(7): e0200311 doi: 10.1371/journal.pone.0200311

14. Chistyakova OM, Grebenshchikova LYu, Gureeva LV, Radkov OV. Predicting the intrauterine infection in case of early premature rupture of the membranes. *Russian Bulletin of Obstetrician-Gynecologist*. 2020; 20(6): 71-75. (In Russ.). doi: 10.17116/rosakush20202006171

15. Souza AS, Patriota AF, Guerra GV, Melo BC. Evaluation of perinatal outcomes in pregnant women with preterm premature rupture of membranes. *Rev Assoc Med Bras (1992)*. 2016; 62(3): 269-275. doi: 10.1590/1806-9282.62.03.269

16. Weiner E, Barrett J, Zaltz A, Ram M, Aviram A, Kibel M, et al. Amniotic fluid volume at presentation with early preterm prelabor rupture of membranes and association with severe neonatal respiratory morbidity. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2019; 54(6): 767-773. doi: 10.1002/uog.20257

17. Mousavi AS, Hashemi N, Kashanian M, Sheikhansari N, Bordbar A, Parashi S. Comparison between maternal and neonatal outcome of PPROM in the cases of amniotic fluid index (AFI) of more and less than 5 cm. *J Obstet Gynaecol*. 2018; 38(5): 611-615. doi: 10.1080/01443615.2017.1394280

Сведения об авторах

Чистякова Ольга Михайловна – аспирант кафедры акушерства и гинекологии, ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: canyou@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0002-0535-3396

Гуреева Лариса Викторовна – аспирант кафедры акушерства и гинекологии, ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: lara_ego@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-8183-8803

Радьков Олег Валентинович – доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии, ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: unag@mail.ru, http://orcid.org/0000-0003-4398-3222

Information about the authors

Olga M. Chistyakova – Postgraduate at the Department of Obstetrics and Gynecology, Tver State Medical University, e-mail: canyou@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0002-0535-3396

Larisa V. Gureeva – Postgraduate at the Department of Obstetrics and Gynecology, Tver State Medical University, e-mail: lara_ego@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-8183-8803

Oleg V. Radkov – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Obstetrics and Gynecology, Tver State Medical University, e-mail: unag@mail.ru, http://orcid.org/0000-0003-4398-3222

Статья поступила: 03.02.2021. Статья принята: 23.04.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 03.02.2021. Accepted: 23.04.2021. Published: 15.06.2021.

БИОЛОГИЯ И МЕДИЦИНСКАЯ БИОЛОГИЯ
BIOLOGY AND MEDICAL BIOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.2

Синдром обструктивного апноэ сна и особенности нейрофизиологического паттерна сна

Ухинов Э.Б., Мадаева И.М., Бердина О.Н., Колесникова Л.И.

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

Автор, ответственный за переписку: Ухинов Эрдэм Баяндалаевич, e-mail: erdic@rambler.ru

Резюме

Высокая распространённость синдрома обструктивного апноэ сна (СОАС) обуславливает неуклонный интерес к данной патологии. В последние годы одной из актуальных проблем в современной сомнологии является оценка основных механизмов нейрональной дисфункции в дневное и ночное время при СОАС, представления о которой в значительной степени остаются противоречивыми и до конца не выясненными. Одним из современных методов оценки нейрональной дисфункции во время сна является исследование микроструктуры сна, и для её оценки используется метод анализа циклического альтернирующего паттерна (ЦАП) – ЭЭГ-маркера нестабильного сна. Циклический альтернирующий паттерн обнаруживается во сне как взрослых, так и детей при различных нарушениях сна и, в частности, при СОАС, поэтому представляет собой чувствительный инструмент для исследования нарушений сна на протяжении всей жизни. По мере устранения ночной гипоксии на фоне СИПАП-терапии восстанавливается микроструктура сна, изменяются спектральные характеристики ЭЭГ, а уменьшение количества эраузалов после лечения приводит к восстановлению дневного функционирования. Понимание роли кратковременных ЭЭГ-активаций головного мозга в процессе сна может представить значимые данные о функциях сна в норме и при патологии. Несмотря на улучшающуюся диагностику нарушений сна с помощью машинных алгоритмов, оценки взаимосвязи структур и функций головного мозга во сне, данные нейрофизиологических исследований остаются не вполне ясными, что требует продолжения исследований. В данном обзоре мы попытались проанализировать результаты основных исследований нейрофизиологического паттерна сна при СОАС.

Ключевые слова: *синдром апноэ сна, микроструктура сна, циклические альтернации, СИПАП-терапия*

Для цитирования: Ухинов Э.Б., Мадаева И.М., Бердина О.Н., Колесникова Л.И. Синдром обструктивного апноэ сна и особенности нейрофизиологического паттерна сна. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 16-21. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.2.

Obstructive Sleep Apnea Syndrome and Features of the Neurophysiological Sleep Pattern

Ukhinov E.B., Madaeva I.M., Berdina O.N., Kolesnikova L.I.

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

Corresponding author: Erdem B. Ukhinov, e-mail: erdic@rambler.ru

Abstract

The high prevalence of obstructive sleep apnea syndrome (OSA) causes a steady interest in this pathology. In recent years, one of the urgent problems in modern somnology is the assessment of the main mechanisms of neuronal dysfunction during the day and at night in OSA, the ideas about which, to a large extent, remain contradictory and not fully understood. One of the modern methods for assessing neuronal dysfunction during sleep is the study of the sleep microstructure, and for its assessment, the method of analysis of cyclic alternating pattern (CAP), an EEG marker of unstable sleep, is used. The cyclic alternating pattern is found both in the sleep of adults and children with various sleep disorders and, in particular, with OSAS, therefore, it is a sensitive tool for studying sleep disorders throughout life. With the elimination of night hypoxia against the background of CPAP therapy, the sleep microstructure is restored, the spectral characteristics of the EEG change, and a decrease in the number of EEG arousals after treatment leads to the restoration of daytime functioning. Understanding the role of short-term EEG activations of the brain during sleep can provide significant data on sleep functions in health and disease. Despite the improving diagnosis of sleep disorders using machine algorithms, assessing the relationship of structures and functions of the brain during sleep, neurophysiological data are not entirely clear, which requires further research. In this review, we tried to analyze the results of the main studies of the neurophysiological sleep pattern in OSA against the background of respiratory support during sleep.

Key words*: sleep apnea syndrome, sleep microstructure, cyclic alternations, CPAP therapy*

For citation: Ukhinov E.B., Madaeva I.M., Berdina O.N., Kolesnikova L.I. Obstructive Sleep Apnea Syndrome and Features of the Neurophysiological Sleep Pattern. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 16-21. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.2.

ВВЕДЕНИЕ

Синдром обструктивного апноэ во сне (СОАС) является наиболее распространённым нарушением дыхания, связанным со сном, и характеризуется храпом, повторяющимися эпизодами апноэ и активациями головного мозга во время различных фаз и стадий сна. Это приводит к серьёзной фрагментации сна и периодической ночной гипоксемии, что клинически проявляется чрезмерной дневной сонливостью, увеличивает частоту сахарного диабета, артериальной гипертонии, застойной сердечной недостаточности, инсульта и сердечно-сосудистых заболеваний [1, 2, 3, 4].

Согласно данным последних широкомасштабных эпидемиологических исследований, около 1 млрд человек в возрастной группе от 30 до 69 лет страдают СОАС, а количество людей со средней и тяжёлой формами СОАС, нуждающихся в лечении, составляет 425 млн [5]. Таким образом, широкая распространённость данного расстройства в общей популяции определяет неуклонный интерес к исследованиям различных аспектов и механизмов данного нарушения сна. В последние годы одной из актуальных проблем в современной сомнологии является оценка основных механизмов нейрональной дисфункции в дневное и ночное время при СОАС, представления о которой в значительной степени остаются противоречивыми и до конца не выясненными.

В данном обзоре мы попытались проанализировать результаты основных исследований нейрофизиологического паттерна сна при СОАС.

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ НЕЙРОНАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ И ЭЭГ-ПАТТЕРНА СНА

Самая ранняя систематическая характеристика электроэнцефалограммы (ЭЭГ) сна, опубликованная A. Loomis et al. в 1938 году, определила 5 различных состояний сна, обозначенных от A до E. Эта система признала, что сон не является устойчивым состоянием, а состоит из циклических паттернов, которые различаются по глубине. Кроме того, Лумис с соавт. описали наличие кратковременных альфа-возбуждений, которые были связаны с повышенными дыхательными усилиями и движениями тела, однако эти события не учитывались в итоговой оценке [6]. Открытие фазы «быстрого» сна и разработка критериев оценки «быстрого» сна Демента – Клейтмана привели к появлению руководства Рехтшаффена и Калеса (R&K) для оценки состояния сна человека [7]. В руководстве R&K упоминалось о двигательных эраузелах – ЭЭГ-активациях, связанных с движением, которые помогали в понимании стадии сна, но не суммировались при анализе эпох сна. Двигательные эраузелы по R&K определялись как увеличение активности электромиограммы (ЭМГ) без ссылки на изменения в ЭЭГ. По мере увеличения данных о взаимосвязи фрагментации сна с эраузелами различного генеза, в 1992 г. Американской ассоциацией медицины сна принят консенсус по правилам интерпретации ЭЭГ эраузелов [8]. За эраузел принято резкое изменение частоты ЭЭГ, которое может включать тета-, альфа- и/или частоты выше 16 Гц (но не «веретена» сна) продолжительностью более 3 секунд, с идентифицированной любой стадией сна в предшествующие 10 секунд, в сочетании с одновременным повышением амплитуды подбородочной миограммы (в «быстрой» фазе сна).

Исследование эраузелов у пациентов с сон-ассоциированными нарушениями дыхания проводилось с позиции решения двух задач: 1) в какой степени эраузелы предсказывают нарушение дневного функционирования; 2) в какой степени уменьшение эраузелов после лечения приводит к восстановлению дневного функционирования [9]. Martin et al. [10] показали связь между респираторными эраузелами и объективными показателями дневной сонливости. Sforza et al. отметили, что количество эраузелов минимально у пациентов с храпом и растёт с увеличением индекса апноэ-гипопноэ [11]. Другие учёные расширили область исследования, оценив связь эраузелов с коморбидной патологией. Артериальная гипертония более распространена в группе пациентов с фрагментированным сном, который играет роль в генезе системной гипертензии у храпящих пациентов [12]. ЭЭГ эраузелов помогает определить сопротивление верхних дыхательных путей [13]. В совокупности представленные данные свидетельствуют о том, что фрагментация сна является важным предиктором дневных нарушений в таких областях, как поддержание и нарушения бодрствования, психомоторное функционирование, гипертония, нарушения сердечной деятельности и т. д.

Современным методом оценки нейрональной дисфункции во время сна является исследование микроструктуры сна, и для её оценки был использован метод анализа циклического альтернирующего паттерна (ЦАП) [14]. По данным авторов, ЦАП определяется как периодическая ЭЭГ-активность во время сна без быстрого движения глаз (NREM-сон), которая отражает процесс поддержания сна и способность к возбуждению головного мозга и характеризуется повторными спонтанными последовательностями переходных событий (фаза A) с некоторыми характерными чертами. Они включают в себя: чёткий рисунок, который отличается от фонового ритма основной стадий сна; резкое изменение амплитуды; паттерн, который повторяется с интервалом в 2 мин. Возвращение к фоновой ЭЭГ-активности определяет интервал, разделяющий повторяющиеся элементы (например, фаза B). Чередование переходных событий и фоновой электрической активности, скорее всего, является выражением неустойчивости/стабильности возбуждения мозга во время сна. Относительные пропорции медленноволновой активности с быстрыми ЭЭГ-ритмами позволяют разделить фазу A ЦАП на подтипы A1, A2 и A3. Подтип A1 характеризуется преобладанием высоковольтных медленных волн (синхронность ЭЭГ), в то время как в подтипе A3 преобладают быстрые низкоамплитудные ритмы (десинхронность ЭЭГ). Подтип A2 представляет собой сочетание медленного и быстрого ЭЭГ-ритмов. Подтип A1 является самым распространённым подтипом ЦАП, обычно занимающим большую часть фазы A во время нормального сна и возникающим примерно 200–400 раз в течение ночи [14, 15].

Однако следует отметить, что изменения параметров ЦАП встречаются не только при СОАС, но и при инсомнии [16], мигрени [17] и некоторых видах эпилепсии [18]. Таким образом, следует отметить тот факт, что изменения ЦАП не являются специфичными при СОАС, но могут трактоваться как универсальные ЭЭГ-паттерны нарушений сна.

За последние два десятилетия нейрофизиологические характеристики СОАС широко исследуются с помощью различных медицинских технологий, включая функциональную магнитно-резонансную томографию (фМРТ), электроэнцефалографию (ЭЭГ), позитронно-эмиссионную томографию, магнитоэнцефалографию, функциональную инфракрасную спектроскопию. Производный ЭЭГ-метод полисомнографии (ПСГ) на сегодняшний день рассматривается как «золотой стандарт» в инструментальной диагностике нарушений сна.

Записанные электроэнцефалограммы (ЭЭГ) могут быть количественно проанализированы для выявления вариаций мозговой деятельности, которая регулируется гомеостатическими и циркадными процессами. Эти два различных биологических механизма и их взаимодействие моделируются двухкомпонентной моделью регуляции сна-бодрствования [19]. Циркадная регуляция (процесс С) цикла «сон – бодрствование» происходит под влиянием внутренних биологических часов, расположенных в супрахиазматическом ядре гипоталамуса, в то время как гомеостатический процесс S представляет собой «давление сна», которое усиливается с увеличением времени бодрствования и исчезает со временем, проведённым во сне [20].

Исследования на здоровых испытуемых показали взаимосвязь между количественными характеристиками ЭЭГ фазы медленного сна с работоспособностью в дневное время и склонностью к повышенной дневной сонливости, что подчёркивает ценность показателей ЭЭГ как биомаркеров повышенной сонливости и изменений когнитивных функций при СОАС [21].

Известно, что нейрональные взаимодействия таламо-кортикальных путей в значительной степени ответственны за различные модели возбуждения нейронов, различающиеся на ЭЭГ характеристиками бодрствования, фаз медленного и «быстрого» сна от различных стадий сна [22]. Бодрствование и фаза «быстрого» сна имеют аналогичные особенности ЭЭГ, характеризующиеся низковольтной высокочастотной «десинхронизированной» активностью. Характеристики ЭЭГ медленного сна значительно варьируются в зависимости от стадии сна. Сон N2 характеризуется К-комплексами (медленными колебаниями < 1 Гц) и сонными веретенами (колебания нарастающей и убывающей амплитуды продолжительностью 0,5–3 с, обычно в пределах частотного диапазона 11–16 Гц), а в стадии N3 медленноволнового сна преобладает высоковольтная медленная активность в дельта-диапазоне (обычно 0,5–4,5 Гц) [23].

ИЗМЕНЕНИЕ НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО ПАТТЕРНА ПОСЛЕ СИПАП-ТЕРАПИИ

По данным Parekh et al. [24], у пациентов с СОАС на фоне СИПАП-терапии наблюдается снижение плотности К-комплексов и увеличение медленноволновой активности префронтальной коры, что указывает на её дисфункцию, проявляющуюся в ухудшении выполнения теста на психомоторную бдительность.

Пациенты с СОАС с гиперкапнией демонстрируют увеличенную медленноволновую активность в фазе медленного сна на исходном уровне, которая снижается после лечения и коррелирует с уменьшением дневной сонливости [25].

По мнению некоторых учёных, изменение частоты медленноволновой активности ЭЭГ при СОАС может являться признаком церебральной дисфункции [26]. Однако ряд исследователей получили результаты, которые позволяют неоднозначно трактовать количественные изменения ЭЭГ-параметров у пациентов с СОАС на фоне респираторной поддержки. Так, в исследованиях, посвящённых изменениям количественной ЭЭГ после неинвазивной вентиляции положительным давлением, Morisson et al. сообщили о снижении коэффициента замедления в лобной, центральной и теменной областях после лечения [27]. Другие работы показали изменения количественной ЭЭГ после устранения ночной гипоксии и обнаружили увеличение относительной мощности дельта-диапазона волн во всех областях мозга и снижение относительной мощности тета-волн во фронтальной области [28].

Исследования Alshaer et al. [29] показали, что лечение СОАС не привело к значительному снижению альфа- и дельта-колебаний у пациентов с инсультом. В то же время были опубликованы исследования [30], которые продемонстрировали изменения ритмов ЭЭГ во всех областях головного мозга после лечения, что сопровождалось улучшением когнитивных функций у пациентов с тяжёлым СОАС. Эти выводы предполагают, что устранение гипоксических состояний при СОАС может вызывать улучшение церебральной функции без региональной специфичности [31].

ЛЕЧЕНИЕ СОАС И ИЗМЕНЕНИЕ ПЕРФУЗИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Крайне интересным является факт изменения кровоснабжения участков мозга у пациентов с СОАС на фоне терапии. С целью изучения этой взаимосвязи было проведено проспективное исследование семи пациентов с СОАС. На фоне СИПАП-терапии в течение 6 недель оценивалась перфузия мозга с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ) до и после лечения. Изменения микроструктуры количественно оценивались с использованием показателей функциональной анистрофии (FA) и средней диффузии (MD), а перфузия головного мозга количественно определялась с использованием мозгового кровотока (CBF) и объёма церебральной крови (CBV). Повышение FA и снижение MD были обнаружены в гиппокампе, височных долях, веретенообразной извилине и затылочных долях. У всех пациентов было выявлено снижение FA и увеличение MD во фронтальных областях. Повышение CBF и CBV также наблюдалось после лечения. Таким образом, можно предположить, что СИПАП-терапия способствует восстановлению нарушенной перфузии мозга [32].

Предпринимались попытки лечения СОАС противосудорожным препаратом тиагабин, который у субъектов без СОАС вызывает дозозависимое увеличение NREM-сна. Предполагалось, что тиагабин может снизить тяжесть СОАС за счёт повышения общего порога возбуждения во время сна. Однако увеличение амплитуды медленных волн не сопровождалось изменением длительности NREM-сна, уменьшением тяжести СОАС и снижением порога возбуждения в этой группе [33].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Понимание роли кратковременных ЭЭГ-активаций головного мозга в процессе сна может представить зна-

чимые данные о функциях сна в норме и при патологии. Несмотря на улучшающуюся диагностику нарушений сна с помощью машинных алгоритмов, оценки взаимосвязи структур и функций головного мозга во сне, данные нейрофизиологических исследований остаются не вполне ясными, что требует продолжения исследований. Дальнейшие научные изыскания будут посвящены изучению ассоциаций микро- и макроструктуры сна с некоторыми метаболическими показателями при нарушениях дыхания во время сна, что может способствовать поиску новых информативных биомаркеров различных патологических состояний.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа не имела спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Peppard PE, Young T, Barnet JH, Palta M, Hagen EW, Hla KM. Increased prevalence of sleep-disordered breathing in adults. *Am J Epidemiol*. 2013; 177(9): 1006-1014. doi: 10.1093/aje/kws342

2. Ward KL, Hillman DR, James A, Bremmer AP, Simpson L, Cooper MN, et al. Excessive daytime sleepiness increases the risk of motor vehicle crash in obstructive sleep apnea. *J Clin Sleep Med*. 2013; 9(10): 1013-1021. doi: 10.5664/jcsm.3072

3. Heinzer R, Vat S, Marques-Vidal P, Marti-Soler H, Andries D, Tobback N, et al. Prevalence of sleep-disordered breathing in the general population: the HypnoLaus study. *Lancet Respir Med*. 2015; 3(4): 310-318. doi: 10.1016/S2213-2600(15)00043-0

4. Мадаева И.М., Колесникова Л.И. Нарушения сна в клинике внутренних болезней. *Acta biomedica scientifica.* 2003; (2): 14-17.

5. Benjafield AV, Ayas NT, Eastwood PR, Heinzer R, Ip MSM, Morrell MJ, et al. Estimation of the global prevalence and burden of obstructive sleep apnoea: A literature-based analysis. *Lancet Respir Med*. 2019; 7(8): 687-698. doi: 10.1016/S2213-2600(19)30198-5

6. Loomis A, Harvey E, Hobart G. Distribution of disturbance patterns in the human electroencephalogram, with special reference to sleep. *J Neurophysiol* 1938; 1(5): 231-256. doi: 10.1152/jn.1938.1.5.413

7. Rechtschaffen A, Kales A. *A manual of standardized terminology, techniques, and scoring systems for sleep stages of human subjects.* 1968

8. Bonnet M, Carley D, Carskadon M, et al. EEG arousals: scoring rules and examples: a preliminary report from the Sleep Disorders Atlas Task Force of the American Sleep Disorders Association. *Sleep.* 1992; 15(2): 173-184.

9. Martin SE, Engleman HM, Kingshott RN, Douglas NJ. Microarousals in patients with sleep apnoea/hypopnoea syndrome. *J Sleep Res*. 2005; 6(4): 276-280. doi: 10.1111/j.1365-2869.1997.00276.x

10. Sforza E, Haba-Rubio J, De Bilbao F, Rochat T, Ibanez V. Performance vigilance task and sleepiness in patients with sleep-disordered breathing. *Eur Respir J*. 2004; 24(2): 279-285. doi: 10.1183/09031936.04.00091903

11. Li Y, Vgontzas A, Kritikou I, Fernandez-Mendoza J, Basta M, Pejovic S, et al. Psychomotor vigilance test and its association with daytime sleepiness and inflammation in sleep apnea: Clinical implications. *J Clin Sleep Med*. 2017; 13(9): 1049-1056. doi: 10.5664/jcsm.6720

12. Budhiraja R, Javaheri S, Parthasarathy S, Berry RB, Quan SF. The association between obstructive sleep apnea characterized by a minimum 3 percent oxygen desaturation or arousal hypopnea definition and hypertension. *J Clin Sleep Med*. 2019; 15(9): 1261-1270. doi: 10.5664/jcsm.7916

13. Poyares D, Guilleminault C, Rosa A, Ohayon M, Koester U. Arousal, EEG spectral power and pulse transit time in UARS and mild OSAS subjects. *Clin Neurophysiol*. 2002; 113(10): 1598-1606. doi: 10.1016/s1388-2457(02)00214-6

14. Parrino L, Ferri R, Bruni O, Terzano MG. Cyclic alternating pattern (CAP): The marker of sleep instability. *Sleep Med Rev*. 2012; 16(1): 27-45. doi: 10.1016/j.smrv.2011.02.003

15. Бердина О.Н. Роль сна и его нарушений в формировании когнитивных функций в детском возрасте. *Acta biomedica scientifica.* 2014; 6(100): 115-119.

16. Manconi M, Ferri R, Miano S, Maestri M, Bottasini V, Zucconi M, et al. Sleep architecture in insomniacs with severe benzodiazepine abuse. *Clin Neurophysiol*. 2017; 128(6): 875-881. doi: 10.1016/j.clinph.2017.03.009

17. Nayak C, Sinha S, Nagappa M, Nagaraj K, Kulkarni GB, Thennarasu K, et al. Study of sleep microstructure in patients of migraine without aura. *Sleep Breath*. 2016; 20(1): 263-269. doi: 10.1007/s11325-015-1207-x

18. Giorgi FS, Maestri M, Guida M, Carnicelli L, Caciagli L, Ferri R, et al. Cyclic alternating pattern and interictal epileptiform discharges during morning sleep after sleep deprivation in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav*. 2017; 73: 131-136. doi: 10.1016/j.yebeh.2017.05.005

19. Beersma DG. Models of human sleep regulation. *Sleep Med Rev*. 1998; 2(1): 31-43. doi: 10.1016/s1087-0792(98)90052-1

20. Ковальзон В.М. Основы сомнологии: физиология и нейрохимия цикла «бодрствование – сон». М.; БИНОМ. Лаборатория знаний; 2012.

21. Dijk DJ. Regulation and functional correlates of slow wave sleep. *J Clin Sleep Med.* 2009; 5(2): 6-15.

22. Левин Я.И., Полуэктов М.Г. Сомнология и медицина сна. Избранные лекции. М.; Медфорум; 2013.

23. Berry RB, Brooks R, Gamaldo C, Harding SM, Lloyd RM, Quan SF, et al. AASM scoring manual updates for 2017 (Version 2.4). *J Clin Sleep Med*. 2017; 13(5): 665-666. doi: 10.5664/jcsm.6576

24. Parekh A, Mullins AE, Kam K, Varga AW, Rapoport DM, Ayappa I. Slow-wave activity surrounding stage N2 K-complexes and daytime function measured by psychomotor vigilance test in obstructive sleep apnea. *Sleep*. 2019; 42(3): zsy256. doi: 10.1093/sleep/zsy256

25. Lee SD, Ju G, Kim JW, Yoon IY. Improvement of EEG slowing in OSAS after CPAP treatment. *J Psychosom Res*. 2012; 73(2): 128. doi: 10.1016/j.jpsychores.2012.04.007

26. Grenèche J, Krieger J, Erhardt C, Bonnefond A, Eschenlauer A, Muzet A, t al. EEG spectral power and sleepiness during 24 h of sustained wakefulness in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Clin Neurophysiol*. 2008; 119(2): 418-428. doi: 10.1016/j.clinph.2007.11.002

27. Morisson F, Décary A, Petit D, Lavigne G, Malo J, Montplaisir J. Daytime sleepiness and EEG spectral analysis in apneic patients before and after treatment with continuous positive airway pressure. *Chest*. 2001; 119(1): 45-52. doi: 10.1378/chest.119.1.45

28. Xiromeritis AG, Hatziefthimiou AA, Hadjigeorgiou GM, Gourgoulianis KI, Anagnostopoulou DN, Angelopoulos NV. Quantitative spectral analysis of vigilance EEG in patients with obstructive sleep apnoea syndrome: EEG mapping in OSAS patients. *Sleep Breath*. 2011; 15(1): 121-128. doi: 10.1007/s11325-010-0335-6

29. Alshaer H, Pandya A, Zivanovic I, Carvalho CG, Ryan CM. The effect of continuous positive airway pressure on spectral encephalogram characteristics in stroke patients with obstructive sleep apnea. *Respir Physiol Neurobiol*. 2018; 249: 62-68. doi: 10.1016/j.resp.2018.01.003

30. Lee SD, Ju G, Kim JW, Yoon IY. Improvement of EEG slowing in OSAS after CPAP treatment. *J Psychosom Res*. 2012; 73(2): 130. doi: 10.1016/j.jpsychores.2012.04.007

31. Mullins AE, Kim JW, Wong KKH, Bartlett DJ, Vakulin A, Dijk DJ, et al. Sleep EEG microstructure is associated with neurobehavioural impairment after extended wakefulness in obstructive

sleep apnea. *Sleep Breath*. 2021; 25(1): 347-354. doi: 10.1007/s11325-020-02066-5

32. Maresky HS, Shpirer I, Klar MM, Levitt M, Sasson E, Tal S. Continuous positive airway pressure alters brain microstructure and perfusion patterns in patients with obstructive sleep apnea. *Sleep Med*. 2019; 57: 61-69. doi: 10.1016/j.sleep.2018.12.027

33. Taranto-Montemurro L, Sands SA, Edwards BA, Azarbarzin A, Marques M, de Melo C, et al. Effects of Tiagabine on slow wave sleep and arousal threshold in patients with obstructive sleep apnea. *Sleep*. 2017; 40(2): zsw047. doi: 10.1093/sleep/zsw047

REFERENCES

1. Peppard PE, Young T, Barnet JH, Palta M, Hagen EW, Hla KM. Increased prevalence of sleep-disordered breathing in adults. *Am J Epidemiol*. 2013; 177(9): 1006-1014. doi: 10.1093/aje/kws342

2. Ward KL, Hillman DR, James A, Bremmer AP, Simpson L, Cooper MN, et al. Excessive daytime sleepiness increases the risk of motor vehicle crash in obstructive sleep apnea. *J Clin Sleep Med*. 2013; 9(10): 1013-1021. doi: 10.5664/jcsm.3072

3. Heinzer R, Vat S, Marques-Vidal P, Marti-Soler H, Andries D, Tobback N, et al. Prevalence of sleep-disordered breathing in the general population: the HypnoLaus study. *Lancet Respir Med*. 2015; 3(4): 310-318. doi: 10.1016/S2213-2600(15)00043-0

4. Madaeva IM, Kolesnikova LI. Sleep disorders in internal diseases clinic. *Acta biomedica scientifica*. 2003; (2): 14-17. (In Russ.)

5. Benjafield AV, Ayas NT, Eastwood PR, Heinzer R, Ip MSM, Morrell MJ, et al. Estimation of the global prevalence and burden of obstructive sleep apnoea: A literature-based analysis. *Lancet Respir Med*. 2019; 7(8): 687-698. doi: 10.1016/S2213-2600(19)30198-5

6. Loomis A, Harvey E, Hobart G. Distribution of disturbance patterns in the human electroencephalogram, with special reference to sleep. *J Neurophysiol* 1938; 1(5): 231-256. doi: 10.1152/jn.1938.1.5.413

7. Rechtschaffen A, Kales A. *A manual of standardized terminology, techniques, and scoring systems for sleep stages of human subjects*. 1968

8. Bonnet M, Carley D, Carskadon M, et al. EEG arousals: scoring rules and examples: a preliminary report from the Sleep Disorders Atlas Task Force of the American Sleep Disorders Association. *Sleep.* 1992; 15(2): 173-184.

9. Martin SE, Engleman HM, Kingshott RN, Douglas NJ. Microarousals in patients with sleep apnoea/hypopnoea syndrome. *J Sleep Res*. 2005; 6(4): 276-280. doi: 10.1111/j.1365-2869.1997.00276.x

10. Sforza E, Haba-Rubio J, De Bilbao F, Rochat T, Ibanez V. Performance vigilance task and sleepiness in patients with sleep-disordered breathing. *Eur Respir J*. 2004; 24(2): 279-285. doi: 10.1183/09031936.04.00091903

11. Li Y, Vgontzas A, Kritikou I, Fernandez-Mendoza J, Basta M, Pejovic S, et al. Psychomotor vigilance test and its association with daytime sleepiness and inflammation in sleep apnea: Clinical implications. *J Clin Sleep Med*. 2017; 13(9): 1049-1056. doi: 10.5664/jcsm.6720

12. Budhiraja R, Javaheri S, Parthasarathy S, Berry RB, Quan SF. The association between obstructive sleep apnea characterized by a minimum 3 percent oxygen desaturation or arousal hypopnea definition and hypertension. *J Clin Sleep Med*. 2019; 15(9): 1261-1270. doi: 10.5664/jcsm.7916

13. Poyares D, Guilleminault C, Rosa A, Ohayon M, Koester U. Arousal, EEG spectral power and pulse transit time in UARS and mild OSAS subjects. *Clin Neurophysiol*. 2002; 113(10): 1598-1606. doi: 10.1016/s1388-2457(02)00214-6

14. Parrino L, Ferri R, Bruni O, Terzano MG. Cyclic alternating pattern (CAP): The marker of sleep instability. *Sleep Med Rev*. 2012; 16(1): 27-45. doi: 10.1016/j.smrv.2011.02.003

15. Berdina ON. The role of sleep and sleep disorders in the formation of cognitive functions in childhood. *Acta biomedica scientifica*. 2014; 6(100): 115-119. (In Russ.)

16. Manconi M, Ferri R, Miano S, Maestri M, Bottasini V, Zucconi M, et al. Sleep architecture in insomniacs with severe benzodiazepine abuse. *Clin Neurophysiol*. 2017; 128(6): 875-881. doi: 10.1016/j.clinph.2017.03.009

17. Nayak C, Sinha S, Nagappa M, Nagaraj K, Kulkarni GB, Thennarasu K, et al. Study of sleep microstructure in patients of migraine without aura. *Sleep Breath*. 2016; 20(1): 263-269. doi: 10.1007/s11325-015-1207-x

18. Giorgi FS, Maestri M, Guida M, Carnicelli L, Caciagli L, Ferri R, et al. Cyclic alternating pattern and interictal epileptiform discharges during morning sleep after sleep deprivation in temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav*. 2017; 73: 131-136. doi: 10.1016/j.yebeh.2017.05.005

19. Beersma DG. Models of human sleep regulation. *Sleep Med Rev*. 1998; 2(1): 31-43. doi: 10.1016/s1087-0792(98)90052-1

20. Kovalzon VM. *Fundamentals of somnology: Physiology and neurochemistry of the wakefulness-sleep cycle.* Moscow; BINOM. Laboratoria znaniy; 2012. (In Russ.)

21. Dijk DJ. Regulation and functional correlates of slow wave sleep. *J Clin Sleep Med.* 2009; 5(2): 6-15.

22. Levin YaI, Poluektov MG. *Somnology and sleep medicine. Selected lectures*. Moscow; Medforum; 2013. (In Russ.)

23. Berry RB, Brooks R, Gamaldo C, Harding SM, Lloyd RM, Quan SF, et al. AASM scoring manual updates for 2017 (Version 2.4). *J Clin Sleep Med*. 2017; 13(5): 665-666. doi: 10.5664/jcsm.6576

24. Parekh A, Mullins AE, Kam K, Varga AW, Rapoport DM, Ayappa I. Slow-wave activity surrounding stage N2 K-complexes and daytime function measured by psychomotor vigilance test in obstructive sleep apnea. *Sleep*. 2019; 42(3): zsy256. doi: 10.1093/sleep/zsy256

25. Lee SD, Ju G, Kim JW, Yoon IY. Improvement of EEG slowing in OSAS after CPAP treatment. *J Psychosom Res*. 2012; 73(2): 128. doi: 10.1016/j.jpsychores.2012.04.007

26. Grenèche J, Krieger J, Erhardt C, Bonnefond A, Eschenlauer A, Muzet A, t al. EEG spectral power and sleepiness during 24 h of sustained wakefulness in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Clin Neurophysiol*. 2008; 119(2): 418-428. doi: 10.1016/j.clinph.2007.11.002

27. Morisson F, Décary A, Petit D, Lavigne G, Malo J, Montplaisir J. Daytime sleepiness and EEG spectral analysis in apneic patients before and after treatment with continuous positive airway pressure. *Chest*. 2001; 119(1): 45-52. doi: 10.1378/chest.119.1.45

28. Xiromeritis AG, Hatziefthimiou AA, Hadjigeorgiou GM, Gourgoulianis KI, Anagnostopoulou DN, Angelopoulos NV. Quantitative spectral analysis of vigilance EEG in patients with obstructive sleep apnoea syndrome: EEG mapping in OSAS patients. *Sleep Breath*. 2011; 15(1): 121-128. doi: 10.1007/s11325-010-0335-6

29. Alshaer H, Pandya A, Zivanovic I, Carvalho CG, Ryan CM. The effect of continuous positive airway pressure on spectral encephalogram characteristics in stroke patients with obstructive sleep apnea. *Respir Physiol Neurobiol*. 2018; 249: 62-68. doi: 10.1016/j.resp.2018.01.003

30. Lee SD, Ju G, Kim JW, Yoon IY. Improvement of EEG slowing in OSAS after CPAP treatment. *J Psychosom Res*. 2012; 73(2): 130. doi: 10.1016/j.jpsychores.2012.04.007

31. Mullins AE, Kim JW, Wong KKH, Bartlett DJ, Vakulin A, Dijk DJ, et al. Sleep EEG microstructure is associated with neurobehavioural impairment after extended wakefulness in obstructive sleep apnea. *Sleep Breath*. 2021; 25(1): 347-354. doi: 10.1007/s11325-020-02066-5

32. Maresky HS, Shpirer I, Klar MM, Levitt M, Sasson E, Tal S. Continuous positive airway pressure alters brain microstructure and perfusion patterns in patients with obstructive sleep apnea. *Sleep Med*. 2019; 57: 61-69. doi: 10.1016/j.sleep.2018.12.027

33. Taranto-Montemurro L, Sands SA, Edwards BA, Azarbarzin A, Marques M, de Melo C, et al. Effects of Tiagabine on slow wave sleep and arousal threshold in patients with obstructive sleep apnea. *Sleep*. 2017; 40(2): zsw047. doi: 10.1093/sleep/zsw047

Сведения об авторах

Ухинов Эрдэм Баяндалаевич – младший научный сотрудник лаборатории сомнологии и нейрофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: erdic@rambler.ru, https://orcid.org/0000-0002-6931-3879

Мадаева Ирина Михайловна – доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории сомнологии и нейрофизиологии, руководитель Сомнологического центра, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nightchild@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-3423-7260

Бердина Ольга Николаевна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории сомнологии и нейрофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: goodnight_84@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-0930-6543

Колесникова Любовь Ильинична – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, научный руководитель, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, https://orcid.org/0000-0003-3354-2992

Information about the authors

Erdem B. Ukhinov – Junior Research Officer at the Laboratory of Somnology and Neurophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: erdic@rambler.ru, https://orcid.org/0000-0002-6931-3879

Irina M. Madaeva – Dr. Sc. (Med.), Chief Research Officer at the Laboratory of Somnology and Neurophysiology, Head of Somnology Centre, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nightchild@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-3423-7260

Olga N. Berdina – Cand. Sc. (Med), Senior Research Officer at the Laboratory of Somnology and Neurophysiology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: goodnight_84@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-0930-6543

Lyubov I. Kolesnikova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Academician of the RAS, Scientific Advisor, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, https://orcid.org/0000-0003-3354-2992

Статья поступила: 29.04.2021. Статья принята: 14.05.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 29.04.2021. Accepted: 14.05.2021. Published: 15.06.2021.

БИОХИМИЯ
BIOCHEMISTRY

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.3

Метаболический синдром: влияние адипокинов на L-аргинин-NO-синтаза-NO сигнальный путь

Кузнецова Л.А.

ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук
(194223, г. Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Кузнецова Людмила Александровна, e-mail: praskovia1231@mail.ru

Резюме

Метаболический синдром включает следующие симптомы: ожирение, гиперлипидемия, гипертензия, инсулиновая резистентность и сердечно-сосудистые заболевания. В настоящее время считается, что важным регуляторным механизмом, приводящим к заболеванию, является нарушенная секреция жировой тканью адипокинов. Адипокины – пептидные гормоны, синтезирующиеся жировой тканью и передающие сигнал к мишеням (сосуды, мозг, печень, мышцы). Среди адипокинов, сопряжённых с L-аргинин-NO-синтаза-NO сигнальным каскадом, имеются инсулинчувствительные, антивоспалительные (адипонектин, оментин, адиполин, кемерин, програнулин), а также воспалительные белки (висфатин, васпин, апелин), влияющие на патогенез метаболического синдрома. Однако ещё устанавливается, какие адипокины могут служить в качестве полезных маркеров этого заболевания. В обзоре проанализированы и систематизированы данные о роли адипокинов в регуляции NO-синтазного сигнального пути при развитии метаболического синдрома. Основные вопросы, поднимаемые в обзоре: как изменяется секреция адипокинов; как регулируется уровень их рецепторов; какие сигнальные пути участвуют в передаче адипокиновых сигналов при сопряжении с L-аргинин-NO-синтаза-NO сигнальным каскадом. С нашей точки зрения, важно подчеркнуть, что адипокины, сопряжённые с L-аргинин-NO-синтаза-NO сигнальным каскадом, являются инсулинчувствительными и участвуют в регуляции действия инсулина. Следует отметить, что вышеприведённые адипокины преимущественно регулируют экспрессию и активность эндотелиальной NO-синтазы. Так, адипонектин, адиполин, оментин, активируя 5-АМФ протеинкиназу или протеинкиназу B, увеличивают активность эндотелиальной NO-синтазы и синтез оксида азота и способствуют улучшению действия инсулина, а воспалительные, такие как васпин, висфатин, апелин, ингибируют активность эNO-синтазы, что вызывает снижение синтеза NO и подавление его биодоступности при метаболическом синдроме, что, как правило, приводит к рассопряжению, эндотелиальной дисфункции и увеличению инсулиновой резистентности. Следует отметить, что на эндотелиальную NO-синтазу оказывается влияние на многих уровнях, включая экспрессию мРНК NO-синтазы и её белка и посттрансляционные модификации, в частности фосфорилирование эNO-синтазы по серину 1177 с участием 5-АМФ протеинкиназы, а также необходимо поддерживать концентрацию L-аргинина, уровень кофакторов реакции и степень димеризации фермента. В результате анализа в качестве маркеров метаболического синдрома можно предложить адипонектин, кемерин и оментин. Следует отметить, что участие адипонектина, оментина и кемерина в регуляции L-аргинин-NO-синтаза-NO-каскада при заболевании метаболическим синдромом открывает определённые возможности при разработке новых подходов для коррекции нарушений, наблюдаемых при этом заболевании. В обзоре проанализированы результаты исследований при поиске в базах данных PubMed за период 2001–2020 гг. с использованием ключевых слов и названий адипокинов; более половины ссылок – работы последних 5 лет.

Ключевые слова: *метаболический синдром, адипокины, адипонектин, оментин, кемерин, эндотелиальная NO-синтаза*

Для цитирования: Кузнецова Л.А. Метаболический синдром: влияние адипокинов на L-аргинин-NO-синтаза-NO сигнальный путь. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 22-40. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.3

Metabolic Syndrome: the Influence of Adipokines on the L-Arginine-NO Synthase-Nitric Oxide Signaling Pathway

Kuznetsova L.A.

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

Corresponding author: Lyudmila A. Kuznetsova, e-mail: praskovia1231@mail.ru

Abstract

Metabolic syndrome includes the following symptoms: obesity, hyperlipidemia, hypertension, insulin resistance, and cardiovascular disease. The purpose of this review is to elucidate the role of adipokines in the regulation of the L-arginine-

NO-synthas-NO signaling pathway in the pathogenesis of metabolic syndrome. The main questions raised in the review are: how adipokine secretion changes, how the level of their receptors is regulated, and which signaling pathways are involved in the transmission of adipokine signals when coupled to the L-arginine-NO-synthase-NO signaling cascade. Adipokines are peptide hormones that transmit a signal from adipose tissue to targets in the brain, blood vessels, liver, pancreas, muscles, and other tissues. Some adipokines have anti-inflammatory and insulin-sensitive effects: adiponectin, omentin, adipolin, chemerin, progranulin. Others have the negative inflammatory effect in the development of metabolic syndrome: visfatin, vaspin, apelin. Adipokines primarily regulate the expression and activity of endothelial NO-synthase. They either activate an enzyme involving 5-AMP protein kinase or Akt kinase, increasing its activity and synthesis of NO in the tissues of healthy patients: adiponectin, adipolin, omentin, or inhibit the activity of eNOS, which leads to a decrease in NO-synthase and suppression of mRNA bioavailability: vaspin, visfatin, apelin in metabolic syndrome, and a decrease in its activity leads to dissociation and endothelial dysfunction. It should be noted that the bioavailability of NO formed by NO-synthase is affected at many levels, including: the expression of NO-synthase mRNA and its protein; the concentration of L-arginine; the level of cofactors of the reaction; and to detect the maximum activity of endothelial NO-synthase, dimerization of the enzyme is required, posttranslational modifications are important, in particular, phosphorylation of endothelial NO-synthase by serine 1177 with the participation of 5-AMP protein kinase, Akt kinase and other kinases. It should be noted that the participation of adiponectin, omentin, and kemerin in the regulation of the L-arginine-NO-synthase-NO cascade in metabolic syndrom opens up certain opportunities for the development of new approaches for the correction of disorders observed in this disease. The review analyzes the results of research searching in PubMed databases, starting from 2001 and up to 2020 using keywords and adipokine names, more than half of the references of the last 5 years.

Key words: *metabolic syndrome, adipokines, adiponectin, omentin, chemerin, NO-synthases*

For citation: Kuznetsova L.A. Metabolic Syndrome: the Influence of Adipokines on the L-Arginine-NO Synthase-Nitric Oxide Signaling Pathway. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 22-40. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.3.

ВВЕДЕНИЕ

По современным представлениям, метаболический синдром (МС) представляет собой комплекс метаболических и гормональных нарушений, в основе которых обнаруживается целый ряд заболеваний: ожирение, гиперлипидемия, гипертензия, сахарный диабет 2-го типа (СД2) и сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) [1–8]. Были также идентифицированы и ключевые биохимические компоненты этого синдрома: резистентность тканей к инсулину; нарушение обмена глюкозы; окислительный стресс; дислипидемия, характеризующаяся увеличением уровня триглицеридов (ТГ) и снижением уровня липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) [2–8]. G. Reaven, предложивший называть болезнь синдромом, опубликовал новую основополагающую статью, в которой представил заболевание в качестве диагностической категории [1]. Таким образом, МС уже 30 лет является признанной серьезной болезнью. Сходная точка зрения была приведена в других работах [2–8].

Следует отметить, что диагноз МС устанавливается при определении по крайней мере пяти факторов риска: 1) центральное ожирение: объём талии > 102 см (мужчины), > 88 см (женщины); 2) глюкоза в плазме крови натощак ≥ 6,1 ммоль/л; 3) гипертриглицеридемия: ТГ ≥ 1–7 ммоль/л; 4) низкий уровень HDL-холестерола: < 1,0 ммоль/л (мужчины), < 1,3 ммоль/л (женщины); 5) гипертензия: давление крови ≥ 130/85 мм рт. ст. [3].

Развитие МС часто сопровождается абдоминальным ожирением и проявлением метаболических факторов риска. Это атерогенная дислипидемия за счёт увеличенного уровня ТГ и снижения уровня ЛПВП, повышение уровня глюкозы, а также гипертонии, воспалительных и тромботических состояний. МС встречается у 20–40 % взрослой популяции в мире, а у пациентов с МС развитие ССЗ в два раза выше, чем у здоровых людей. Прямое взаимодействие между жировой тканью, мозгом, печенью и мышцами обеспечивает энергетический контроль целого организма. Следует подчеркнуть три основополагающие функции жировой ткани (ЖТ): а) секреция и выброс гормоноподобных полипептидных адипокинов, которые влияют на метаболизм целого организма; б) гуморальное влияние не только адипокинов, но и небелковых факторов: жирных кислот (ЖК), половых стероидов, различных факторов роста, которые, как известно, регулируют глюкозный и липидный метаболизм и инсулиновую резистентность; в) нейрональный контроль поведения, который связан с потреблением пищи и удалением из кровотока избытка углеводов и липидов. Таким образом, вышеприведённые признаки развития МС являются основой болезни и предопределяют ССЗ [3–6]. Главной причиной развития этой болезни, как считает ряд авторов, является центральное ожирение [3, 4]. Липотоксичные ЖК, в избытке циркулирующие в крови, доставляются не только к ЖТ, а также к печени, мышцам, поджелудочной железе (ПЖЖ). Это приводит к метаболическим нарушениям, обнаруженным в клинической практике и выражающимся в высоком уровне сахара крови, высоком кровяном давлении, дислипидемии и инсулиновой резистентности [3–6]. В результате центрального ожирения, которое рассматривается как эндокринное заболевание, наблюдается ряд гормональных нарушений в синтезе гормонов жировой ткани – адипокинов, как атерогенных, так и диабетогенных. Центральное ожирение сопровождается генерализованным воспалением низкой степени с высоким уровнем в плазме С-реактивного белка, интерлейкина-6 и других воспалительных маркеров; обнаруживается инсулиновая резистентность [7, 8]. МС могут сопровождать и другие типы ожирения (глютеофеморальное, саркопеническое и др.), для которых также характерны инсулиновая резистентность, дислипидемия, неалкогольное ожирение печени, гипертония, увеличенный липолиз [3, 5, 8]. Кроме того, эти метаболические изменения связаны с нарушением функций тромбоцитов и сосудов, что может привести к атеротромбозу и тромбозу вен [9]**.** Следует отметить, что невелики успехи в понимании точных механизмов патогенеза этого синдрома и его осложнений. В настоящее время появляется всё больше доказательств того, что L-аргинин-NO-синтаза сигнальный путь и оксид азота (NO) играют важную роль в патогенезе этой болезни. Следует отметить, что открытие физиологической роли NO привело к революции в понимании регуляции сосудистого тонуса, адгезии

тромбоцитов, агрегации и иммунной активации и многих других процессов [9–11].

Регуляция L-аргининового пути осуществляется за счёт продукции NO с участием 3 изоформ NO-синтаз. Этот обзор оценивает участие L-аргинин-NO-синтазного пути в патофизиологии МС и кардиоваскулярных болезней, а также влияние некоторых адипокинов на этот каскад при развитии этой болезни. Фармакологические и другие виды терапии могут нормализовать изменения кровяного давления, триглицеридов и глюкозы. Для МС с ожирением характерна гипертрофия адипоцитов с нарушением секреции адипоцитов, увеличением клеток с воспалением и ухудшением метаболического гомеостаза, что приводит к инсулиновой резистентности [10, 11]. В настоящее время существуют мнения о том, что конститутивные NO-синтазы, синтезирующие нмоли NO, поддерживают гомеостаз адипоцитов и сосудов. В то же время фермент аргиназа конкурирует с NO-синтазой за L-аргинин. Показано, что активность и экспрессия аргиназы увеличиваются при ожирении и МС, что приводит к снижению биодоступности NO, ухудшая функции как адипоцитов, так и эндотелиальных клеток сосудов [12]. Осознавая важную роль NO в регуляции функций адипоцитов и их метаболизма, необходимо учитывать взаимоотношения между аргиназами и NO-синтазами и их влияние на развитие МС, ССЗ и других осложнений. При этом необходимо всеобъемлющее понимание механизмов, участвующих в метаболических и сосудистых дисфункциях, для более эффективной и мишень-направленной терапии МС [10, 11].

СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ L-АРГИНИН-NO-СИНТАЗА-NO

В последние годы изучение роли NO в клеточной сигнализации становится одной из наиболее быстро развивающихся областей биологии и медицины. NO функционирует в качестве внутриклеточного посредника, выполняя дистантные, сигнальные функции, и регулирует целый ряд биологических процессов. NO – газ, который является конечным продуктом L-аргинин-NO-синтазного сигнального пути, образуется в клетках млекопитающих из аминокислоты L-аргинина с участием фермента NO-синтазы (табл. 1). Три основные NO-синтазы млекопитающих (ЕС 1.14.13.39) – это нейрональная (I) и эндотелиальная (III), которые являются конститутивными, и индуцибельная (II) NO-синтаза (нNO-синтаза, эNO-синтаза и иNO-синтаза) [11–14].

Изоформы фермента были клонированы и успешно экспрессированы в клетки *E. coli* или насекомых и были охарактеризованы к 1998 г., но изучение их энзимологии продолжается [11]. Ферменты экспрессируются тремя разными генами, и для их активности нужен комплекс Ca^{2+}/кальмодулин при концентрации цитозольного Ca^{2+} (> 100 нМ). Для L-аргинина ED50 составляет около 6 мкМ. Для реакции нужно несколько кофакторов: флавинаденин динуклеотид (ФАД); флавин мононуклеотид (ФМН); тетрагидробиоптерин; никотинамид-адениндинуклеотидфосфат (НАДФН); комплекс гемма. Синтез NO из L-аргинина идёт в 2 этапа: 1-й этап – процесс монооксигенации требует кислорода и окисления никотинамид-адениндинуклеотидфосфата (НАДФ) до НАДФН и приводит к образованию O-N-гидроксиаргининина; 2-й этап – окисление O-N-гидроксиаргининина приводит к образованию NO и цитруллина [11–13]. Известно, что активная NO-синтаза является гомодимером с субъединицой, на N-конце имеющей оксигеназный домен, а на С-конце – редуктазный домен, сопряжённый с кальмодулином. Кроме того, два оксигеназных домена могут взаимодействовать друг с другом, образуя активный гомодимер. Обнаружено, что субъединицы NO-синтаз способны утилизировать уникальную комбинацию из 4 окислительно-восстановительных факторов, два из которых сопряжены с оксигеназным доменом (комплекс гема- и тетрагидробиоптерин), а два других – с редуктазным доменом (ФАД и ФМН), а в ходе катализа поток электронов от НАДФН направляется сначала к ФАД и затем к ФМН. Кальций, связанный с кальмодулином, позволяет осуществлять перенос электронов перекрёстно с субъединицы от ФМН к гему, и это существенная ступень переноса электронов, дающая возможность переброски кислорода для связи с гемом на NO-синтазе, и таким образом начинается процесс биосинтеза NO [12, 13]. Наряду с этими синтазами сравнительно недавно обнаружили несколько других изоформ и в том числе митохондриальную NO-синтазу (мNO-синтазу) в разных отделах мозга, продуцирующую NO в митохондриях (относится к нNO-синтазам) [14].

Исследования на животных и человеке показали, что снижение активности эNO-синтазы ухудшает расслабление сосудов и снижает приток крови к скелетным мышцам при заболевании МС [5, 6, 11]. В ряде исследований было установлено, что NO оказывает сосудорасслабляющие, антитромбозные, антиоксидантные, антиадгезивные и антипролиферативные влияния. Недостаточный

Таблица 1

Характеристики классических изоформ NO-синтаз

Table 1

Characteristics of classical isoforms of NO-synthases

Характеристика	нNO-синтаза или тип I	иNO-синтаза или тип II	эNO-синтаза или тип III
Идентификация	нейроны	макрофаги	эндотелий
Молекулярная масса (кДа)	160	130	133
Хромосомная локализация	12p24.2	17cen-q12	7q35-36
Основная функция	нейрональный мессенджер	иммуноцитотоксичность	расслабление мышц сосудов
Уровень NO	пикомоли	наномоли	пикомоли
Регуляция	экспрессия, вызванная травмой нервов или мозга	экспрессия, вызванная цитотоксинами и эндотоксином	постоянно увеличенная регуляция NO при разных стрессах

синтез и освобождение этого медиатора или снижение концентрации L-аргинина может привести к развитию вазоконстрикции, увеличению давления, тенденции к образованию тромбов и выявлению атеросклероза при этом синдроме. Избыточное образование NO, напротив, ведёт к расслаблению сосудов, гипотензии и нарушению клеточного метаболизма [11]. В этой связи актуально описание современного состояния знаний, касающихся роли NO-синтаз и образованного ими NO, влияния на эндотелий сосудов при эндотелиальной дисфункции, действия NO на скелетные мышцы и мозг и действия адипокинов жировой ткани (ЖТ) при заболевании МС, а также эффекта некоторых препаратов для лечения МС [11].

УЧАСТИЕ АДИПОКИНОВ В МОДУЛЯЦИИ NO-СИНТАЗ ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ

Следует подчеркнуть, что характерное для МС накопление висцерального жира играет важную роль не только в запасании энергии, но также и в продукции адипоцитокинов, регулирующих метаболизм тканей, в частности мозга, печени, скелетных мышц и сосудов [7, 8, 15]. Учитывая то, что адипокины ещё недостаточно охарактеризованы, нужно отметить, что ЖТ является источником более 600 секретируемых белков. Условно адипокины подразделяются на воспалительные, включая лептин, резистин, висфатин и другие, а также антивоспалительные – адипонектин, кемерин, оментин, програнулин и адиполин. Кроме того, в последнее время выделяют ещё инсулинчувствительные адипокины, к которым можно отнести васпин, апелин, висфатин и другие. Следует отметить, что только некоторые из них участвуют в регуляции L-аргинин-NO-синтаза-NO сигнального каскада, и в следующих разделах обзора внимание будет сосредоточено на вопросах взаимодействия этих адипокинов и L-аргинин-NO-синтаза-NO сигнального каскада. Образованный NO способен регулировать разные белки-мишени через разные способы посттранскрипционных модификаций. Наиболее изученный путь: NO → растворимая гуанилатциклаза (ГЦ) → цГМФ →цГМФ-ПК-зависимое фосфорилирование, – может приводить к регуляции многих сигнальных путей и физиологическим ответам [13, 15, 16].

При рассмотрении роли адипокинов в метаболизме здорового организма и в патогенезе МС необходимо учитывать несколько параметров: в первую очередь, их концентрацию в ЖТ и в крови как здоровых, так и больных; их способность связываться со специфическими рецепторами или проникать в клетки или ткани и далее участвовать в регуляции L-аргинин-NO-синтаза-NO сигнального пути. Именно все эти вопросы будут рассматриваться в данном обзоре. Обсуждение начнём с антивоспалительных и инсулинчувствительных адипокинов, так как их можно использовать в качестве средств, предотвращающих развитие МС [15, 16].

Адипонектин

Адипонектин рассматривается в качестве антивоспалительного полипептидного гормона, который продуцируется белой и бурой ЖТ и циркулирует в крови у здоровых пациентов в высоких концентрациях (0,05 % от общего белка крови). Синтез адипонектина начинается с проадипонектина, и из него формируется мономерный адипокин. Он содержит N-концевую последовательность в 17 аминокислотных остатков (1–17), затем вариабельный участок (18–40), потом коллагеноподобный домен с 22 повторами коллагена (41–107) и концевой C1q-подобный глобулярный домен (107–244). Уровень мономерного адипонектина (30 кДа) в плазме здоровых объектов очень высок. Адипонектин млекопитающих экспрессируется в мономерной форме, а затем подвергается посттрансляционному процессингу и приобретает способность формировать олигомерные структуры. Это, как правило, три олигомерных комплекса: а) низкомолекулярный триммер с молекулярной массой около 90 кДа; б) среднемолекулярные гексамеры с молекулярной массой около 180 кДа; в) высокомолекулярные 12-18-мерные с молекулярной массой 360–540 кДа. Кроме того, в крови может присутствовать глобулярный домен адипонектина (без коллагенового домена), и он также может обладать некоторой биологической активностью, однако не сравнимой с активностью олигомерных изоформ [17, 18]. Для адипонектина характерны кардиососудистые, антидиабетические и противоспалительные и антиатерогенные характеристики [17–20].

Следует отметить, что для адипонектина были клонированы два рецептора, 7 раз пронизывающие мембрану, способные связывать адипонектин (АдипоR1 и АдипоR2) и имеющие 67 % идентичность последовательности (табл. 2; рис. 1 (А)) [21].

Таблица 2

Изменение уровня адипокинов в качестве маркеров ожирения, метаболического синдрома и их участие в действии инсулина

Table 2

Changes in the level of adipokines as markers of obesity and metabolic syndrome, and their participation in the action of insulin

Адипокины	Изменение уровня при МС	Маркеры ожирения и МС	Участие в действии инсулина	Источники
Адипонектин	снижение ++	+	+	17–26
Адиполин	увеличение	–	+/–	27–35
Оментин	снижение	+	+	36–39
Програнулин	увеличение	–	+	40–43
Кемерин	увеличение, рассопряжение	+	+	44–50
Васпин	увеличение	–	+	51–56
Висфатин	увеличение	–	+	57–60
Апелин	увеличение	–	+	61–63
Лептин	увеличение	–	+	64–72

Примечание. «++» – сильное снижение концентрации адипокина в крови; «+» – маркеры МС или ожирения; «–» – не признаны маркерами; «+/–» – некоторые авторы признают участие адиполина в действии инсулина, а другие не согласны с этим утверждением [31–34]

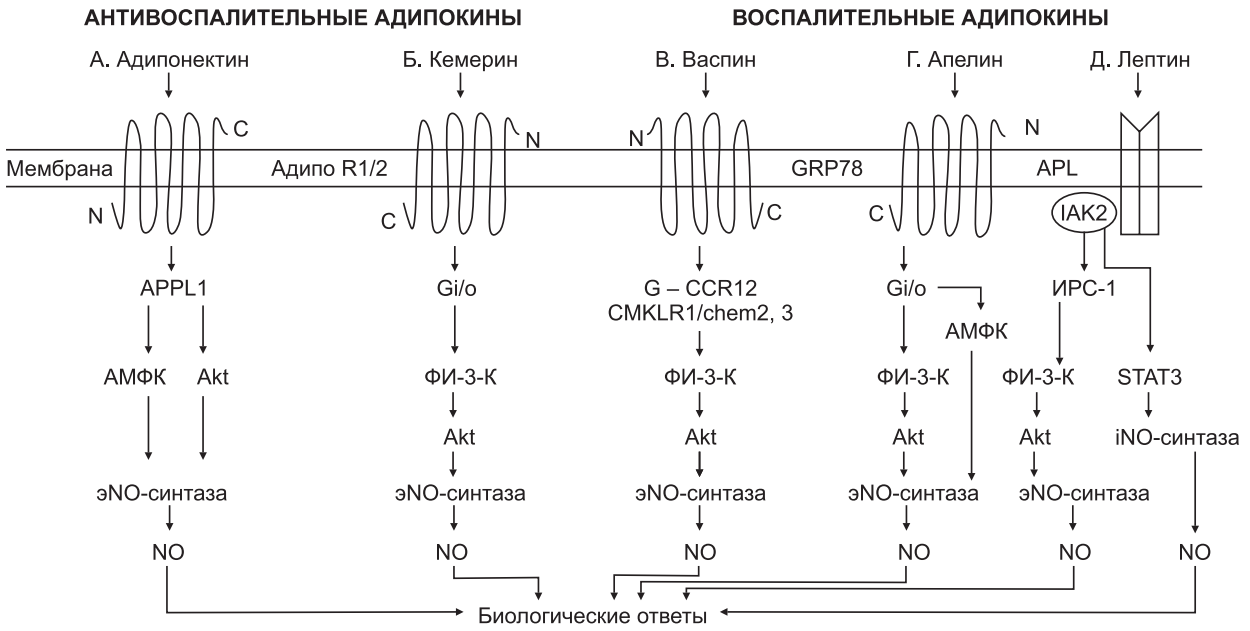


Рис. 1. Участие антивоспалительных (адипонектин, кемерин, васпин) и воспалительных (апелин, лептин) адипокинов, сопряженных с рецепторами, в регуляции эндотелиальной NO-синтазы при развитии метаболического синдрома. **А – адипонектин:** АдипоR1 – адипонектиновый рецептор 1-го типа; APPL1 – адапторный белок; Akt – серин-треониновая протеинкиназа; eNOS – эндотелиальная NO-синтаза; ФИ-3-К – фосфатидилинозитол-3-киназа; АМФК – 5´-АМФ-активируемая протеинкиназа. **Б – кемерин:** рецептор кемерина; Gi/o – ГТФ-связывающие белки ингибирующего и о- типов. **В – васпин:** GR78 – рецептор васпина; G-белки – ГТФ-связывающие белки типа CCR12 или CMKIR/chem2, 3. **Г – апелин:** APJ – рецептор апелина, относится к рецепторам серпантинного типа; Gi – гетеротримерные ГТФ-связывающие белки ингибирующего типа. **Д – лептин:** после связывания гормона рецептор лептина, пронизывая клеточную мембрану, взаимодействует с янус-киназой 2 (JAK2); далее происходит либо фосфорилирование сигнального переносчика и активатора транскрипции 3 (STAT3) и последующая активация индуцибельной NO-синтазы (иNO-синтаза), либо активация другого сигнального пути – JAK2 – путём взаимодействия с инсулинрецепторным субстратом (ИРС-1), активации ФИ-3-К

Fig. 1. Participation of anti-inflammatory (adiponectin, chemerin, vaspin) and inflammatory (apelin, leptin) adipokines associated with receptors in the regulation of endothelial NO-synthase in the development of metabolic syndrome. **A – adiponectin**: АдипоR1 – adiponectin receptor type 1; APPL1 – adaptory protein; Akt – serine-threonine protein kinase or protein kinase B; eNOS – endothelial NO-synthase; ФИ-3-К – phosphatidylinositol-3-kinase; АМФК – AMP-activated protein kinase. **Б** – **kemerin**: chemerin receptor; Gi/o – GTP-binding proteins of the inhibitory and o-types. **B – vaspin**: GR78 – vaspin receptor; G-proteins – GTP-binding proteins of the CCR12 or CMKIR/chem2, 3 type. **Г – apelin**: APJ – apelin receptor, refers to serpentine-type receptors; Gi – heterotrimeric GTP-binding proteins of the inhibitory type. **Д – leptin**: after binding of the hormone leptin receptor, penetrating the cell membrane, interacts with Janus kinase 2 (JAK2); next, or phosphorylation of the signal carrier and activator of transcription 3 (STAT3) and subsequent activation of inducible NO-synthase (иNO-синтаза); or activation of other signaling pathways – JAK2; interacts with insulinization substrate (ИРС-1), activates phosphatidylinositol-3-kinase

Изменения биологических ответов адипокинов при метаболическом синдроме

Адипонектин: резкое снижение уровня адипонектина в крови больных МС приводит к уменьшению расслабления сосудов, нарушению регуляции метаболизма печени и скелетных мышц. Кемерин: увеличение уровня кемерина при МС приводит к нарушению функции эндотелия, дефектам в регуляции адипогенеза, увеличению кровяного давления, нарушениям метаболизма липидов и глюкозы. Васпин: увеличение уровня васпина при МС, особенно у мужчин, может привести к увеличению апоптоза и снижению пролиферации. Апелин: увеличение уровня апелина при МС приводит к нарушению чувствительности к инсулину, увеличению инсулиновой резистентности, повышает содержание в крови и тканях ЖК. Лептин: при МС увеличивается уровень лептина, что приводит к гиперлептинемии, которая резко тормозит сосудорасслабляющее действие лептина (см. табл. 2).

Эти и другие авторы показали, что оба рецептора структурно отличаются от большинства рецепторов, пронизывающих мембрану 7 раз. Отличия состоят как в локализации концов молекулы: N-конец – цитозольный, С-конец – внеклеточный, – но также не обнаруживается и сопряжения этих рецепторов с ГТФ-связывающими белками (G-белками). К сожалению, механизмы сигнальной трансдукции и сигнальные пути исследованы ещё недостаточно [21, 73]. Так, связывание адипонектина с рецептором (Адипо-R1) в большинстве случаев приводит к взаимодействию лиганд-активированного рецептора с адапторным белком, называемым APPL1, и его фосфорилированию. В свою очередь APPL1 опосредует перекрестное взаимодействие между адипонектиновыми и инсулиновыми сигнальными путями через фосфорилирование Akt и активацию эNO-синтазы, индуцирует функциональное взаимодействие между инсулиновым рецептором, ИРС-1/-2-белками и ФИ-3-К, важнейшими трансдукторами инсулинового сигнала (рис. 1 (А)). Кроме того, есть работы, показывающие, что метаболические функции адипонектина в скелетных мышцах и печени может опосредовать активация 5-АМФ-зависимой протеинкиназы (АМФК), и далее наблюдается фосфорилирование этой киназой эNO-синтазы (рис. 1 (А); табл. 2). Наряду с этим адипонектин подавляет развитие атеросклероза в сосудистой стенке через различные антивоспалительные эффекты. Найдена обратная корреляция между уровнем адипонектина в плазме, степенью ожирения, инсулиновой резистентностью, сниженной толерантностью к глюкозе, дислипидемией и атеросклерозом [21, 73].

При висцеральном ожирении и МС уровень адипонектина в плазме сильно снижается. Современные исследования показали, что МС, вызванный высокожировой диетой, приводит к адипонектиновой резистентности, для которой характерны: снижение стимулируемого адипонектином образования NO за счёт уменьшения фосфорилирования эNO-синтазы при участии АМФК или Akt и увеличение влияния адипонектина на анти-TNFα-эффект [21].

Адипонектин регулирует липидный метаболизм, в частности, вызывая увеличение ЛПВП и снижая уровень ТГ. Отношения между адипонектином и ЛПВП частично объясняют защитную его роль при ССЗ и положительные изменения его уровня при диете или тренировке. Выявлено снижение глобулярного адипонектина у пациентов с ожирением, имеющих инсулиновую резистентность и гиперинсулинемию. В культуре человеческих эндотелиальных клеток глобулярный адипонектин увеличивает активность АМФК. Адипонектиновая резистентность к глобулярному адипокину в артериях не приводит к инсулин-вызванному расслаблению сосудов при инактивации ERK1/2, и при действии ингибитора АМФК, а также при генетической делеции АМФКα2 происходит сильное расслабление сосудов, вызванное инсулином. Делеция АМФКα2 отменяет фосфорилирование эNO-синтазы по Ser1177, опосредованное инсулином. Подтверждено, что дефицит АМФКα2 снижает чувствительность к инсулину, что сопровождается уменьшением объёма крови в микрососудах в ходе гиперинсулинемии *in vivo*. Таким образом, глобулярный адипонектин в ходе гиперинсулинемии регулирует активность АМФКα2, что определяет баланс между NO и активностью эндотелина-1 в условиях мышечной резистентности артерий. Эти данные предполагают механизм, связанный со снижением сигналинга глобулярного адипонектина → АМФК → эNO-синтаза при инсулиновой резистентности, что приводит к ухудшению перфузии органов [73]. Снижение уровня адипонектина в гипертрофированных адипоцитах негативно коррелирует с хроническими маркерами воспаления при МС. Поляризация макрофагов является ключевым определителем, регулирующим экспрессию рецептора адипонектина – АдипоR1/R2 – и дифференцированный воспалительный ответ макрофага на адинектин при МС. Таким образом, снижение уровня адипонектина также ухудшает экспрессию его рецепторов, приводя к снижению связывания адипонектина с рецептором и ухудшению его влияния. В то же время снижение экспрессии рецепторов АдипоR1/R2, несмотря на нормальный и даже высокий уровень адипонектина, приводит к уменьшению пострецепторной сигнализации и может отрицательно изменить эффективность действия этого адипокина. Следует отметить, что рецептор АдипоR2 способен блокировать сигнал адипонектина, конкурентно взаимодействуя с АдипоR1, и также является важным медиатором адипонектин-зависимой инсулиновой десенситизации. Сочетание адипонектиновой и инсулиновой резистентности приводит к образованию порочного цикла [22]. Выявляется даунрегуляция рецепторов адипонектина при высокожировой диете у пациентов с МС и ожирением. Фактически резистентность к адипонектину развивается очень быстро после приёма насыщенных ЖК. Это метаболическое нарушение не обусловлено снижением концентрации белка рецептора AdipoR1 [23]. Так, в абдоминальной ЖТ экспрессия АдипоR2 снижена при МС, а экспрессия рецепторов АдипоR1 не изменяется. При адипонектиновой резистетности может выявляться повышенный уровень адипонектина, что является компенсаторным ответом в условиях необычного дисбаланса между инсулиновой резистентностью и нечувствительностью к адипонектину. Следует отметить, что разные механизмы функционируют при адипонектиновой резистентности на разных стадиях ожирения [22]. Тем не менее, гиперлипидемия, вызванная высокожировой диетой, прямо ведёт к резистентности адипонектина. При абдоминальном ожирении и атеросклерозе наблюдается уникальное снижение в сыворотке уровня адипонектина и увеличение содержания лептина [19, 20, 74].

Дисбаланс между лептином и адипонектином является важным маркером риска ССЗ в патогенезе МС. Следует отметить, что адипонектин способен увеличивать экспрессию мРНК, белка и активность иNO-синтазы в печени, что приводит к возрастанию уровня NO в этих клетках. Адипонектин ослабляет пролиферацию в печени, но не влияет на апоптоз с участием NO. При сильном печёночном фиброзе у мышей, лишённых адипонектина, наблюдается снижение уровня иNO-синтаза/NO по сравнению с диким типом, в то время как NO-донор восстанавливает эти изменения. Эксперименты показали, что активация адипонектином иNO-синтазы/NO системы опосредуется с помощью следующего каскада: адипонектин → АдипоR2 → АМФК → JNK/Erk1/2 → NF-kB [22]. В данной работе показано, что адипонектин подавляет функции печёночных непаренхимальных клеток, ограничивая развитие фиброза печени по крайней мере с участием вызываемого адипонектином освобождения NO. В другой работе было продемонстрировано, что контроль эндотелиальной функции вызывается влиянием мономерного адипонектина. При этом осуществляется модуляция освобождения NO и переносчиков ионов кальция. Этот сигналинг сопряжён с Akt, Erk1/2 и p38MAPK, то есть с киназами, расположенными ниже рецептора адипонектина [75]. Показано, что образование NO существенно при МС и ожирении у мышей, вызываемом высокожировой диетой [76]. Обнаружено, что эта диета не влияет на экспрессию эNO-синтазы, но ведёт к рассопряжению, выявляя снижение активности фермента. В качестве механизма рассопряжения эNO-синтазы обнаружено увеличение активности аргиназы и снижение уровня L-аргинина в периваскулярной ЖТ [77]. Дисфункцию сосудов при ожирении и МС можно предотвратить при добавлении в пищу L-аргинина и/или при ингибировании аргиназы. Кроме того, другие авторы [74] обнаружили, что введение глобулярного адипонектина может восстановить эффект инсулина и улучшить его метаболическое влияние с участием АМФК и NO-зависимых механизмов у самцов крыс при инсулиновой резистентности, вызванной высокожировой диетой. Таким образом, адипонектин в современной литературе рассматривается как ключевой регулятор чувствительности к инсулину и тканевого воспаления. Показано его прямое действие на печень, скелетные мышцы и сосуды, что приводит к улучшению чувствительности печени к инсулину через усиление регуляции активности АМФК и снижение воспаления сосудов [23]. Другие исследования показали, что высокомолекулярные комплексы действуют

преимущественно на печень [77]. Было показано, что секреция и циркулирующий уровень адипонектина пропорциональны содержанию жира в теле [26]. Концентрация адипонектина снижается у людей, страдающих МС, СД2 и заболеваниями коронарных артерий [23]. Адипонектин препятствует многим эффектам фактора некроза опухоли α (TNF-α). TNF-α в свою очередь – антагонист этого адипокина и подавляет образование адипонектина [24, 25]. Кроме того, секреция адипонектина из адипоцитов может быть увеличена тиазолидинедионинами (thiazolidinediones), которые являются антагонистами TNF-α. Таким образом, при снижении уровня адипонектина обнаруживается механизм, вызывающий инсулиновую резистентность и воспаление, который усиливает резистентность при действии TNF-α и подавляет её при действии тиазолидинедионинов [25]. АдипоR1 экспрессируется преимущественно в скелетных мышцах и оказывает заметное влияние через активацию АМФК, что способствует окислению липидов. АдипоR2 экспрессируется преимущественно в печени, где увеличивается чувствительность к инсулину и снижается жировая дегенерация с участием АМФК [17, 25, 26]. Кроме того, Т-кадгерин, который экспрессируется в эндотелии и гладких мышцах, был идентифицирован как белок, связывающий адипонектин в виде высокомолекулярных адипонектиновых мультимеров. Установлен низкий уровень адипонектина в людей, страдающих МС, и показан благоприятный полезный эффект увеличения уровня этого адипокина у животных, что приводит к мысли о том, что адипонектин-замещающая терапия полезна при инсулиновой резистентности и связанного с ней МС [17].

Следует отметить, что важен баланс между лептином и адипонектином, а дисбаланс лептин/адипонектин связан с увеличением окружности талии (абдоминальное ожирение), снижением сосудистого ответа на ацетилхолин, увеличением вазоконстрикции в ответ на ангиотензин II. Лептин и адипонектин имеют противоположное влияние на воспаление и инсулиновую резистентность. Лептин, увеличивая концентрацию воспалительных адипокинов (TNF-α и ИЛ-6), усиливает инсулиновую резистентность и СД2, а адипонектин, обладая антивоспалительными свойствами, снижает экспрессию и освобождение воспалительных медиаторов иммунитета. Кроме того, при абдоминальном или висцеральном ожирении человека и атеросклерозе наблюдается уникальное снижение в сыворотке уровня адипонектина и увеличение содержания лептина. Эти многообразные влияния осуществляются за счет присутствия разных мультимерных изоформ адипонектина в эндотелиальных клетках. В другой работе обнаружено, что уровень общего адипонектина тесно связан с риском развития МС и СД2 [23, 74]. Показано, что при МС наблюдается снижение высокомолекулярных многомерных изоформ адипонектина, что приводит к торможению у пациентов в сосудах сигнального пути АМФК/эNO-синтаза [23].

Исследования развития МС у пожилых пациентов выявили низкий уровень адипонектина и очень высокий уровень маркеров окислительного стресса и СС3. Значительная положительная корреляция найдена между адипонектином сыворотки и ЛПВП и отношением общего холестерола к липопротеинам низкой плотности (ЛПНП). Кроме того, уровень адипонектина в какой-то мере определяет индекс инсулиновой резистентности ($r = –0,348$; $p < 0,05$), пероксидацию липидов в сыворотке ($r = –0,337$; $p < 0,05$) и антиоксидантные свойства. Напротив, адипонектин негативно сопряжён с концентрацией мочевой кислоты ($r = –0,310$; $p < 0,05$) [23, 24]. Болезни липидного метаболизма, дисфункция эндотелия и воспаление увеличивают риск развития СС3. Положительная корреляция наблюдалась между С-реактивным белком и NO у оперированных больных и при хронической недостаточности почек [25]. Развитие же МС приводит к резкому снижению уровня адипонектина, рассопряжению и снижению активности эNO-синтазы, при этом практически не затрагивается изменение экспрессии фермента [19, 22, 73]. Кроме того, в запущенных случаях развития МС увеличивается также активность иNO-синтазы [77].

Таким образом, в регуляции адипонектином L-аргинин-NO-синтаза-NO сигнального пути в норме участвует преимущественно эNO-синтаза. В печени и в скелетных мышцах адипонектин действует при активации АМФК или Akt киназы, которые затем фосфорилируют и активируют эNO-синтазу (рис. 1 (A)). Эффект адипонектина осуществляется в большинстве случаев по следующему сигнальному пути: адипонектин → АдипоR1 → адапторный белок APPL-1 → фосфорилирование и активация Akt → фосфорилирование и активация eNOS → биологические эффекты (рис. 1 (A); табл. 2). При развитии МС уровень адипонектина снижается, и действие его в вышеприведенных метаболических каскадах сильно ослабляется [25, 26].

Адиполин

Адиполин синтезируется ЖТ и в некоторых статьях называется adipolin/CTRP12 и паралогом адипонектина [27, 28]. Этот адипокин чувствителен к инсулину и циркулирует в плазме человека в двух изоформах: полной длинноцепочечной (40 kDa) и укороченной (25 kDa); в основном преобладает вторая изоформа. При участии адиполина наблюдается усиление сигнала инсулина через фосфорилирование и активацию следующих регуляторных белков – инсулинрецепторных субстратов (ИРС-1/2), Akt – и митоген-активируемой киназы (MAPK) и эNO-синтазы [29] (рис. 2 (B); табл. 2). Кроме того, обнаружена негативная корреляция между адиполином и провоспалительным гормоном резистином. Уровень адиполина в плазме снижается при ожирении мышей, а введение адиполина приводит к улучшению чувствительности к инсулину и повышению толерантности к глюкозе при ожирении человека и у моделей животных с СД2 [30].

Адиполин способен ингибировать инфильтрацию макрофагов в ЖТ и может снижать уровень воспалительных цитокинов, что позволяет предположить его антивоспалительную роль при ожирении и при состояниях инсулиновой резистентности [29].

Изучение функций адиполина у человека показало, что происходит увеличение экспрессии и уровня адиполина в ЖТ под влиянием метформина и агониста инсулинчувствительного рецептора γ, активируемого пероксисом-пролифератором. При этом эффект агониста был подавлен при использовании антагониста – GW9662. В результате авторы пришли к заключению, что увеличение содержания адиполина в плазме можно рассматривать в качестве лечебного фактора для восстановления инсулинрезистентных состояний [30–35].

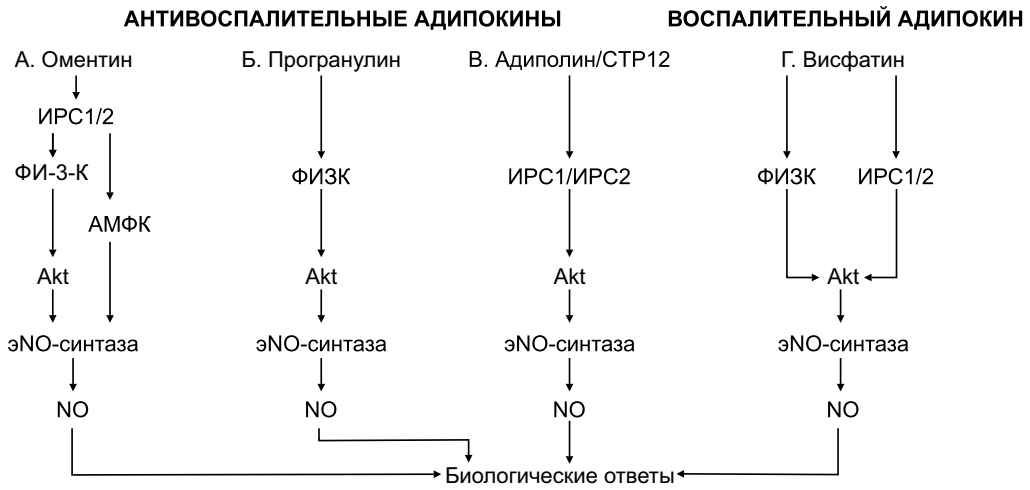


Рис. 2. Роль антивоспалительных (оментин, програнулин, адиполин) и воспалительного (висфатин) адипокинов в регуляции эндотелиальной NO-синтазы при развитии метаболического синдрома. **А – оментин,** взаимодействует с инсулиновым рецептором, а затем с инсулинорецепторными субстратами-1 (ИРС-1): ФИ-3-К – фосфатидилинозитол-3-киназа; Akt – серин-треониновая протеинкиназа; eNOS – эндотелиальная NO-синтаза; АМФК – 5′-АМФ-активируемая протеинкиназа. **Б – програнулин**. **В – адиполин:** ИРС-1/ИРС-2 – инсулинрецепторные субстраты-1/2. **Г – висфатин**

Fig. 2. The role of anti-inflammatory (omentin, progranulin, adipoline) and inflammatory (visfatin) adipokines in the regulation of endothelial NO-synthase in the development of metabolic syndrome. **А** – **omentin** interacted with the insulin receptor, and then with the insulin-receptor substrates-1 (ИРС-1); ФИ-3-К – phosphatidylinositol-3-kinase; Akt – serine-threonine protein kinase or protein kinase B; eNOS – endothelial NO-synthase; АМФК – AMP-activated protein kinase. **Б** – **progranulin**. **В** – **adipoline**: ИРС-1/ИРС-2 – insulin-receptor substrates-1/2. **Г – visfatin**

Изменения биологических ответов адипокинов при метаболическом синдроме

Падение уровня оментина при МС приводит к снижению активности эNO-синтазы и NO, что вызывает усиление воспаления эндотелия сосудов, увеличение апоптоза, ишемии и реваскуляции. Патогенез МС вызывает увеличение экспрессии и концентрации програнулина в крови, что приводит к двойственному действию: ухудшению сигнала инсулина, усилению инсулиновой резистентности и снижению поглощения глюкозы, и в то же время програнулин способен увеличивать расслабление сосудов, подавляя воспалительный эффект, что уменьшает действие ишемии. Адиполин ингибирует инфильтрацию макрофагов в жировой ткани и снижает уровень воспалительных цитокинов. Возрастание уровня висфатина в крови при МС вызывает воспалительные изменения вен и артерий и нарушения регуляции функций эндотелия (см. табл. 2).

Оментин

Ометин был обнаружен в 2003 году; он преимущественно синтезируется строма-сосудистой фракцией висцеральной ЖТ. В подкожной ЖТ синтез оментина очень низкий. Считается, что оментин является первым известным агентом, демонстрирующим значительные различия в генной экспрессии между двумя основными депо запасания жира в организме (подкожной и висцеральной ЖТ). Он имеет молекулярную массу 38–40 кДа и относится к антивоспалительным адипокинам. В тканях имеются два гена оментина, локализованных в 1q22–q23-хромосомной области, которые синтезируют оментин-1 и оментин-2. У человека оментин-1 является преобладающей изоформой в висцеральной ЖТ и в плазме (физиологическая концентрация оментина-1 у человека варьирует в пределах от 100 до 800 нг/мл). Известно, что экспрессия и секреция оментина-1 снижается при ожирении, инсулиновой резистентности, МС и воспалительных состояниях [36]. Основные ткани, вовлечённые в эффекты оментина, – печень, скелетные мышцы, ПЖЖ, мозг, кишечник. Следует отметить, что рецепторы оментина до сих пор не выявлены. Многие авторы придерживаются мнения, что оментин обладает инсулинчувствительными свойствами, поскольку способен активировать Akt-сигнальный путь (рис. 2 (А); табл. 2). В работе японских авторов показано, что недостаток оментина в организме связан с патогенезом эндотелия сосудов при воспалительных состояниях. Действие оментина (300 нг/мл; 20 мин) на эндотелиальные клетки человека приводит к фосфорилированию АМФК по Thr-172 и эNO-синтазы по Ser-1177 (рис. 2 (А)), увеличивает уровень цГМФ и в то же время существенно ингибирует JNK и подавляет экспрессию циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) с участием TNF. Ингибирующий эффект оментина при действии на TNF-вызываемую экспрессию ЦОГ-2 можно блокировать ингибитором NO-синтаз. Эти результаты впервые показали, что оментин, играя противовоспалительную роль, препятствует TNF-вызванной экспрессии ЦОГ-2 в эндотелии сосудов. Оментин ингибирует индукцию ЦОГ-2 и предотвращает активацию JNK преимущественно с участием АМФК/эNO-синтаза/NO-пути [37]. В другой работе имеются экспериментальные доказательства критической роли оментина-1 в сохранении нормального метаболизма, чувствительности к инсулину. Он имеет антивоспалительное и антиатеросклеротическое влияние и защитный эффект на кардиососудистую ткань через сигнальный путь, в котором задействованы АМФК / ядерный фактор кВ / митогенактивируемые ПК (ERK, JNK и p38). Концентрация оментина-1, экспрессируемого адипоцитами, снижается при действии глюкозы/инсулина и стимулируется фактором роста фибробластов-21 и дексаметазоном [38]. Клинические исследования продемонстрировали, что оментин-1 может рассматриваться в качестве маркеров ожирения, инсулиновой резистентности, СД, МС и атеросклеротических ССЗ при воспалительных и онкогенных заболеваниях. Сниженный уровень оментина в тканях в основном

связан с вышеперечисленными заболеваниями. Наряду с этим было показано, что внутрибрюшинное введение оментина (18 мкг/кг/сутки) в течение 14 суток выравнивает повышенное артериальное давление у человека. В то же время снижение веса, безжировая диета, аэробная тренировка и влияние атовастатина или антидиабетических лекарств (метформин, пиоглитазон, и эксенатид) являются эффективными для увеличения концентрации циркулирующего оментина-1 [37]. При действии L-NAME, ингибитора NO-синтаз, блокируется ответ оментина на эндотелиальные клетки, выраженный в подавлении оментином апоптотической активности. В некоторых типах клеток, и в том числе в эндотелиальных клетках, функция АМФК может быть расположена выше каскада, сопряженного с ФИ-3-К-Akt-путём [38]. Другие авторы полагают, что оментин стимулирует фосфорилирование эNO-синтазы с участием ФИ-3-К, а затем фосфорилирование Akt по Ser-473 и последующее фосфорилирование эNO-синтазы по Ser-1177 и её активацию [39].

Исследования функций оментина у человека немногочисленны. При изучении влияния оментина на АМФК-сигналинг в эндотелии человека показано увеличение фосфорилирования фермента по Thr-172, что может демонстрировать участие активации АМФК в оментин-эNO-синтазной регуляторной оси, влияя на функцию эндотелия при ишемии и усиливая процессы реваскуляции. При подавлении активации АМФК отсутствуют вызванная оментином Akt-стимуляция и увеличение дифференцировки эндотелия. В этом случае можно представить стимуляцию оментином фосфорилирования эNO-синтазы эндотелия в виде следующей последовательности оментин → АМФК → ФИ3К → Akt → фосфорилирование эNO-синтазы по Ser-1177 и её активация [36, 37]. Кроме того, выявлены защитные функции оментина против вызванного липополисахаридом респираторного синдрома. Оментин подавляет воспаление и преодолевает легочный эндотелиальный барьер с участием Akt/эNO-синтаза-зависимого механизма. Терапевтическая стратегия восстановления и сохранения уровня оментина может нормализовать эти процессы [39].

Таким образом, оментин обладает инсулинчувствительными свойствами, активируя и Akt-, и АМФК-сигнальные пути, что приводит к фосфорилированию эNO-синтазы по Ser-1177 и увеличивает уровень цГМФ и в то же время существенно ингибирует JNK и подавляет экспрессию ЦОГ-2. При заболевании МС уровень оментина снижается. Недостаток оментина в организме связан с патогенезом эндотелия сосудов при воспалительных состояниях [37–39].

Патологическое снижение секреции и концентрации сывороточного оментина-1 у пациентов с МС и ожирением можно восстановить, используя снижение веса тела при низкоэнергетической диете и/или увеличение физической активности [37]. При изучении животных обнаружено, что оментин может регулировать аппетит за счет его нейромодуляторной роли в регуляции пептидергического и аминергического сигналинга. Кроме того, оментин увеличивает инсулинстимулируемый транспорт глюкозы, увеличивая фосфорилирование Akt [39].

Наряду с вышеизложенным в последнее время выделяют ещё другие инсулинчувствительные адипокины, к которым можно отнести програнулин, кемерин, васпин, висфатин и апелин.

Програнулин

Програнулин экспрессируется геном програнулина в ЖТ и секретируется из макрофагов в виде комплекса с аполипротеином А-1 (apolipoprotein A-I), который может играть роль стабилизатора атеросклеротических бляшек [40]. В современной литературе програнулин признается в качестве многофункционального регуляторного белка с нейропротекторными и антивоспалительными свойствами. Воспалительные свойства програнулина проявляются при ожирении, МС, инсулиновой резистентности и воспалении, а антивоспалительные – при ишемии, а также он обладает антиатерогенным влиянием [41–43]. Кроме того, програнулин усиливает защиту сосудистого эндотелия за счёт увеличения NO при активации Akt/эNO-синтазного каскада [41] (рис. 2 (Б); табл. 2). Дефицит програнулина изменяет конфигурацию ЛПВП, усиливая провоспалительную активность атеросклеротических повреждений, а увеличение уровня програнулина восстанавливает уровень тромбоцит активирующего фактора ацетилгидролазы, ЛПВП-связанной антиоксидантной молекулы, указывая на то, что програнулин может влиять на процесс атерогенеза [42, 43]. Увеличенное или избыточное образование програнулина приводит к резистентности этого адипокина и увеличению потребления пищи. Исследования влияния програнулина на модели крыс с ишемией миокарда *in vivo* продемонстрировали защитный эффект адипокина при активации ФИ-3-К/Akt/эNO-синтазного пути (рис. 2 (Б); табл. 2). Антиапоптотический, антивоспалительный и инотропный механизмы можно приписать к кардиозащитным эффектам програнулина у этой модели крыс [40]. В то же время, несмотря на положительную роль програнулина при ишемии миокарда, механизмы участия програнулина в развитии сердечной недостаточности у моделей крыс требуют дальнейшего изучения [40, 41].

При ожирении и МС экспрессия и концентрация програнулина в крови увеличиваются, что свидетельствует о наличии инсулиновой резистентности. При МС програнулин ухудшает сигнал инсулина и снижает вызванное инсулином поглощение глюкозы *in vitro* и *in vivo*. С другой стороны, програнулин может увеличивать расслабление сосудов, подавляя воспалительный эффект, что обуславливает нейропротекцию и уменьшает действие ишемии. Таким образом, програнулин может оказывать на метаболизм как отрицательный, так и положительный эффект [42, 43].

Кемерин

В 2006 г. впервые было обнаружено, что адипоциты человека синтезируют кемерин. Он синтезируется в виде неактивного белка с молекулярной массой 18 kDa и подвергается расщеплению сериновой протеазой с С-конца до активного белка с молекулярной массой 16 kDa. Кемерин является лигандом для мембранных рецепторов, сопряжённых с ГТФ-связывающим белком – CMKLR1/ChemR23, GPR1, и CCRL2, и регулирует адипогенез, гомеостаз глюкозы, метаболизм липидов и некоторые функции почек [44]. Уровень активного кемерина в сыворотке здорового человека – 4,4 нмоль/мл. Концентрация увеличивается до 7 нмоль/мл при разных формах рака и до 22 нмоль/мл в синовиальной жидкости при артрите. Показано, что введение кемерина нормализует толерантность к глюкозе, снижает уровень сывороточного инсулина и поглощение глюкозы при

ожирении, МС или СД2 [45–47]. Установлено, что кемерин вовлечен в кардиососудистые осложнения, сопряженные с ожирением и МС. Кемерин оказывает прямое влияние на мышцы сосудов, усиливая ответ сосудов на сократительный стимул. В то же время NO/цГМФ-сигнальный путь участвует в дисфункции сосудов при ожирении и МС [44], поэтому авторы предлагают гипотезу о том, что кемерин вызывает дисфункцию сосудов, снижая NO/цГМФ-каскад. В аорте крысы Wistar при действии кемерина (0,5 или 5 нг/мл – 1 час) снижается расслабление сосудов, вызванное ацетилхолином (АХ), нитропруссидом натрия или BAY 412272 – стимулятором растворимой гуанилатциклазы. При действии кофактора NO-синтаз тетрагидробиоптерина и супероксиддисмутазы блокируется эффект кемерина на расслабление аорты, вызванное АХ. Фосфорилирование эNO-синтазы увеличивалось у крыс, обработанных кемерином. Однако фермент был представлен в основном в неактивной мономерной изоформе, так как наблюдалось снижение отношения димер/мономер для эNO-синтазы, а фермент активен в виде димера. Кемерин снижал уровень мРНК скорость-лимитирующего фермента – ГТФ-циклогидролазы I, синтезирующей кофактор для синтазы – тетрагидробиоптерин. При инкубации кусочка сосуда с кемерином снижается уровень NO и увеличивается образование активных форм кислорода (АФК). В то же время экспрессия растворимой гуанилатциклазы и содержание цГМФ уменьшались при действии кемерина, тем самым снижалось расслабление сосудов. Эти эффекты устранялись при добавлении тетрагидробиоптерина и ингибитора синтаз L-NAME. Так, механизм влияния кемерина на сосуды включал рассопряжение эNO-синтазы, увеличивал генерацию активного кислорода и подавлял активность растворимой гуанилатциклазы [48]**.** Большая часть этих нарушений является следствием увеличения ожирения и, как следствие, нарастания инсулиновой резистентности и воспаления [45–49].

В другой работе показано, что кемерин участвует в регуляции давления крови. Изучалась реактивность легочной артерии при действии кемерина, когда на сосуды воздействуют фенилэфрин, серотонин или эндотелин-1. При действии кемерина сокращалась лёгочная артерия, лишённая эндотелия, в то время как сократительного ответа артерии с эндотелием не наблюдалось. Кемерин усиливал сокращение сосудов, вызванное фенилэфрином, серотонином, эндотелином-1. Ингибитор активности NO-синтазы (L-NAME) не препятствовал расслаблению артерий с участием кемерина. Кемерин или ингибитор растворимой гуаниалатциклазы (ODQ) только частично снижали АХ расслабление лёгочной артерии, а при совместном действии кемерина и ODQ расслабление отсутствовало. Ингибитор образования АФК – апоцинин – частично или полностью препятствовал эффекту кемерина. В этих двух типах артерий кемерин снижал вызванную АХ продукцию NO, а также экспрессию эNO-синтазы и иNO-синтазы. Было показано, что кемерин потенцирует ответы сосудов на вазоконстрикторы легочной артерии или аорты трахеи и ухудшает расслабление артерии АХ, а к участвующим механизмам можно отнести NO-сигналинг и окислительный стресс [49, 50]. Следует отметить, что кемерин может активировать несколько сигнальных путей. Так, имеются данные о том, что он способен оказывать влияние на кардиососудистые функции, воздействуя, в частности, на экспрессию генов ФИ-3-К изоформ α или γ, на экспрессию эNO-синтазы и уровень цГМФ [78] (рис. 1 (Б); табл. 2). Показано, что кемерин вызывает синтез NO посредством активации ФИ-3-К/Akt/эNO-синтазного пути. Активация ФИ-3-К приводит к фосфорилированию Akt, что активирует эNO-синтазу и увеличивает концентрацию NO. Оксид азота активирует растворимую гуанилатциклазу, увеличивая уровень цГМФ, и он стимулирует цГМФ-зависимую ПК. Таким образом, кемерин обладает как воспалительным, так и антивоспалительным действием в определённых условиях и вовлечён в изменения инсулиновой резистентности в патогенезе МС и СД2 [78].

Васпин

Васпин (серпин) с молекулярной массой 47 кДа и 415 АКО синтезируется ЖТ и играет роль сигнального медиатора в апоптозе. Он может стимулировать созревание и дифференцировку адипоцитов, а также является серинпротеазным ингибитором с инсулинчувствительным эффектом и способен осуществлять связь между ожирением, инсулиновой резистентностью и МС [51]. Васпин в клетках Лейдинга взаимодействует с GRP78 рецептором [51, 52]. Для васпина характерно возрастное увеличение концентрации независимо от пола и инсулиновой резистентности. Средний уровень васпина у здоровых людей (нг/мл) в 19–35 лет составляет 1,01 ± 2,25, в 36–50 лет – 1,67 ± 2,95, в 51–65 лет – 2,05 ± 3,46, в 66–80 лет – 2,40 ± 3,06. Васпин снижает апоптоз и играет важную антиокислительную роль в онкогенных клетках. Апоптоз подавляется при действии васпина, видимо, за счёт снижения уровня NO и супероксидных анионов [52]. Защитная роль васпина проявлялась в виде увеличения жизнеспособности клеток и пролиферации [53].

Следует подчеркнуть, что уровень васпина существенно выше у пациентов с ожирением особенно при наличии МС, по сравнению пациентами с нормальным весом [55, 56]. Обнаружено снижение концентрации васпина в сыворотке больных при разных стратегиях снижения веса тела, что укрепляет положение о связи МС с ожирением и васпином. Обнаружено, что васпин способен восстанавливать аппетит, снижая уровень воспалительных адипокинов, и его эффект может быть благоприятен при улучшении инсулиновой резистентности [52, 55]. Следует отметить, что пока нет полной ясности в вопросе контроля гликемии и изменения уровня васпина в сыворотке крови. Может быть, это связано с тем, что о механизмах действия васпина ещё мало известно [52] (рис. 1 (В); табл. 2). Надо сказать, что васпин является членом серпинового семейства, и механизм его действия базируется на стабилизации протеазносерпинового комплекса. Так, найдена существенная корреляция между уровнем васпина и контролем гликемии у мужчин, болеющих МС. Уровень васпина в сыворотке мужчин с МС был значительно выше по сравнению со здоровыми пациентами. В то же время никаких различий не найдено у женщин при заболевании МС и без него [53].

В последующих исследованиях стало ясно, что образование васпина не ограничивается ЖТ, а он может синтезироваться и выявляться в коже, желудке, гипоталамусе крыс и островках ПЖЖ [56]. Введение васпина мышам с ожирением улучшает чувствительность к инсулину и толерантность к глюкозе. Кроме того, как периферическое, так и церебровентрикулярное введение

васпина разным мышиным моделям вызывает снижение уровня сахара в крови и снижение поглощения пищи. Эти полезные влияния васпина могут быть опосредованы за счёт его способности ингибировать действие калликрейна 7 в качестве его как мишени протеазы, поскольку васпин является серинпротеазным ингибитором. Важно, что *in vitro*, калликрейн 7 способен влиять на распад и деградацию инсулиновых цепей А и В, а васпин подавляет действие калликрейна 7 по классическому серпиновому механизму с высокой специфичностью *in vitro,* и поэтому васпину приписывают возможность снижения деградации инсулина в крови. Кроме того, комплексы васпин – калликрейн 7 были обнаружены в плазме человека, и оба белка коэкспрессируются в β-клетках ПЖЖ мышей. В связи с этим улучшение метаболизма глюкозы при обработке васпином может опосредовать увеличение уровня инсулина в плазме [55].

Наряду с вышеприведёнными данными изучали взаимодействие между васпином и лептином в отношении регуляции L-аргинин-NO-синтаза-NO сигнального каскада при МС. Было показано, что дозозависимое ингибирующее действие васпина за счёт усиления экспрессии генов лептиновых рецепторов под влиянием лептина, а также активация эNO-синтазы и увеличение секреции NO приводили к снижению воспаления в хондроцитах [56]. Эти результаты показали возможность взаимодействия между двумя адипокинами – васпином и лептином – на L-аргинин-NO-синтаза-NO сигнальный каскад. В то же время требуются дальнейшие исследования для объяснения этих многообещающих данных по действию васпина на метаболизм у человека.

Висфатин

Висфатин – полипептид с молекулярной массой 52 кДа, синтезируется в основном висцеральной жировой тканью и был открыт и назван так в 2005 г. Он относится как к воспалительным адипокинам, так и к инсулинчувствительным. Висфатин – это колониестимулирующий фактор прекурсоров В-клеток (preB cell colony-enhancing factor), представляет собой многофункциональный белок, способный оказывать влияние и как сигнальная молекула, и как фермент – никотинамидфосфорибозилтрансфераза. К сожалению, ещё не обнаружен специфический рецептор для висфатина, но в некоторых работах показано, что висфатин подобно инсулину *in vitro* увеличивает поглощение глюкозы адипоцитами и миоцитами, усиливает дифференцировку адипоцитов, подавляет освобождение глюкозы из гепатоцитов. Инсулиноподобные эффекты висфатина наблюдаются при фосфорилировании ИРС-1 и ИРС-2 (рис. 2 (Г); табл. 2). Любопытно, что висфатин подобно инсулину имеет сродство к рецептору инсулина, но по сравнению с инсулином он взаимодействует иначе с инсулиновым рецептором [57]. Интересно, что уровень висфатина в плазме увеличен при МС и СД2, в то время как уровень тощакового висфатина имеет тенденцию к снижению при сахарном диабете 1-го типа (СД1) [58, 59]. Ещё было показано, что уровень висфатина в плазме увеличивается при прогрессивном нарушении функции β-клеток ПЖЖ при СД2. Механизмы улучшения инсулинового сигналинга с участием висфатина ещё точно не установлены, однако уже показано участие его в стимуляции ФИ3К/Akt каскада (рис. 2 (Г)) и активации MAP-киназных ERK-зависимых путей, активируемых эндотелиальным фактором роста сосудов [60]. На клетках эндотелия человека показано, что функционирование ФИ-3-К/Akt сигнального пути приводит к увеличению экспрессии и активности эндотелиальной NO синтазы, увеличению образования NO и далее к увеличению синтеза и освобождения фактора клеточного роста эндотелиальных сосудов [59, 60]. Кроме того, этот путь вызывает пролиферацию эндотелия с участием ФИ-3-К и МАРК. Следует подчеркнуть, что эNO-синтаза играет критическую роль в сохранении сосудистого гомеостаза, поддерживая антивоспалительные и антитромботические эффекты, активно улучшая эндотелиальное восстановление, регенерацию и постнатальную нейроваскулизацию [60]. Обнаружено, что висфатин непосредственно увеличивает экспрессию и уровень белка эNO-синтазы с участием механизма, который служит фактором, регулирующим функции эндотелиальных клеток, как в венах человека, так и в эндотелии коронарных артерий. Можно считать, что биодоступность эNO-синтазы регулируется по крайней мере тремя различными механизмами: транскрипционным увеличением экспрессии эNO-синтазы, посттранскрипционной стимуляцией активности эNO-синтазы и снижением уровня АФК, опосредуемых распадом NO [58, 59]. Показано, что висфатин оказывает влияние на синтез NO в эндотелии, увеличивая стабильность синтеза мРНК эNO-синтазы и стимулируя посттранскрипционную мРНК эNO-синтазы. Учитывая, что фосфорилирование по Ser-1177 эNO-синтазы с участием Akt является критическим фактором активации этой синтазы, авторы ясно продемонстрировали, что висфатин активирует Akt-киназу, что ведёт к посттранскрипционной активации эNO-синтазы через фосфорилирование её по Ser-1177 (рис. 2 (Г); табл. 2) [60]. Оценивая роль ФИ-3-К-пути, который играет важную роль в регуляции активности эNO-синтазы при действии Akt, было показано, что ингибирование ФИ-3-К под влиянием LY-294002 приводило к подавлению фосфорилирования и снижению активации Akt с участием висфатина, что свидетельствовало об активации ФИ-3-К/Akt-каскада с участием висфатина (рис. 2 (Г)). Авторы продемонстрировали и более проксимальные сигнальные события: было показано, что в этом процессе участвует src-семейство тирозиновых киназ при действии висфатина. Известно, что МАРК также участвуют в регуляции эNO-синтазы наряду с активацией или в дополнение к ФИ-3-К/Akt-активации. Висфатин стимулировал фосфорилирование ERK1/2 и src-киназ как активаторов МАРК. Кроме того, активация МАРК важна и для фосфорилирования с участием висфатина Akt и эNO-синтазы. Akt и МАРК играют важную роль в регенерации и репарации эндотелия. Эти результаты показывают, что висфатин может модулировать биоприспособленность эNO-синтазы двумя путями и благоприятствовать ангиогенезу *ex vivo* и *in vivo* [60].

В дополнение к вышеприведённым функциям висфатин имеет ещё и адипокиновую функцию, поскольку, попадая в кровяное русло, он способен модулировать чувствительность к инсулину. Следует отметить, что этот эффект довольно противоречив: предполагается, что внеклеточный висфатин не имеет прямого инсулин мимикрирующего эффекта. Этот висфатин может регулировать секрецию инсулина в β-клетках ПЖЖ при модулировании NAD биосинтетической активности [58, 60].

Таким образом, современные исследования приписывают висфатину двойственную роль как внутриклеточного, так и внеклеточного регулятора сосудистой функ-

ции. Действительно он распространяет своё действие на период жизни гладкомышечных клеток. Кроме того, висфатин NAD-зависимым образом способствует достижению созревания фенотипа гладкомышечных клеток в качестве важной ступени в окончательном восстановлении пораженных артерий. Согласно данным, висфатин может быть благоприятным фактором в восстановлении гладкомышечных клеток и служить ограничителем отклонения от нормы при сосудистом ремоделировании. Однако всё же существует мало исследований, оценивающих роль висфатина в функционировании клеток эндотелия и полагающих, что он может действовать, улучшая функции эндотелия и поддерживая ангиогенез [59, 60].

Суммируя представленные данные, можно сказать, что нарушения функциональной активности висфатиновой системы приводят к разным патологиям, связанным с усилением воспалительных процессов, а именно к МС, разным формам артритов, а также ССЗ (инфаркт миокарда и атеросклероз), метаболическим и эндокринным заболеваниям (ожирение, МС и СД2). В условиях МС или ожирения уровень висфатина в крови устойчиво повышен, что зависит от продолжительности и тяжести МС, а также определяется гендерными различиями и возрастом больных. Можно предположить, что это увеличение уровня висфатина может носить в какой-то мере полезный адаптирующий или нейтрализующий характер, что показано на моделях животных с воспалением, МС и развитием атеросклероза [60].

Апелин

Апелин в современной литературе относится к инсулинчувствительным белкам. В геноме человека апелин кодируется геном APLN в хромосоме Xq 25–26 и экспрессируется в виде препроапелина (77 аминокислотных остатков (АКО)). Далее он подвергается сайт-специфическому гидролизу, давая несколько биологически активных форм апелина: апелин-36 – последовательность 42–77 АКО препроапелина; апелин-17 – 61–77 АКО препроапелина; апелин-13 – 65–77 АКО препроапелина, его производное – пироглутаминил-апелин-13. Две последние формы обладают более высокой биологической активностью [18]. У человека в крови уровень пироглутаминил-апелина-13 колеблется в диапазоне от 7,7 до 23,3 пг/мл. Наиболее высокая экспрессия гена APLN в виде препроапелина выявлена в адипоцитах, но также наблюдается и в целом ряде других тканей [61]. Увеличение экспрессии жировой тканью мРНК препроапелина вызывают инсулин, гормон роста и TNF-α. Рецептор APJ относится к рецепторам серпантинного типа, и функционально сопряжён с гетеротримерными ГТФ-связывающими белками ингибирующего типа (G-белками) [62, 63]. Рецептор специфически взаимодействует с активными формами апелина, содержащими функционально активный С-концевой фрагмент молекулы. Рецептор затем способен функционально взаимодействовать с G-белками ингибирующего типа, что запускает несколько внутриклеточных сигнальных каскадов [61]. Следует отметить, что при ожирении и МС в белой ЖТ уровни экспрессии мРНК препроапелина и рецептора APJ значительно возрастают по сравнению с контролем и при патологических формах ожирения в 4 раза превышают его значения в контрольной группе [61, 62]. Сигнальная система, регулируемая апелином, играет важную роль в регуляции функций многих органов (табл. 3) и особенно функций сердечно-сосудистой системы, контролируя артериальное давление, скорость кровотока, а также участвует в процессах регенерации миокарда при развитии МС и ССЗ (табл. 2; рис. 1 (Г)) [63].

Воздействуя на клетки эндотелия сосудов, апелин вызывает их расслабление через увеличение активности эNO-синтазы и уровня оксида азота и активации NO-сигнальных путей, а также повышает сократимость миокарда [61]. Уровень апелина в крови пациентов с МС в значительной степени повышен, когда МС сопряжён с ожирением и инсулиновой резистентностью. Содержание апелина в крови натощак коррелировало с индексом инсулиновой резистентности, индексом массы тела, уровнями инсулина, триглицеридов и атерогенного холестерина, связанного с липопротеидами низкой плотности. Кроме того, в группе больных МС или СД2 увеличивался не только базальный уровень апелина, но также его концентрация, вызванная глюкозной нагрузкой при проведении глюкозотолерантного теста [63].

Установлено, что апелин осуществляет регуляторное влияние на три основных эффекторных фермента: фосфатидилинозитол-3-киназу, аденилатциклазу, ERK1/2. Способность апелина активировать ФИ-3-К и далее Akt играет важную роль в регуляции ими дифференцировки клеток и активности в них про- и антиапоптотических факторов выживаемости клеток [63]. Апелин-13 регулирует функциональную активность АМФК в нейронах и ослабляет процесс апоптоза нервных клеток в условиях ишемии головного мозга, что демонстрирует повышение

Таблица 3

Регуляторные эффекты апелина в разных тканях

Table 3

Regulatory effects of apelin in different tissues

Ткань	Основные эффекты апелина
Мозг	Увеличение высвобождения адренокортикотропного гормона и вазопрессина
Сердце	Повышение сократительной активности миокарда, регуляция сердечного ритма, регенерация миокарда
Печень	Усиление Fas-индуцируемого апоптоза, увеличение риска развития фиброза печени, снижение регенерации гепатоцитов
Почки	Возрастание высвобождения кортикостероидов, снижение риска развития ишемии и поликистоза почек
Кровеносные сосуды	Стимуляция ангиогенеза, расслабление и расширение кровеносных сосудов
Жировая ткань	Увеличение захвата глюкозы и повышение чувствительности адипоцитов к инсулину
ПЖЖ	Снижение выхода инсулина и повышение высвобождения холецистокинина

выживаемости нейронов, то есть нейропротекторный эффект апелина с участием АМФК. Этот фермент – мишень для апелина в адипоцитах, так как у мышей, нокаутированных по апелиновому гену, обнаруживаются черты МС, а именно абдоминальное ожирение, повышение содержания свободных ЖК и гиперлептинемия, а введение апелина приводило к восстановлению этих показателей, что позволяет сделать вывод об участии сигнального каскада: апелин → рецептор APJ → Gi/o-белки → АМФК [63].

Лептин

Лептин был открыт в 1994 г. на заре изучения секреторной функции белой жировой ткани в качестве гормона ЖТ. Теперь его называют насыщающим гормоном, регулирующим энергетический гомеостаз, поддержание массы тела, скорость метаболизма, эндокринные оси и метаболизм глюкозы [64, 65]. Обнаружена важная роль этого гормона в его действии на гипоталамус. Лептин стимулирует синтез α-меланостимулирующего гормона, подавляющего аппетит, и ингибирует экспрессию орексигенного нейропептида Y [65–67].

Лептиновый рецептор кодируется единственным геном, и в результате альтернативного сплайсинга образуются шесть изоформ рецептора – от Ob-Ra до Ob-Rf. Все рецепторы имеют сходный внеклеточный домен, связывающий гормон, но их внутриклеточные домены отличаются по структуре и сигнальному потенциалу. Так, Ob-Rb, или «длинная» изоформа, содержит большой внутриклеточный домен, который способен сопрягаться с несколькими сигнальными путями. В частности, связывание лептина с его рецептором активирует различные внутриклеточные пути: янус-киназа 2 (JAK2), которая фосфорилирует белок, являющийся сигнальным переносчиком и активатором транскрипции 3 (STAT3), взаимодействует с субстратом инсулинового рецептора и фосфотидилинозитол-3-киназой, связывается с SH2-содержащей тирозинфосфатазой и далее с SHP2/MAPK, а также с АМФК (рис. 1 (Д); табл. 2) и ацетил-CoA карбоксилазой в ЦНС и периферических тканях, которые участвуют в анорексическом эффекте лептина [67, 68]. В то же время изоформы Ob-Ra, Ob-Rc, Ob-Rd and Ob-Rf являются «короткими» и не могут стимулировать JAK2/STAT-3 путь, но могут запускать другие сигнальные механизмы. Это каскады, в которых участвуют MAPK, ФИ-3-К/Akt, АМФК или ПКС. Кроме того, Ob-Re циркулирует в плазме в качестве растворимого лептинового рецептора, так как у него нет трансмембранного и внутриклеточного доменов, и регулирует время полужизни и удаление (распад) этих рецепторов [68]. Следует отметить, что у пациентов с ожирением содержание лептина в плазме заметно увеличивается, что определяется большим количеством ЖТ и лептиновой резистентностью гипоталамуса к аноретическим влияниям этого гормона. Таким образом, лептин нельзя использовать у больных с ожирением [69], а гиперлептинемия, наблюдаемая при ожирении и МС, может приводить к многим заболеваниям, включая ССЗ [69, 70].

При нормальных физиологических условиях лептин вызывает расслабление сосудов с участием эндотелия, стимулируя активность eNO-синтазы и образуя NO, а также эндотелиальный фактор поляризации. Лептин активирует эNO-синтазу через механизмы, включающие Akt, которые фосфорилируют эNO-синтазу по Ser-1177, увеличивая её активность [68]. NO-опосредуемый сосудорасслабляющий эффект ухудшается при патологии (ожирение или МС) [70]. Возникающая резистентность к влиянию лептина в отношении NO сопровождается хронической гиперлептиномией, возникающей при действии разных механизмов. Это может быть нарушение функции лептиновых рецепторов, увеличение концентрации циркулирующего С-реактивного пептида, усиление окислительного стресса и сверхэкспрессия супрессора цитокин сигналинга-3 [70, 71]. Однако при коротко продолжающемся ожирении ухудшение образования NO с участием лептина может быть компенсировано действием EDHF, но при продолжительном МС участие EDHF в действии лептина становится неэффективным [69].

Следует отметить, что лептин стимулирует как активность эNO-синтазы, так и эндотелин-1 у пациентов с пониженным весом, но не у больных с МС, отягчённым ожирением. Это свидетельствует о NO-зависимом сосудорасслабляющем влиянии лептина, но гиперлептинемия является сильным фактором риска при МС и ССЗ. Эти данные указывают на то, что лептин при нормальных физиологических условиях стимулирует как эндотелин-1, так и NO, циркулируя в крови. В то же время этот эффект отсутствует при гиперлептинемии у больных МС [69, 70]. В заключение можно утверждать, что при МС нарушается биологический баланс между этими двумя медиаторами, действующими в противоположных направлениях. Кроме того, в настоящем исследовании представлены доказательства о том, что у пациентов с гиперлептинемией и МС отсутствует сосудорасслабляющее действие лептина; это указывает на то, что лептиновая резистентность при ожирении не ограничивается контролем потребления пищи, а вовлечена в гемодинамическое влияние лептина [69].

У здоровых пациентов лептин вызывает сбалансированный эффект на контроль давления крови, модулируя вазоконстрикцию с участием симпатической системы. Происходит освобождение NO из эндотелия, а также ангиотензин II-зависимая вазоконстрикция [69]. Слой гладких мышц в сосуде является важной мишенью для действия лептина на сосуды. Этот адипокин снижает пассивный тонус стенки сосудов и ангиотензин II-зависимую вазоконстрикцию, действуя на гладкомышечные клетки сосудов. Показано, что лептин подавляет базальную пролиферацию гладкомышечных клеток аорты и ингибирует рост клеток, вызванный ангиотензинном II в гладкомышечных клетках, в которых активация рецепторов лептина сопряжена с NO-зависимой эндотелиальной авторегуляторной способностью. Лептин вызывает расслабление эндотелия при активации пути фосфорилирования эндотелиальной Akt и эNO-синтазы, но процесс не зависит от ФИ-3-К. Этот адипокин снижает пассивный тонус стенки сосудов и ангиотензин II-зависимую вазоконстрикцию, действуя за счёт активации иNO-синтазы с участием механизмов, включающих JAK2/STAT3 и ФИ-3-К/Akt пути в гладкомышечных стенках сосудов. Сравнения болезненных состояний с нормой показали, что гиперлептинемия, возникающая при ожирении, вызывает лептинрезистентные состояния. Поэтому гиперлептинемия при ожирении может усиливать компенсаторный механизм, увеличивая лептиновую резистентность. Таким образом, несмотря на высокий уровень циркулирующего лептина, сосудорасслабляющий эффект отсутствует. В этой связи наблюдается защитное влияние сигналинга лептина у здоровых людей, при ожирении возникает лептиновая резистентность, которая обращает этот баланс по направлению к атерогенетическому фенотипу [70].

Vecchione et al. было показано, что лептин усиливает фосфорилирование Akt по Ser-308 и затем увеличивает фосфорилирование и активность эNO-синтазы по Ser-1177 в эндотелии аорты человека и крысы. Кроме того, они продемонстрировали, что удаление внеклеточного кальция не влияло на активацию лептином эNO-синтазы. По мнению авторов, лептин стимулирует активацию эNO-синтазы как Ca^{2+}-кальмодулин-зависимым путём, так и кальмодулин-независимым каскадом и с участием ФИ-3-К/Akt. Активация эNO-синтазы увеличивает уровень NO, который диффундирует в гладкие мышцы капилляров, артериол и вен, что приводит к активации гуанилатциклазы и образованию цГМФ, что стимулирует цГМФ-ПК и расслабляет гладкие мышцы сосудов, увеличивая поток крови. Расслабление сосудов также приводит к освобождению АХ из парасимпатических терминалей, что активирует эNO-синтазу из эндотелия сосудов. NO расслабляет гладкие мышцы сосудов и модулирует функции многих органов. Поскольку NO очень быстро превращается в нитрат (NO_2) и нитрит (NO_3), которые проникают в кровяное русло и служат показателем образования оксила азота, их концентрация NO_3–NO_2 в плазме служит индексом суммы общего NO, образованного органами, включая мозг, ПЖЖ, сердце сосуды, почки, ЖТ и иммунные клетки [71].

В то же время следует отметить, что не все исследования подтверждают важную роль эNO-синтазы в этом эффекте лептина. К примеру, показано, что лептин не влиял на резистентность некоторых сосудов у крыс. Это позволяет предположить, что отсутствие данного эффекта не является результатом сбалансированной активации симпатической нервной системы и действия NO [72]. Точные причины этих различий пока не ясны. Возможно, лептин стимулирует в основном крупные сосуды, что приписывается общей резистентности сосудов. Негативные результаты *in vivo* исследований могут быть свидетелями быстрого устранения лептина при связывании с его растворимыми рецепторами. Следует отметить, что в большинстве работ, где наблюдали NO-миметическое влияние лептина? использовали высокие концентрации гормона [69, 71, 72].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основная проблема для здоровья человека в последние десятилетия – драматически нарастающее ожирение населения и связанные с ним заболевания, к которым относятся метаболический синдром, сердечно-сосудистые заболевания и сахарный диабет 2-го типа. Экспериментально показано, что при МС выявляется сочетание гиперфагии и жировой дисфункции, гипертонии и ССЗ или СД2. На основании этих данных в последнее время выдвигается концепция о том, что одним из механизмов, сопрягающих МС и ССЗ, является ненормальная секреция жировой тканью адипокинов, увеличение циркулирующих СЖК и накопление их в мышцах и печени, что вызывает атеросклероз. В настоящее время точно не известно, какие адипокины служат в качестве полезных маркеров МС. Исследования 12 адипоцитокинов как возможных маркеров МС показали, что адипонектин и кемерин продемонстрировали сильное взаимодействие с компонентами МС [79]. Среди адипокинов, сопряжённых с L-аргинин-NO-синтаза-NO сигнальным каскадом, согласно современной литературе, имеются как антивоспалительные (адипонектин, оментин, кемерин, програнулин), так и провоспалительные (висфатин, апелин, васпин) белки. Однако в последнее время стали также выделять адипокины, которые обозначают как инсулинчувствительные. Все рассматриваемые в этом обзоре адипокины, участвующие в регуляции L-аргинин-NO-синтаза-NO сигнального пути, можно, согласно литературным данным, отнести к инсулинчувствительным в той или иной мере. В то же время в числе инсулинчувствительных адипокинов можно также выделить белки, улучшающие инсулиновый сигналинг, к которым можно отнести адипонектин, адиполин, оментин и програнулин, в действии которых, наряду с другими, участвует L-аргинин-NO-синтаза-NO сигнальный путь. Кроме того, белая ЖТ производит адипокины, приводящие к инсулиновой резистентности и тормозящие действие инсулина. К таким адипокинам можно причислить васпин, висфатин, апелин, которые обладают воспалительными свойствами и также способны регулировать L-аргинин-NO-синтаза-NO сигнальный каскад. Кроме того, имеются адипокины, занимающие промежуточное положение и способные как усиливать, так и ослаблять действие инсулина на разные ткани. Это лептин, в отношении которого нами приведены несколько противоречивые сведения, а также резистин, однако участие этого адипокина в регуляции L-аргинин-NO-синтаза-NO сигнального пути не выявлено.

В настоящее время сложно выдвинуть предложения о практической значимости адипокинов в качестве маркеров МС, так как многие аспекты влияний адипокинов ещё требуют углубленных исследований. В то же время участие адипонектина, оментина и кемерина в регуляции L-аргинин-NO-синтаза-NO каскада при заболевании МС открывает определённые возможности для разработки новых подходов для коррекции нарушений, наблюдаемых при МС.

Конфликт интересов

Автор данной статьи сообщает об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена в рамках Госзадания № АААА-А18-118012290427-7.

Выражение признательности

Автор благодарит Шпакова Александра Олеговича за редактирование рукописи, Маслова Андрея Сергеевича – за помощь в оформлении схем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Reaven GM. The metabolic syndrome: Time to get off the merry-go-round? *J Intern Med*. 2011; 269(2): 127-136. doi: 10.1111/j.1365-2796.2010.02325.x

2. Feldman RD, Anderson TJ, Touyz RM. Metabolic syndrome sinkholes: What to do when Occam's razor gets blunted. *Can J Cardiol*. 2015; 31(5): 601-604. doi: 10.1016/j.cjca.2014.12.035

3. Grundy SM. Metabolic syndrome: a multiplex cardiovascular risk factor. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92: 399-404. doi: 10.1210/j.c.2006-0513

4. Assumpção CR, Brunini TMC, Matsuura C, Resende AC, Mendes-Ribeiro AC. Impact of the L-arginine-Nitric Oxide pathway and oxidative stress on the pathogenesis of the metabolic syndrome. *Open Biochem J*. 2008; 2: 108-115. doi: 10.2174/1874091X00802010108

5. Huang PL. eNOS, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Trends Endocrinol Metab*. 2009; 20(6): 295-302. doi: 10.1016/j.tem.2009.03.005

6. Mendrick DL, Diehl AM, Topor LS, Dietert RR, Will Y, La Merrill MA, et al. Metabolic syndrome and associated diseas-

es: from the bench to the clinic. *Toxicol Sci*. 2018; 162(1): 36-42. doi: 10.1093/toxsci/kfx233

7. Romeo GR, Lee J, Shoelson SE. Metabolic syndrome, insulin resistance, and roles of inflammation--mechanisms and therapeutic targets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012; 32(8): 1771-1776. doi: 10.1161FATVBAHA.111.241869

8. Чистякова О.В., Сухов И.Б., Шпаков А.О. Метаболический синдром: причинно-следственные отношения между окислительным стрессом и хроническим воспалением. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2018; 104(2): 138-155.

9. Morange PE, Alessi MC. Thrombosis in central obesity and metabolic syndrome: mechanisms and epidemiology. *Thromb Haemost*. 2013; 110(4): 669-680. doi: 10.1160/TH13-01-0075

10. Atawia RT, Bunch KL, Toque HA, Caldwell RB, Caldwell RW. Mechanisms of obesity-induced metabolic and vascular dysfunctions. *Front Bioscience (Landmark Ed)*. 2019; 24: 890-934.

11. Santolini J. What does "NO-Synthase" stand for? *Front Bioscience (Landmark Ed)*. 2019; 24: 133-171.

12. Mónica FZ, Bian K, Murad F. The endothelium-dependent nitric oxide-cGMP pathway. *Adv Pharmacol*. 2016; 77: 1-27. doi: 10.1016/bs.apha.2016.05.001

13. Lin X, Wang Q, Sun S, Xu G, Wu Q, Qi M, et al. Astragaloside IV promotes the eNOS/NO/cGMP pathway and improves left ventricular diastolic function in rats with metabolic syndrome. *J Int Med Res*. 2019; 48(1): 300060519826848. doi: 10.1177/0300060519826848

14. Lacza Z, Snipes JA, Zhang J, Horváth EM, Figueroa JP, Szabó C, et al. Mitochondrial nitric oxide synthase is not eNOS, nNOS or iNOS. *Free Radic Biol Med*. 2003; 35(10): 1217-1228. doi: 10.1016/s0891-5849(03)00510-0

15. Assumpção CR, Brunini TM, Pereira NR, Godoy-Matos AF, Siqueira MA, Mann GE, et al. Insulin resistance in obesity and metabolic syndrome: is there a connection with platelet l-arginine transport? *Blood Cells Mol Dis*. 2011; 45(4): 338-342. doi: 10.1016/j.bcmd.2010.10.003

16. Lira VA, Soltow QA, Long JH, Betters JL, Sellman JE, Criswell DS. Nitric oxide increases GLUT4 expression and regulates AMPK signaling in skeletal muscle. *Am. J Physiol*. 2007; 293(4): E1062-E1068. doi: 10.1152/ajpendo.00045.2007

17. Whitehead JP, Richards AA, Hickman IJ, Macdonald GA, Prins JB. Adiponectin – a key adipokine in the metabolic syndrome. *Diabetes Obes Metab*. 2006; 8(3): 264-280. doi: 10.1111/j.1463-1326.2005.00510.x

18. Шпаков А.О. *Адипокины и их роль в регуляции репродуктивных функций.* СПб.: Политех-Пресс; 2018.

19. Roy V, Nakamura T, Kihara S, Kumada M, Shibazaki S, Takahashi M, et al. Adiponectin as a biomarker of metabolic syndrome. *Circulation J*. 2004; 68(11): 975-981. doi: 10.1253/circ.j.68.975

20. Liu GZ, Liang B, Lau WB, Wang Y, Zhao J, Li R, et al. High glucose/High Lipids impair vascular adiponectin function via inhibition of caveolin-1/AdipoR1 signalsome formation. *Free Radic Biol Med*. 2015; 89: 473-485. doi: 10.1016/j.freeradbiolmed.2015.09.005

21. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*. 2003; 423(6941): 762-769. doi: 10.1038/nature01705

22. Engin A. Adiponectin-resistance in obesity. *Adv Exp Med Biol*. 2017. 960: 415-441. doi: 10.1007/978-3-319-48382-5_18

23. Fang H, Judd RL. Adiponectin regulation and function. *Compr Physiol*. 2018; 8(3): 1031-1063. doi: 10.1002/cphy.c170046

24. Gradinaru D, Margina D, Borsa C, Ionescu C, Ilie M, Costache M, et al. Adiponectin: possible link between metabolic stress and oxidative stress in the elderly. *Aging Clin Exp Res*. 2017; 29(4): 621–629. doi: 10.1007/s40520-016-0629-z

25. Ruan H, Dong LQ. Adiponectin signaling and function in insulin target tissues. *J Mol Cell Biol.* 2016; 8: 101-109. doi: 10.1093/jmcb/mjwo14

26. Wang ZV, Cherer PE. Adiponectin, the past two decades. *J Mol Cel Biol*. 2016; 8: 93-100. doi: 10.1093/jmcb/mjwo11

27. Si Y, Fan W, Sun L. A review of the relationship between CTRP family and coronary artery disease. *Curr Atheroscler Rep*. 2020; 22(6): 22. doi: 10.1007/s11883-020-00840-0

28. Fadaei R, Moradi N, Kazemi T, Chamani E, Azdaki N, Moezibady SA, et al. Decreased serum levels of CTRP12/adipolin in patients with coronary artery disease in relation to inflammatory cytokines and insulin resistance. *Cytokine*. 2019; 113: 326-331. doi: 10.1016/jcito2018.09.019

29. Enomoto T, Ohashi K, Shibata R, Higuchi A, Maruyama S, et al. Adipolin/C1qdc2/CTRP12 protein functions as an adipokine that improves glucose metabolism. *J Biol Chem*. 2011. 286: 34552-34558. doi: 10.1074/jbc.M111.277319

30. Tan BK, Chen J, Hu J, Amar O, Mattu HS, Ramanjaneya M, et al. Circulatory changes of the novel adipokine adipolin/CTRP12 in response to metformin treatment and an oral glucose challenge in humans. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2014; 81: 841-846. doi: 10.1111/cen.12438

31. Knights AJ, Funnell APW, Pearson RCM, Crossley M, Bell-Anderson KS. Adipokines and insulin action. A sensitive issue. *Adipocyte*. 2014; 3(2): 88-96. doi: 10.4161/adip.27552

32. Tan BK, Lewandowski KC, O'Hare JP, Randeva HS. Insulin regulates the novel adipokine adipolin/CTRP12: in vivo and ex vivo effects. *J Endocrinol*. 2014; 221(1): 111-119. doi: 10.1530/JOE-13-0537

33. Tan BK, Chen J, Adya R, Ramanjaneya M, Patel V, Randeva HS. Metformin increases the novel adipokine adipolin/CTRP12: Role of the AMPK pathway. *J Endocrinol*. 2013; 219: 101-108. doi: 10.1530/JOE-13-0277

34. Enomoto T, Shibata R, Ohashi K, Kambara T, Kataoka Y, Uemura Y, et al. Regulation of adipolin/CTRP12 cleavage by obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012; 428: 155-159. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.10.031

35. Bell-Anderson KS, Funnell AP, Williams H, Mat Jusoh H, Scully T, Lim WF, et al. Loss of Krüppel-like factor 3 (KLF3/BKLF) leads to upregulation of the insulin-sensitizing factor adipolin (FAM132A/CTRP12/C1qdc2). *Diabetes*. 2013; 62: 2728-2737. doi: 10.2337/db12-1745

36. Escoté X, Gómez-Zorita S, López-Yoldi M, Milton-Laskibar I, Fernández-Quintela A, Martínez JA, et al. Role of omentin, vaspin, cardiotrophin-1, TWEAK and NOV/CCN3 in obesity and diabetes development. *Int J Mol Sci*. 2017; 18(8): E1770. doi: 10.3390/ijms18081770

37. Watanabe T, Watanabe-Kominato K, Takahashi Y, Kojima M, Watanabe R. Adipose tissue-derived omentin-1 function and regulation. *Compr Physiol*. 2017; 7(3): 765-781. doi: 10.1002/cphy.c160043

38. Maruyama S, Shibata R, Kikuchi R, Izumiya Y, Rokutanda T, Araki S, et al. Fat-derived factor omentin stimulates endothelial cell function and ischemia-induced revascularization via endothelial nitric oxide synthase-dependent mechanism. *J Biol Chem*. 2012; 287(1): 408-417. doi: 10.1074/jbc.M111.261818

39. Qi D, Tang X, He J, Wang D, Zhao Y, Deng W, et al. Omentin protects against LPS-induced ARDS through suppressing pulmonary inflammation and promoting endothelial barrier via an Akt/eNOS-dependent mechanism. *Cell Death Dis*. 2016; 7(9): e2360. doi: 10.1038/cddis.2016.265

40. Alyahya AM, Al-Masri A, Hersi A, El Eter E, Husain S, Lateef R, et al. The effects of progranulin in a rat model of acute myocardial ischemia/reperfusion are mediated by activation of the P13K/Akt signaling pathway. *Med Sci Monit Basic Res.* 2019; 25: 229-237. doi: 10.12659/MSMBR.916258

41. Hwang HJ, Jung TW, Hong HC, Choi HY, Seo JA, Kim SG, et al. Progranulin protects vascular endothelium against atherosclerotic inflammatory reaction via Akt/eNOS and nuclear factor-κB pathways. *PLoS One*. 2013; 8(9): e76679. doi: 10.1371/journal.pone.007679

42. Korolczuk A, Bełtowski J. Progranulin, a new adipokine at the crossroads of metabolic syndrome, diabetes, dyslipidemia and hypertension. *Nurr Pharm Des*. 2017; 23(10): 1533-1539. doi: 10.2174/1381612823666170124142 4

43. Townley RA, Boeve BF, Eduardo E, Benarroch EE. Progranulin. Functions and neurologic correlations. *Neurology*. 2018; 90(3): 118-125. doi: 10.1212/WNL0000000000004840

44. De Henau O, Degroot G-N, Imbault V, Robert V, De Poorter C, McHeik S, et al. Signaling properties of chemerin receptors CMKLR1, GPR1 and CCRL2. *PLoS One*. 2016; 11: e0164179. doi: 10.1371/journal.pone.0164179

45. Carracedo M, Witasp A, Qureshi AR, Laguna-Fernandez A, Brismar T, Stenvinkel P, et al. Chemerin inhibits vascular calcification through ChemR23 and is associated with lower coronary calcium in chronic kidney disease. *J Intern Med*. 2019; 286(4): 449-457. doi: 10.1111/joim.12940

46. Li Y, Shi B, Li S. Association between serum chemerin concentrations and clinical indices in obesity or metabolic syndrome: a meta-analysis. *PLoS One*. 2014; 9: e113915. doi: 10.1371/journal.pone.0113915

47. Roguska J, Zubkiewicz-Kucharska A. Chemerin as an early marker of metabolic syndrome. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab*. 2018; 24(1): 45-51. doi: 10.18544/PEDM-24.01.0102

48. Neves KB, Nguyen Dinh CA, Alves-Lopes R, Harvey KY, Costa RMD, Lobato NS, et al. Chemerin receptor blockade improves vascular function in diabetic obese mice via redox-sensitive and Akt-dependent pathways. *Am J Physiol*. 2018; 315(6): 1851-1860. doi: 10.1152/ajpheart.00285.2018

49. Kaur J, Mattu HS, Chatha K, Randeva HS. Chemerin in human cardiovascular disease. *Vascul Pharmacol*. 2018; 110: 1-6. doi: 10.1016/j.vph.2018.06.018

50. Kutlay Ö, Kaygısız Z, Kaygısız B. The effect of chemerin on cardiac parameters and gene expressions in isolated perfused rat heart. *Balkan Med J*. 2019; 36(1): 43-48. doi: 10.4274balkanmedj.2017.1787

51. Heiker JT. Vaspin (serpinA12) in obesity, insulin resistance, and inflammation. *J Pept Sci.* 2014; 20(5): 299-306. doi: 10.1002/psc.2621

52. Kurowska P, Mlyczyńska E, Dawid M, Dupont J, Rak A. Role of vaspin in porcine ovary: effect on signaling pathways and steroid synthesis via GRP78 receptor and protein kinase A. *Biol Reprod*. 2020. 102(6): 1290-1305. doi: 10.1093biolreioaa027

53. Fasshauer M, Blüher M. Adipokines in health and disease. *Tr Pharmacol Sci*. 2015; 36(7): 461-470. doi: 10.1016/j.tips.2015.04.014

54. Mihanfar A, Rahmati-Yamchi M, Mota A, Abediazar S, Pilehvar-Soltanahmadi Y, Zarghami N. Serum levels of vaspin and its correlation with nitric oxide in type 2 diabetic patients with nephropathy. *Curr Diabetes Rev*. 2018; 14(2): 162-167. doi: 10.2174/1573399813666170530103216

55. Heiker JT, Klöting N, Kovacs P, Kuettner EB, Sträter N, Schultz S, et al. Vaspin inhibits kallikrein 7 by serpin mechanism. *Cell Mol Life Sci*. 2013; 70(14): 2569-2583. doi: 10.10072Fs00018-013-1258-8

56. Bao JP, Xu LH, Ran JS, Xiong Y, Wu LD. Vaspin prevents leptin-induced inflammation and catabolism by inhibiting the activation of nuclear factor-κB in rat chondrocytes. *Mol Med Rep*. 2017; 16(3): 2925-2930. doi: 10.3892/mmr.2017.6911

57. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science*. 2005; 307(5708): 426-30. doi: 10.1126/science.1097243

58. Abella V, Scotece M, Conde J, López V, Lazzaro V, Pino J, et al. Adipokines, metabolic syndrome and rheumatic diseases. *J Immunol Res*. 2014: 343746. doi: 10.1155/2014/343746

59. Olszanecka-Glinianowicz M, Kocełak P, Nylec M, Chudek J, Zahorska-Markiewicz B. Circulating visfatin level and visfatin/insulin ratio in obese women with metabolic syndrome. *Arch Med Sci.* 2012; 8(2): 214-218. doi: 10.51114/aoms.2012.28547

60. Adya R, Tan BK, Punn A, Chen J, Randeva HS. Visfatin induces human endothelial VEGF and MMP-2/9 production via MAPK and PI3K/Akt signalling pathways: novel insights into visfatin-induced angiogenesis. *Cardiovasc Res*. 2008; 78: 356-365. doi: 10.1093/cvr/cvm111

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

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

63. Yue P, Jin H, Xu S, Aillaud M, Deng AC, Azuma J, et al. Apelin decreased lipolis via Gq, Gi and AMPK-dependent mechanism. *Endocrinology*. 2011; 152(1): 59-68. doi: 10.1210/en.2010-0576

64. DePaoli AM. 20 years of leptin: leptin in common obesity and associated disorders of metabolism. *J Endocrinol*. 2014; 223(1): 71-81. doi: 10.12703/P6-73

65. Park HK, Ahima RS. Leptin signaling. *F1000Prime Rep*. 2014, 6: 73. doi: 10.1530/JOE-14-0258

66. Myers MG, Cowley MA, Münzberg H. Mechanisms of leptin action and leptin resistance. *Annu Rev Physiol*. 2008, 70: 537-556. doi: 10.1111.1440-1681.2011.05623.x

67. Романова И.В., Деркач К.В., Морина А.Ю., Сухов И.Б., Кузнецова Л.А., Шпаков А.О. Изменение соотношения орексигенных и анорексигенных факторов в гипоталамусе крыс с ожирением, вызванным кафетерий-диетой. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2018; 104(6): 724-730. doi: 10.7868/S0869813918-060163

68. Bełtowski J. Leptin and the regulation of endothelial function in physiological and pathological conditions. *Clin Exp Pharm Physiol*. 2012; 39(2): 168-178. doi: 10.1016/j.brainresbull.2012.08.003

69. Schinzari F, Tesauro M, Rovella V, Daniele ND, Mores N, Veneziani A, et al. Leptin stimulates both endothelin-1 and nitric oxide activity in lean subjects but not in patients with obesity-related metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013; 98(3): 1235-1241. doi: 10.1210/jc.2012-3424

70. Landecho MF, Tuero C, Valentí V, Bilbao I, Higuera M, Frühbeck G. Relevance of leptin and other adipokines in obesity-associated cardiovascular risk. *Nutrients*. 2019; 11(11): 2664. doi: 10.3990/nu11112664

71. Vecchione C, Maffei A, Colella S, Aretini A, Poulet R, Frati G, et al. Leptin effect on endothelial nitric oxide is mediated through Akt-endothelial nitric oxide synthase phosphorylation pathway. *Diabetes.* 2002; 51: 168-173. doi: 10.2337/diabetes.5.1.1.168

72. Mitchell JL, Morgan DA, Correia ML, Mark AL, Sivitz WI, Haynes WG. Does leptin stimulate nitric oxide to oppose the effects of sympathetic activation? *Hypertension*. 2001; 38: 1081-1086. doi: 10.1111.1440-1681.2011.05623.x

73. de Boer MP, Meijer RI, Richter EA, Nieuw Amerongen GP, Sipkema P, Poelgeest EM, et al. Globular adiponectin controls insulin-mediated vasoreactivity in muscle through AMPKα2. *Vascul Pharmacol*. 2016. 78: 24-35. doi: 10.1016/j.vph.2015.09.002

74. Adya R, Tan BK, Randeva HS. Differential effects of leptin and adiponectin in endothelial angiogenesis. *J Diabetes Res*. 2015: 648239. doi: 10.1155/2015/648239

75. Grossini E, Farruggio S, Qoqaiche F, Raina G, Camillo L, Sigaudo L, et al. Monomeric adiponectin modulates nitric oxide release and calcium movements in porcine aortic endothelial cells in normal/high glucose conditions. *Life Sci.* 2016; 161: 1-9. doi: 10.1016/j.efs.2016.07.010

76. Xia N, Horke S, Habermeier A, Closs EI, Reifenberg G, Gericke A, et al. Uncoupling of endothelial nitric oxide synthase in perivascular adipose tissue of diet-induced obese mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016; 36(1): 78-85. doi: 10.1161/ATVBAHA.115.306263

77. Zhao L, Fu Z, Wu J, Aylor KW, Barrett EJ, Cao W, et al. Globular adiponectin ameliorates metabolic insulin resistance via AMPK-mediated restoration of microvascular insulin responses. *J Physiol.* 2015; 593(17): 4067-4079. doi: 10.1113/JP270371

78. Brzoskwinia M, Pardyak L, Rak A, Kaminska A, Hejmej A, Marek S, et al. Flutamide alters the expression of chemerin, apelin, and vaspin and their respective receptors

in the testes of adult rats. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(12): 4439. doi: 10.3390ijms21124439

79. Ebert T, Gebhardt C, Scholz M, Wohland T, Schleinitz D, Fasshauer M, et al. Relationship between 12 adipocytokines and distinct components of the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2018; 103(3): 1015-1023. doi: 10.1210/jc.2017-02085

REFERENCES

1. Reaven GM. The metabolic syndrome: Time to get off the merry-go-round? *J Intern Med*. 2011; 269(2): 127-136. doi: 10.1111/j.1365-2796.2010.02325.x

2. Feldman RD, Anderson TJ, Touyz RM. Metabolic syndrome sinkholes: What to do when Occam's razor gets blunted. *Can J Cardiol*. 2015; 31(5): 601-604. doi: 10.1016/j.cjca.2014.12.035

3. Grundy SM. Metabolic syndrome: a multiplex cardiovascular risk factor. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92: 399-404. doi: 10.1210/j.c.2006-0513

4. Assumpção CR, Brunini TMC, Matsuura C, Resende AC, Mendes-Ribeiro AC. Impact of the L-arginine-Nitric Oxide pathway and oxidative stress on the pathogenesis of the metabolic syndrome. *Open Biochem J*. 2008; 2: 108-115. doi: 10.2174/1874091X00802010108

5. Huang PL. eNOS, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Trends Endocrinol Metab*. 2009; 20(6): 295-302. doi: 10.1016/j.tem.2009.03.005

6. Mendrick DL, Diehl AM, Topor LS, Dietert RR, Will Y, La Merrill MA, et al. Metabolic syndrome and associated diseases: from the bench to the clinic. *Toxicol Sci*. 2018; 162(1): 36-42. doi: 10.1093/toxsci/kfx233

7. Romeo GR, Lee J, Shoelson SE. Metabolic syndrome, insulin resistance, and roles of inflammation--mechanisms and therapeutic targets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012; 32(8): 1771-1776. doi: 10.1161FATVBAHA.111.241869

8. Chistyakova OV, Sukhov IB, Shpakov AO. Metabolic syndrome: A causal relationship between oxidative stress and chronic inflammation. *Russian Journal of Physiology*. 2018; 104(2): 138-155. (In Russ.)

9. Morange PE, Alessi MC. Thrombosis in central obesity and metabolic syndrome: mechanisms and epidemiology. *Thromb Haemost*. 2013; 110(4): 669-680. doi: 10.1160/TH13-01-0075

10. Atawia RT, Bunch KL, Toque HA, Caldwell RB, Caldwell RW. Mechanisms of obesity-induced metabolic and vascular dysfunctions. *Front Bioscience (Landmark Ed)*. 2019; 24: 890-934.

11. Santolini J. What does "NO-Synthase" stand for? *Front Bioscience (Landmark Ed)*. 2019; 24: 133-171.

12. Mónica FZ, Bian K, Murad F. The endothelium-dependent nitric oxide-cGMP pathway. *Adv Pharmacol*. 2016; 77: 1-27. doi: 10.1016/bs.apha.2016.05.001

13. Lin X, Wang Q, Sun S, Xu G, Wu Q, Qi M, et al. Astragaloside IV promotes the eNOS/NO/cGMP pathway and improves left ventricular diastolic function in rats with metabolic syndrome. *J Int Med Res*. 2019; 48(1): 300060519826848. doi: 10.1177/0300060519826848

14. Lacza Z, Snipes JA, Zhang J, Horváth EM, Figueroa JP, Szabó C, et al. Mitochondrial nitric oxide synthase is not eNOS, nNOS or iNOS. *Free Radic Biol Med*. 2003; 35(10): 1217-1228. doi: 10.1016/s0891-5849(03)00510-0

15. Assumpção CR, Brunini TM, Pereira NR, Godoy-Matos AF, Siqueira MA, Mann GE, et al. Insulin resistance in obesity and metabolic syndrome: is there a connection with platelet l-arginine transport? *Blood Cells Mol Dis*. 2011; 45(4): 338-342. doi: 10.1016/j.bcmd.2010.10.003

16. Lira VA, Soltow QA, Long JH, Betters JL, Sellman JE, Criswell DS. Nitric oxide increases GLUT4 expression and regulates AMPK signaling in skeletal muscle. *Am. J Physiol*. 2007; 293(4): E1062-E1068. doi: 10.1152/ajpendo.00045.2007

17. Whitehead JP, Richards AA, Hickman IJ, Macdonald GA, Prins JB. Adiponectin – a key adipokine in the metabolic syndrome. *Diabetes Obes Metab*. 2006; 8(3): 264-280. doi: 10.1111/j.1463-1326.2005.00510.x

18. Shpakov AO. *Adipokines and their role in the regulation of reproductive functions.* Saint Petersburg: Politekh-Press; 2018. (In Russ.)

19. Roy V, Nakamura T, Kihara S, Kumada M, Shibazaki S, Takahashi M, et al. Adiponectin as a biomarker of metabolic syndrome. *Circulation J*. 2004; 68(11): 975-981. doi: 10.1253/circ.j.68.975

20. Liu GZ, Liang B, Lau WB, Wang Y, Zhao J, Li R, et al. High glucose/High Lipids impair vascular adiponectin function via inhibition of caveolin-1/AdipoR1 signalsome formation. *Free Radic Biol Med*. 2015; 89: 473-485. doi: 10.1016/j.freeradbiolmed.2015.09.005

21. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature*. 2003; 423(6941): 762-769. doi: 10.1038/nature01705

22. Engin A. Adiponectin-resistance in obesity. *Adv Exp Med Biol*. 2017. 960: 415-441. doi: 10.1007/978-3-319-48382-5_18

23. Fang H, Judd RL. Adiponectin regulation and function. *Compr Physiol*. 2018; 8(3): 1031-1063. doi: 10.1002/cphy.c170046

24. Gradinaru D, Margina D, Borsa C, Ionescu C, Ilie M, Costache M, et al. Adiponectin: possible link between metabolic stress and oxidative stress in the elderly. *Aging Clin Exp Res*. 2017; 29(4): 621–629. doi: 10.1007/s40520-016-0629-z

25. Ruan H, Dong LQ. Adiponectin signaling and function in insulin target tissues. *J Mol Cell Biol*. 2016; 8: 101-109. doi: 10.1093/jmcb/mjwo14

26. Wang ZV, Cherer PE. Adiponectin, the past two decades. *J Mol Cel Biol*. 2016; 8: 93-100. doi: 10.1093/jmcb/mjwo11

27. Si Y, Fan W, Sun L. A review of the relationship between CTRP family and coronary artery disease. *Curr Atheroscler Rep*. 2020; 22(6): 22. doi: 10.1007/s11883-020-00840-0

28. Fadaei R, Moradi N, Kazemi T, Chamani E, Azdaki N, Moezibady SA, et al. Decreased serum levels of CTRP12/adipolin in patients with coronary artery disease in relation to inflammatory cytokines and insulin resistance. *Cytokine*. 2019; 113: 326-331. doi: 10.1016/jcito2018.09.019

29. Enomoto T, Ohashi K, Shibata R, Higuchi A, Maruyama S, et al. Adipolin/C1qdc2/CTRP12 protein functions as an adipokine that improves glucose metabolism. *J Biol Chem*. 2011. 286: 34552-34558. doi: 10.1074/jbc.M111.277319

30. Tan BK, Chen J, Hu J, Amar O, Mattu HS, Ramanjaneya M, et al. Circulatory changes of the novel adipokine adipolin/CTRP12 in response to metformin treatment and an oral glucose challenge in humans. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2014; 81: 841-846. doi: 10.1111/cen.12438

31. Knights AJ, Funnell APW, Pearson RCM, Crossley M, Bell-Anderson KS. Adipokines and insulin action. A sensitive issue. *Adipocyte*. 2014; 3(2): 88-96. doi: 10.4161/adip.27552

32. Tan BK, Lewandowski KC, O'Hare JP, Randeva HS. Insulin regulates the novel adipokine adipolin/CTRP12: in vivo and ex vivo effects. *J Endocrinol*. 2014; 221(1): 111-119. doi: 10.1530/JOE-13-0537

33. Tan BK, Chen J, Adya R, Ramanjaneya M, Patel V, Randeva HS. Metformin increases the novel adipokine adipolin/CTRP12: Role of the AMPK pathway. *J Endocrinol*. 2013; 219: 101-108. doi: 10.1530/JOE-13-0277

34. Enomoto T, Shibata R, Ohashi K, Kambara T, Kataoka Y, Uemura Y, et al. Regulation of adipolin/CTRP12 cleavage by obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012; 428: 155-159. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.10.031

35. Bell-Anderson KS, Funnell AP, Williams H, Mat Jusoh H, Scully T, Lim WF, et al. Loss of Krüppel-like factor 3 (KLF3/BKLF) leads to upregulation of the insulin-sensitizing factor adipolin (FAM132A/CTRP12/C1qdc2). *Diabetes*. 2013; 62: 2728-2737. doi: 10.2337/db12-1745

36. Escoté X, Gómez-Zorita S, López-Yoldi M, Milton-Laskibar I, Fernández-Quintela A, Martínez JA, et al. Role of omentin, vaspin, cardiotrophin-1, TWEAK and NOV/CCN3 in obesity and diabetes development. *Int J Mol Sci*. 2017; 18(8): E1770. doi: 10.3390/ijms18081770

37. Watanabe T, Watanabe-Kominato K, Takahashi Y, Kojima M, Watanabe R. Adipose tissue-derived omentin-1 function and regulation. *Compr Physiol*. 2017; 7(3): 765-781. doi: 10.1002/cphy.c160043

38. Maruyama S, Shibata R, Kikuchi R, Izumiya Y, Rokutanda T, Araki S, et al. Fat-derived factor omentin stimulates endothelial cell function and ischemia-induced revascularization via endothelial nitric oxide synthase-dependent mechanism. *J Biol Chem*. 2012; 287(1): 408-417. doi: 10.1074/jbc.M111.261818

39. Qi D, Tang X, He J, Wang D, Zhao Y, Deng W, et al. Omentin protects against LPS-induced ARDS through suppressing pulmonary inflammation and promoting endothelial barrier via an Akt/eNOS-dependent mechanism. *Cell Death Dis*. 2016; 7(9): e2360. doi: 10.1038/cddis.2016.265

40. Alyahya AM, Al-Masri A, Hersi A, El Eter E, Husain S, Lateef R, et al. The effects of progranulin in a rat model of acute myocardial ischemia/reperfusion are mediated by activation of the P13K/Akt signaling pathway. *Med Sci Monit Basic Res.* 2019; 25: 229-237. doi: 10.12659/MSMBR.916258

41. Hwang HJ, Jung TW, Hong HC, Choi HY, Seo JA, Kim SG, et al. Progranulin protects vascular endothelium against atherosclerotic inflammatory reaction via Akt/eNOS and nuclear factor-κB pathways. *PLoS One*. 2013; 8(9): e76679. doi: 10.1371/journal.pone.007679

42. Korolczuk A, Bełtowski J. Progranulin, a new adipokine at the crossroads of metabolic syndrome, diabetes, dyslipidemia and hypertension. *Nurr Pharm Des*. 2017; 23(10): 1533-1539. doi: 10.2174/1381612823666170124241424

43. Townley RA, Boeve BF, Eduardo E, Benarroch EE. Progranulin. Functions and neurologic correlations. *Neurology*. 2018; 90(3): 118-125. doi: 10.1212/WNL0000000000004840

44. De Henau O, Degroot G-N, Imbault V, Robert V, De Poorter C, McHeik S, et al. Signaling properties of chemerin receptors CMKLR1, GPR1 and CCRL2. *PLoS One*. 2016; 11: e0164179. doi: 10.1371/journal.pone.0164179

45. Carracedo M, Witasp A, Qureshi AR, Laguna-Fernandez A, Brismar T, Stenvinkel P, et al. Chemerin inhibits vascular calcification through ChemR23 and is associated with lower coronary calcium in chronic kidney disease. *J Intern Med*. 2019; 286(4): 449-457. doi: 10.1111/joim.12940

46. Li Y, Shi B, Li S. Association between serum chemerin concentrations and clinical indices in obesity or metabolic syndrome: a meta-analysis. *PLoS One*. 2014; 9: e113915. doi: 10.1371/journal.pone.0113915

47. Roguska J, Zubkiewicz-Kucharska A. Chemerin as an early marker of metabolic syndrome. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab*. 2018; 24(1): 45-51. doi: 10.18544/PEDM-24.01.0102

48. Neves KB, Nguyen Dinh CA, Alves-Lopes R, Harvey KY, Costa RMD, Lobato NS, et al. Chemerin receptor blockade improves vascular function in diabetic obese mice via redox-sensitive and Akt-dependent pathways. *Am J Physiol*. 2018; 315(6): 1851-1860. doi: 10.1152/ajpheart.00285.2018

49. Kaur J, Mattu HS, Chatha K, Randeva HS. Chemerin in human cardiovascular disease. *Vascul Pharmacol*. 2018; 110: 1-6. doi: 10.1016/j.vph.2018.06.018

50. Kutlay Ö, Kaygısız Z, Kaygısız B. The effect of chemerin on cardiac parameters and gene expressions in isolated perfused rat heart. *Balkan Med J*. 2019; 36(1): 43-48. doi: 10.4274balkanmedj.2017.1787

51. Heiker JT. Vaspin (serpinA12) in obesity, insulin resistance, and inflammation. *J Pept Sci.* 2014; 20(5): 299-306. doi: 10.1002/psc.2621

52. Kurowska P, Mlyczyńska E, Dawid M, Dupont J, Rak A. Role of vaspin in porcine ovary: effect on signaling pathways and steroid synthesis via GRP78 receptor and protein kinase A. *Biol Reprod*. 2020. 102(6): 1290-1305. doi: 10.1093biolreioaa027

53. Fasshauer M, Blüher M. Adipokines in health and disease. *Tr Pharmacol Sci*. 2015; 36(7): 461-470. doi: 10.1016/j.tips.2015.04.014

54. Mihanfar A, Rahmati-Yamchi M, Mota A, Abediazar S, Pilehvar-Soltanahmadi Y, Zarghami N. Serum levels of vaspin and its correlation with nitric oxide in type 2 diabetic patients with nephropathy. *Curr Diabetes Rev*. 2018; 14(2): 162-167. doi: 10.2174/1573399813666170530103216

55. Heiker JT, Klöting N, Kovacs P, Kuettner EB, Sträter N, Schultz S, et al. Vaspin inhibits kallikrein 7 by serpin mechanism. *Cell Mol Life Sci*. 2013; 70(14): 2569-2583. doi: 10.10072Fs00018-013-1258-8

56. Bao JP, Xu LH, Ran JS, Xiong Y, Wu LD. Vaspin prevents leptin-induced inflammation and catabolism by inhibiting the activation of nuclear factor-κB in rat chondrocytes. *Mol Med Rep*. 2017; 16(3): 2925-2930. doi: 10.3892/mmr.2017.6911

57. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science*. 2005; 307(5708): 426-30. doi: 10.1126/science.1097243

58. Abella V, Scotece M, Conde J, López V, Lazzaro V, Pino J, et al. Adipokines, metabolic syndrome and rheumatic diseases. *J Immunol Res*. 2014: 343746. doi: 10.1155/2014/343746

59. Olszanecka-Glinianowicz M, Kocełak P, Nylec M, Chudek J, Zahorska-Markiewicz B. Circulating visfatin level and visfatin/insulin ratio in obese women with metabolic syndrome. *Arch Med Sci*. 2012; 8(2): 214-218. doi: 10.51114/aoms.2012.28547

60. Adya R, Tan BK, Punn A, Chen J, Randeva HS. Visfatin induces human endothelial VEGF and MMP-2/9 production via MAPK and PI3K/Akt signalling pathways: novel insights into visfatin-induced angiogenesis. *Cardiovasc Res*. 2008; 78: 356-365. doi: 10.1093/cvr/cvm111

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

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

63. Yue P, Jin H, Xu S, Aillaud M, Deng AC, Azuma J, et al. Apelin decreased lipolis via Gq, Gi and AMPK-dependent mechanism. *Endocrinology*. 2011; 152(1): 59-68. doi: 10.1210/en.2010-0576

64. DePaoli AM. 20 years of leptin: leptin in common obesity and associated disorders of metabolism. *J Endocrinol*. 2014; 223(1): 71-81. doi: 10.12703/P6-73

65. Park HK, Ahima RS. Leptin signaling. *F1000Prime Rep*. 2014, 6: 73. doi: 10.1530/JOE-14-0258

66. Myers MG, Cowley MA, Münzberg H. Mechanisms of leptin action and leptin resistance. *Annu Rev Physiol*. 2008, 70: 537-556. doi: 10.1111.1440-1681.2011.05623.x

55. Romanova IV, Derkach KV, Morina AYu, Sukhov IB, Kuznetsova LA, Shpakov AO. Changes in the ratio of orexigenic and anorexigenic factors in the hypothalamus of obese rats caused by the cafeteria diet. *Russian Journal of Physiology*. 2018; 104(6): 724-730. (In Russ.). doi: 10.7868/S0869813918-060163

68. Bełtowski J. Leptin and the regulation of endothelial function in physiological and pathological conditions. *Clin Exp Pharm Physiol*. 2012; 39(2): 168-178. doi: 10.1016/j.brainresbull.2012.08.003

69. Schinzari F, Tesauro M, Rovella V, Daniele ND, Mores N, Veneziani A, et al. Leptin stimulates both endothelin-1 and nitric oxide activity in lean subjects but not in patients with obesity-related metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013; 98(3): 1235-1241. doi: 10.1210/jc.2012-3424

70. Landecho MF, Tuero C, Valentí V, Bilbao I, Higuera M, Frühbeck G. Relevance of leptin and other adipokines in obesity-associated cardiovascular risk. *Nutrients*. 2019; 11(11): 2664. doi: 10.3990/nu11112664

71. Vecchione C, Maffei A, Colella S, Aretini A, Poulet R, Frati G, et al. Leptin effect on endothelial nitric oxide is mediated through Akt-endothelial nitric oxide synthase phosphorylation pathway. *Diabetes.* 2002; 51: 168-173. doi: 10.2337/diabetes.5.1.1.168

72. Mitchell JL, Morgan DA, Correia ML, Mark AL, Sivitz WI, Haynes WG. Does leptin stimulate nitric oxide to oppose the effects

of sympathetic activation? *Hypertension*. 2001; 38: 1081-1086. doi: 10.1111.1440-1681.2011.05623.x

73. de Boer MP, Meijer RI, Richter EA, Nieuw Amerongen GP, Sipkema P, Poelgeest EM, et al. Globular adiponectin controls insulin-mediated vasoreactivity in muscle through AMPKα2. *Vascul Pharmacol*. 2016. 78: 24-35. doi: 10.1016/j.vph.2015.09.002

74. Adya R, Tan BK, Randeva HS. Differential effects of leptin and adiponectin in endothelial angiogenesis. *J Diabetes Res*. 2015: 648239. doi: 10.1155/2015/648239

75. Grossini E, Farruggio S, Qoqaiche F, Raina G, Camillo L, Sigaudo L, et al. Monomeric adiponectin modulates nitric oxide release and calcium movements in porcine aortic endothelial cells in normal/high glucose conditions. *Life Sci.* 2016; 161: 1-9. doi: 10.1016/j.efs.2016.07.010

76. Xia N, Horke S, Habermeier A, Closs EI, Reifenberg G, Gericke A, et al. Uncoupling of endothelial nitric oxide synthase in perivascular adipose tissue of diet-induced obese mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016; 36(1): 78-85. doi: 10.1161/ATVBAHA.115.306263

77. Zhao L, Fu Z, Wu J, Aylor KW, Barrett EJ, Cao W, et al. Globular adiponectin ameliorates metabolic insulin resistance via AMPK-mediated restoration of microvascular insulin responses. *J Physiol.* 2015; 593(17): 4067-4079. doi: 10.1113/JP270371

78. Brzoskwinia M, Pardyak L, Rak A, Kaminska A, Hejmej A, Marek S, et al. Flutamide alters the expression of chemerin, apelin, and vaspin and their respective receptors in the testes of adult rats. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(12): 4439. doi: 10.3390ijms21124439

79. Ebert T, Gebhardt C, Scholz M, Wohland T, Schleinitz D, Fasshauer M, et al. Relationship between 12 adipocytokines and distinct components of the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2018; 103(3): 1015-1023. doi: 10.1210/jc.2017-02085

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Akt – серин/треониновая протеинкиназа
AMPK – 5'-АМФ-активируемая протеинкиназа
cFOS – транскрипционный фактор cFOS
c-JUN – транскрипционный фактор cJUN
ERK – протеинкиназа, активируемая внеклеточными сигналами, компонент MAPK
G-белки – ГТФ-связывающие белки
JNK – c-Jun N-концевая протеинкиназа, компонент МАПК
mTOR – протеинкиназный комплекс – мишень для рапамицина
p70S6K – рибосомальная S6-киназа
TNF – фактор некроза опухоли
АФК – активные формы кислорода
АХ – ацетилхолин
ЖК – жирные кислоты
ЖТ – жировая ткань
иNO-синтаза – индуцибельная NO-синтаза
ИЛ-6 – интерлейкин-6
ИРС-1/-2 – инсулинорецепторные субстраты-1 и -2
ЛПВП – липопротеины высокой плотности
ЛПНП – липопротеины низкой плотности
МЕК – протеинкиназа митоген-активируемого протеинкиназного каскада, активирующая ERK
МС – метаболический синдром
нNO-синтаза – нейрональная NO-синтаза
ПЖЖ – поджелудочная железа
ПКА – протеинкинеаза А
ПКС – протеинкиназа С
СД1 – сахарный диабет 1-го типа
СД2 – сахарный диабет 2-го типа
ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания
ТГ – триглицериды
ФИ-3-К – фосфатидилинозитол-3-киназа
цАМФ – циклический аденозинмонофосфат
цГМФ – циклический гуанозинмонофосфат
ЦНС – центральная нервная система
ЦОГ-2 – циклооксигегеназа-2
эNO-синтаза – эндотелиальная NO-синтаза

Сведения об авторе

Кузнецова Людмила Александровна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эндокринологии и нейрохимии, ФГБУН Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, e-mail: praskovia1231@mail.ru

Information about the author

Lyudmila A. Kuznetsova – Dr. Sc. (Biol), Leading Research Officer at the Laboratory of Molecular Endocrinology and Neurochemistry, I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry

Статья поступила: 19.03.2021. Статья принята: 11.05.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 19.03.2021. Accepted: 11.05.2021. Published: 15.06.2021.

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ
INFECTIOUS DISEASES

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.4

Опыт применения комплексного антигенного препарата чумного микроба для оценки выраженности специфического противочумного ответа

Дубровина В.И. [1], Корытов К.М. [1], Пятидесятникова А.Б. [1], Киселева Н.О. [1], Войткова В.В. [1], Брюхова Д.Д. [1], Николаев В.Б. [1], Половинкина В.С. [1], Салчак Л.К. [2], Щучинов Л.В. [3], Балахонов С.В. [1]

[1] ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора (664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78, Россия); [2] Управление Роспотребнадзора по Республике Тыва (667010, г. Кызыл, ул. Калинина, 116, Россия); [3] Управление Роспотребнадзора по Республике Алтай (649002, г. Горно-Алтайск, Коммунистический просп., 173, Россия)

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

Резюме

Обоснование. *Совершенствование методологии иммунологического мониторинга в природных очагах чумы Российской Федерации и сопредельных территорий для повышения эффективности эпидемиологического надзора за чумой является актуальным направлением исследований. Отсутствие корреляции продукции специфических антител к капсульному антигену (F1) чумного микроба с другими показателями состояния реактивности клеточной защиты указывает на необходимость поиска новых информативных и доступных маркеров оценки противочумного иммунитета.*

Цель исследования: *оценить возможность применения искусственного антигенного комплекса на основе F1 и клеточных оболочек (КО) чумного микроба в антигенспецифических тестах in vitro у вакцинированных против чумы людей.*

Методы. *В исследовании приняли участие 153 добровольца, проживающих на энзоотичной по чуме территории (с. Хандагайты Овюрского кожууна Республики Тыва и с. Кош-Агач Кош-Агачского района Республики Алтай). Исследование включало определение спонтанной и митогениндуцированной продукции цитокинов (IFN-γ, IL-4, TNF-α) клетками крови, титров специфических антител IgG к капсульному антигену F1 чумного микроба и концентраций основных классов иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA и IgE) в сыворотке крови, а также иммунофенотипирование лимфоцитов крови (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19).*

Результаты. *Сравнительная оценка уровня цитокинов (TNF-α, IFN-γ и IL-4) в спонтанной/индуцированной F1 + КО Y. pestis пробах выявила статистически значимое повышение продукции цитокинов TNF-α и IFN-γ в индуцированных антигеном пробах по сравнению со спонтанными ($p < 0,01$).*

Заключение. *Таким образом, показана возможность применения искусственного антигенного комплекса на основе F1 и КО чумного микроба для оценки продукции цитокинов в антигенспецифических клеточных тестах in vitro, что обосновывает необходимость дальнейших исследований.*

Ключевые слова: *антигены, лимфоциты, живая чумная вакцина, цитокины, иммунитет*

Для цитирования: Дубровина В.И., Корытов К.М., Пятидесятникова А.Б., Киселева Н.О., Войткова В.В., Брюхова Д.Д., Николаев В.Б., Половинкина В.С., Салчак Л.К., Щучинов Л.В., Балахонов С.В. Опыт применения комплексного антигенного препарата чумного микроба для оценки выраженности специфического противочумного ответа. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 41-46. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.4.

Experience of Using a Complex Antigenic Preparation of the Plague Microbe to Assess the Severity of a Specific Anti-Plague Response

Dubrovina V.I. [1], Korytov K.M. [1], Petyatestnikova A.B. [1], Kiseleva N.O. [1], Voitkova V.V. [1], Bryukhova D.D. [1], Nikolaev V.B. [1], Polovinkina V.S. [1], Salchak L.K. [2], Shchuchinov L.V. [3], Balakhonov S.V. [1]

[1] Irkutsk Antiplague Research Institute of Rospotrebnadzor (Trilissera str. 78, 664047 Irkutsk, Russian Federation); [2] Directorate of the Rospotrebnadzor for the Republic of Tyva (Kalinina str. 116, Kyzyl 667010, Russian Federation); [3] Directorate of the Rospotrebnadzor for the Republic of Altai (Kommmunisticheskiy av. 173, Gorno-Altaisk 649002, Russian Federation)

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

Abstract

Background. *Improving the methodology of immunological monitoring in natural foci of plague in the Russian Federation and adjacent territories to increase the effectiveness of epidemiological surveillance of plague is an urgent line of research. The lack of correlation between the production of specific antibodies to the capsular antigen (F1)*

of the plague microbe with other indicators of the state of cellular defense reactivity indicates the need to search for new informative and accessible markers for assessing anti-plague immunity.
Objective: *to evaluate possibility of using the complex preparation (F1 and cell membranes) evaluate the possibilities of using an artificial antigenic complex based on F1 and cell membranes (CM) of the plague microbe in antigen-specific tests in vitro in people vaccinated against plague.*
Methods. *The study involved 153 volunteers living in the territory enzootic for plague (the village of Khandagayty of the Ovyur kozhuun of the Tyva Republic and the village of Kosh-Agach of the Kosh-Agach district of the Altai Republic). The study included the determination of spontaneous and mitogen-induced production of cytokines (IFN-γ, IL-4, TNF-α) by blood cells, titers of specific IgG antibodies to the capsular antigen F1 of the plague microbe and concentrations of the main classes of immunoglobulins (IgM, IgG, IgA and IgE) in blood serum, as well as immunophenotyping of blood lymphocytes (CD3, CD4, CD8, CD16, CD19).*
Results. *Comparative assessment of the level of cytokines (TNF-α, IFN-γ and IL-4) in spontaneous/induced F1+CM Y. pestis tests revealed a statistically significant increase in the production of cytokines TNF-α and IFN-γ in the antigen-induced tests compared with spontaneous ($p < 0.01$).*
Conclusion. *Thus, the effectiveness of the use of artificial antigenic complex based on F1 and cell membranes of the plague microbe has been shown to assess the production of cytokines in antigen-specific cell tests in vitro, which justifies the need for further research.*

Key words: *antigens, lymphocytes, live plague vaccine, cytokines, immunity*

For citation: Dubrovina V.I., Korytov K.M., Petyatestnikova A.B., Kiseleva N.O., Voitkova V.V., Bryukhova D.D., Nikolaev V.B., Polovinkina V.S., Salchak L.K., Shchuchinov L.V., Balakhonov S.V. Experience of Using a Complex Antigenic Preparation of the Plague Microbe to Assess the Severity of a Specific Anti-Plague Response. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 41-46. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.4.

ВВЕДЕНИЕ

Чума остаётся одной из самых опасных инфекционных болезней. Современный период характеризуется повышением эпизоотической активности в ряде природных очагов чумы [1, 2, 3], возрастанием вероятности распространения инфекции на энзоотичной территории и риска диссеминации чумы за её пределы [4, 5]. Всё это обусловливает особое внимание к вопросам противодействия распространения и профилактики болезни.

На территории Российской Федерации расположены 11 природных очагов чумы, большинство из которых имеют трансграничный характер. В России для предотвращения угрозы распространения чумы на территории природных очагов инфекции разработан комплекс мер, включающий применение мероприятий по специфической и неспецифической профилактике этой опасной болезни. Вакцинацию применяют в случае риска заражения в природных очагах этой инфекции, в период регистрации локальных и разлитых эпизоотий и при проведении мероприятий по локализации и ликвидации эпидемических очагов. Для специфической профилактики чумы в России и в ряде стран СНГ используют живую вакцину (ВЧЖ) на основе аттенуированного штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ (ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора).

В период с 2000 по 2018 г. эпизоотии чумы регистрировали в 5 из 11 природных очагов Российской Федерации [6]. В 2014 и 2016 гг. после длительного эпидемического благополучия были отмечены единичные случаи заболевания людей бубонной формой чумы. Заражения произошли на фоне эпизоотии в популяции серого сурка на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага [7, 8]. Экстраординарный случай заражения людей чумой в Кош-Агачском районе Республики Алтай послужил основанием для инициации масштабного исследования продолжительности и выраженности иммунологической перестройки в организме вакцинированных против чумы лиц с уточнением временных особенностей формирования реакций клеточного и гуморального ответов, получением объективных данных о безопасности использования вакцины, в том числе в условиях ежегодной вакцинации [9, 10].

Доказанное в исследованиях отсутствие корреляции продукции специфических антител к капсульному антигену (F1) чумного микроба с другими показателями состояния реактивности клеточной защиты ещё раз указывает на необходимость поиска новых информативных и доступных маркеров оценки противочумного иммунитета [11].

Таким образом, разработка и внедрение в практику новых подходов к оценке эффективности иммунопрофилактики чумы, основанных на применении антигенспецифических клеточных тестов in vitro с использованием современного высокоточного аналитического оборудования, и широкая интеграция этих подходов в систему организации и проведения эпидемиологического надзора за чумой является актуальным направлением научных исследований.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценить возможность применения искусственного антигенного комплекса на основе F1 и клеточных оболочек (КО) чумного микроба в антигенспецифических тестах *in vitro* у вакцинированных против чумы людей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В рамках исследований по совершенствованию методологии иммунологического мониторинга в природных очагах чумы Российской Федерации и сопредельных территорий для повышения эффективности эпидемиологического надзора за чумой, приняли участие 153 добровольца (скрининговая группа без учёта пола, возраста), проживающих на энзоотичной по чуме территориях и неоднократно вакцинированных ЖЧВ, из которых 53 человека из с. Хандагайты Овюрского кожууна Республики Тыва (группа 1) и 100 из с. Кош-Агач Кош-Агачского района Республики Алтай (группа 2). Критерием включения в исследование служили возраст не моложе 18 лет, срок с момента вакцинации/ревакцинации не более 6 месяцев, а также непосредственное проживание на энзоотичной по чуме территории.

В работе с добровольцами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией

Всемирной медицинской ассоциации. Волонтёры дали письменное информированное согласие для участия в исследованиях. Протоколы утверждены локальным этическим комитетом ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора.

Исследование проводили согласно разработанным в РосНИПЧИ «Микроб» методическим рекомендациям «Оценка уровня иммунитета у лиц, вакцинированных (ревакцинированных) против чумы» (Саратов, 2015 г.). Забор клинического материала (крови) проводили с помощью вакуумных систем для взятия крови (Vacutest Kima, Италия). Из крови выделяли сыворотку по стандартной методике. Для определения уровня продукции цитокинов кровь предварительно смешивали с питательной средой RPMI 1640, содержащей 100 мкг/мл гентамицина, в соотношении 1:4. В опытные пробы вносили по 100 мкл раствора экспериментального антигенного препарата, состоящего из капсульного антигена (F1) и клеточных оболочек (КО) *Yersinia pestis* в соотношении 1:1 по сухому веществу (F1 + КО) [12] в концентрации 20 мкг на пробу (индуцированная проба), а в контрольные – забуференный физиологический раствор (ЗФР, спонтанная проба), и инкубировали 24 часа при температуре 37 °С.

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

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

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA» версия 6.1 непараметрическим критериям Манна – Уитни, так как сравниваемые выборки не соответствовали критериям нормальности, также отсутствовало равенство дисперсий. Полученные данные выражали в виде медианы (*Me*) и диапазона квартильных отклонений (Q25–Q75). При этом различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При исследовании сывороток крови добровольцев скрининговой группы специфические антитела к капсульному антигену F1 чумного микроба обнаружены только у 28,3 %. При сравнительном анализе показателей основных классов иммуноглобулинов в сыворотке крови установлено, что концентрация IgE варьировала в пределах референсных значений (табл. 1). Следует отметить, что у 27 добровольцев (17,6 % от общего числа) наблюдались высокие концентрации IgG, превышающие референсные значения (более 16 мг/мл) в среднем в 1,5 раза. Аналогичные изменения выявлены у 43 человек (28 %) в случае IgM и у 36 (23,5 %) – IgA.

В ходе предварительных исследований нами было показано, что экспериментальный препарат F1 + КО в дозах 6,3, 12,5 и 25 мкг способствует синтезу IL-8, IL-10 и TNF-α клетками крови человека ($p < 0,05$). Кроме того, этот препарат в дозе 25 мкг увеличивает продукцию IL-2 ($p = 0,03$). Также на примере клеток крови лабораторных животных была показана возможность применения F1 + КО в дозе 12,5 мкг для оценки выраженности специфического противочумного ответа [13].

Так, при оценке уровня цитокинов (TNF-α, IFN-γ и IL-4) в спонтанной/индуцированной в дозе 20 мкг F1 + КО *Y. pestis* в пробах установлены статистически значимые различия (рис. 1), которые выявили повышение продукции цитокинов TNF-α (67,4 раза) и IFN-γ (15,3 раза)

Таблица 1

Основные классы иммуноглобулинов, Me (Q25–Q75)

Table 1

Main classes of immunoglobulins, Me (Q25 –Q75)

Показатель	Исследуемая группа добровольцев	Референсные значения
IgE общ. (МЕ/мл)	15,0 (5,0–40,0)	0–100
IgM (мг/мл)	1,9 (1,0–4,0)	0,4–2,3
IgG (мг/мл)	10,3 (7,0–18,6)	7,0–16,0
IgA (мг/мл)	3,3 (1,5–5,7)	0,7–4,0

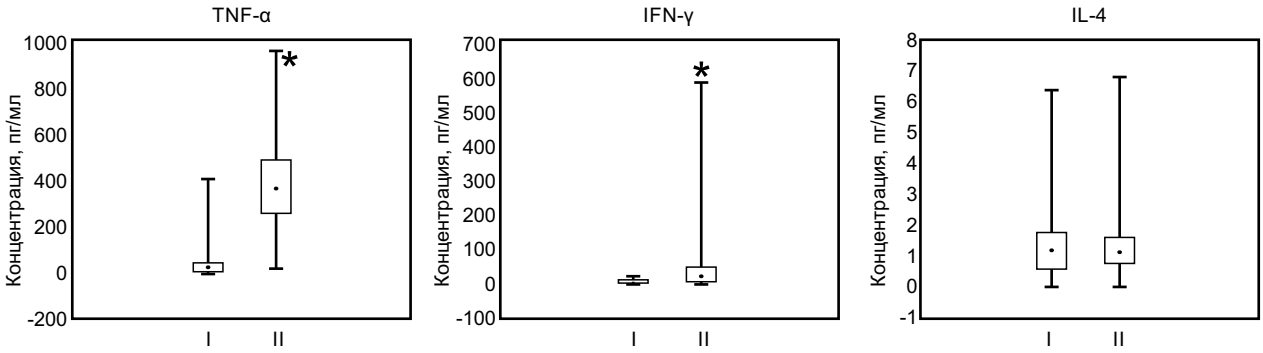


Рис. 1. Спонтанная и индуцированная продукция цитокинов (TNF-α, IFN-γ и IL-4) у людей, вакцинированных ЖЧВ, Me (Q25–Q75): I – спонтанная продукция цитокина; II – индуцированная препаратом капсульного антигена и клеточных оболочек *Y. pestis* в дозе 20 мкг на пробу; * – статистически значимо по сравнению со спонтанной продукцией цитокина ($p < 0,01$)

Fig. 1. Spontaneous and induced cytokine production (TNF-α, IFN-γ, and IL-4) in humans vaccinated with HPV, Me (Q25–Q75): I – spontaneous cytokine production; II – induced by the preparation of the capsular antigen and cell membranes of *Y. pestis* at a dose of 20 μg per sample; * – statistically significant in comparison with spontaneous cytokine production ($p < 0.01$)

Таблица 2

Динамика содержания натуральных киллеров, Т- и В-лимфоцитов в крови людей, вакцинированных ВЧЖ, Me (Q25–Q75)

Table 2

Dynamics of the content of natural killer cells, T- and B-lymphocytes in the blood of people vaccinated with LPV, Me (Q25–Q75)

Показатель, %	Референсные значения	Группа 1	Группа 2
$CD3^+$	58–76	70,8 (64,1–74,1)	75,8 (71,6–79,2)*
$CD3^+CD8^+$	17–37	23,9 (19,6–29,2)	25,5 (22,0–29,9)
$CD3^+CD4^+$	35–55	39,4 (33,7–42,3)	42,5 (39,3–45,7)**
$CD3^-CD16^+$	6–26	14,2 (10,6–16,6)	11,3 (9,1–16,2)
$CD19^+$	8–19	9,1 (7,3–11,2)	9,4 (8,0–11,5)

Примечание. * – $p < 0,01$, ** – $p < 0,001$ – уровни статистической значимости по отношению к значениям показателя добровольцев группы 1.

в индуцированных антигеном пробах по сравнению со спонтанными ($p < 0,01$). Концентрация IL-4 под влиянием F1+КО статистически значимо не изменилась.

В ходе изучения клеточного состава крови людей, проживающих на территории Тувинского и Горно-Алтайского природных очагов чумы, было показано, что содержание Т-лимфоцитов и их субпопуляций (Т-хелперы и цитотоксические Т-лимфоциты), NK-клеток и В-лимфоцитов находилось в пределах физиологической нормы. В то же время у людей, проживающих в с. Кош-Агач Кош-Агачского района Республики Алтай (группа 2), выявлены статистически значимо более высокие показатели процентного содержания $CD3^+$- и $CD3^+CD4^+$-клеток по сравнению с добровольцами из с. Хандагайты Овюрского кожууна Республики Тыва (табл. 2).

Показано, что ИРИ у добровольцев группы 1 составил 1,6 (1,2–2,0), а у группы 2 – 1,7 (1,3–2,1). Важно отметить, что показатели ИРИ у всех добровольцев не превышал референсных значений (показатели были в пределах от 1,0 до 2,6).

Таким образом, показана возможность применения искусственного антигенного комплекса на основе F1 и КО чумного микроба в антигенспецифических клеточных тестах *in vitro* по количественному определению концентрации биомаркерных цитокинов лимфоцитами крови условно здоровых и неоднократно вакцинированных ВЧЖ людей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные в ходе исследований данные позволяют рассматривать предложенный антиген как перспективный для оценки эффективности иммунопрофилактики чумы в антигенспецифических клеточных тестах *in vitro*, что обосновывает необходимость дальнейших исследований.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Aikimbayev AM, Bekenov JY, Meka-Mechenko TV, Temiraliyeva GA. The epidemiological surveillance of highly pathogenic diseases in Kazakhstan. *Emerging and Endemic Pathogens*. *NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology*. 2010; 00: 15-20. doi: 10.1007/978-90-481-9637-1_2

2. Попов Н.В., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Вершинин С.А. и др. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в 2008–2017 гг. и прогноз на 2018 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; (1): 50-55. doi: 10.21055/0370-1069-2018-1-50-55

3. Sariyeva G, Abdel Z, Shabunin A, Sagiyev Z, Abdikarimov S, Bazarkanova G, et al. Current status of the Sari-Dzhas natural focus of plague, Kyrgyzstan: Epizootic activity and marmot population. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. 2018; 18(10): 524-532. doi: 10.1089/vbz.2017.2200

4. Li B, Yang R. Interaction between *Yersinia pestis* and host immune system. *Infect Immun.* 2008; 76(5): 1804-1181. doi: 10.1128/IAI.01517-07

5. Hammamieh R, Muhie S, Borschel R, Gautam A, Miller S-A, Chakraborty N, et al. Temporal progression of pneumonic plague in blood of nonhuman primate: A transcriptomic analysis. *PLoS ONE*. 2016; 11(3): e0151788. doi: 10.1371/journal.pone.0151788

6. Попов Н.В., Карнаухов И.Г., Пакскина Н.Д., Ерошенко Г.А., Кузнецов А.А., Матросов А.Н. и др. Оценка современной эпи-

демиологической обстановки в природных очагах чумы мира. Повышение эффективности эпидемиологического надзора в природных очагах чумы Российской Федерации и прогноз их эпизоотической активности на 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; (1): 81-88. doi: 10.21055/0370-1069-2019-1-81-88

7. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Щучинов Л.В. и др. Заболевание человека чумой в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге в 2014 г. Сообщение 1. Эпидемиологические и эпизоотологические особенности проявлений чумы в Горно-Алтайском высокогорном (Сайлюгемском) природном очаге чумы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; (4): 9-16. doi: 10.21055/0370-1069-2014-4-9-16

8. Попова А.Ю., Кутырев В.В., Балахонов С.В., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д. и др. Координация мероприятий противочумных учреждений Роспотребнадзора по оздоровлению Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы в 2016 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; (4): 5-10. doi: 10.21055/0370-1069-2016-4-5-10

9. Корытов К.М., Войткова В.В., Дубровина В.И., Носков А.К., Мищенко А.И., Балахонов С.В. Оценка иммунологической эффективности вакцинации против чумы в активном природном очаге. Сообщение 1. Цитокиновый и иммуноглобулиновый статус. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2017; 16(2): 45-48. doi: 10.31631/2073-3046-2017-16-2-45-48

10. Клюева С.Н., Бугоркова С.А., Гончарова А.Ю., Кравцов А.Л., Кудрявцева О.М., Санджиев Д.Н. и др. Комплексный анализ корреляционных взаимосвязей между показателями гуморального и клеточного иммунитета у лиц, вакцинированных против чумы. *Инфекция и иммунитет***.** 2019; 9(1): 135-141. doi: 10.15789/2220-7619-2019-1-135-146

11. Корытов К.М., Войткова В.В., Дубровина В.И., Пятидесятникова А.Б., Носков А.К., Глушков Э.А. и др. Оценка эффективности вакцинации населения против чумы в Тувинском природном очаге. *Acta Biomedica Scientifica*. 2019; 4(5): 31-37. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.5

12. Николаев В.Б., Иванова Т.А., Половинкина В.С., Саппо С.Г., Попова Ю.О., Марков Е.Ю., Голубинский Е.П. *Способ получения иммуногенного препарата из Yersinia pestis EV*: Пат. № 2248217; МПК A61K 39/02 (2000.01), C12P 21/00 (2000.01). Заявл. 20.11.2004; опубл. 20.03.2005. № 2003115185/13.

13. Половинкина В.С., Войткова В.В., Николаев В.Б., Дубровина В.И., Марков Е.Ю. Исследование диагностической значимости субклеточных фракций чумного микроба для оценки выраженности иммунного ответа. *Медицина труда и экология человека***.** 2019; 4(20): 34-38. doi: 10.24411/2411-3794-2019-10045

REFERENCES

1. Aikimbayev AM, Bekenov JY, Meka-Mechenko TV, Temiraliyeva GA. The epidemiological surveillance of highly pathogenic diseases in Kazakhstan. In: O'Connell K, Skowronski E, Sulakvelidze A, Bakanidze L. (eds) Emerging and Endemic Pathogens. *NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology.* 2010; 00: 15-20. doi: 10.1007/978-90-481-9637-1_2

2. Popov NV, Kuznetsov AA, Matrosov AN, Korzun VM, Verzhutsky DB, Vershinin SA, et al. Epizootic activity of natural plague foci of the Russian Federation in 2008–2017 and forecast for 2018. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2018; (1): 50-55. (In Russ.). doi: 10.21055/0370-1069-2018-1-50-55

3. Sariyeva G, Abdel Z, Shabunin A, Sagiyev Z, Abdikarimov S, Bazarkanova G, et al. Current status of the Sari-Dzhas natural focus of plague, Kyrgyzstan: Epizootic activity and marmot population. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*. 2018; 18(10): 524-532. doi: 10.1089/vbz.2017.2200

4. Li B, Yang R. Interaction between *Yersinia pestis* and host immune system. *Infection and Immunity*. 2008; 76(5): 1804-1181. doi: 10.1128/IAI.01517-07

5. Hammamieh R, Muhie S, Borschel R, Gautam A, Miller S-A, Chakraborty N, et al. Temporal progression of pneumonic plague in blood of nonhuman primate: A transcriptomic analysis. *PLoS ONE*. 2016; 11(3): e0151788. doi: 10.1371/journal.pone.0151788

6. Popov NV, Karnaukhov IG, Pakskina ND, Eroshenko GA, Kuznetsov AA, Matrosov AN, et al. Analysis of the current epidemiological situation in natural plague foci around the world. Enhancement of the effectiveness of epidemiological surveillance in natural plague foci of the Russian Federation and forecast of their epizootic activity for 2019. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2019; (1): 81-88. (In Russ.). doi: 10.21055/0370-1069-2019-1-81-88

7. Kutyrev VV, Popova AY, Ezhlova EB, Demina YV, Pakskina ND, Shchuchinov LV, et al. Infection of an individual with plague in the Gorno-Altaisk high-mountain natural focus in 2014. Report 1. Epidemiological and epizootiological peculiarities of plague manifestations in the Gorno-Altaisk high-mountain (Sailyugemsky) natural plague focus. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2014; (4): 9-16. (In Russ.). doi: 10.21055/0370-1069-2014-4-9-16

8. Popova AY, Kutyrev VV, Balakhonov SV, Ezhlova EB, Demina YV, Pakskina ND, et al. Coordination of measures of plague control institutions, aimed at rehabilitation and sanitation of Gorno-Altai high-mountain natural plague focus in 2016. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2016; (4): 5-10. (In Russ.). doi: 10.21055/0370-1069-2016-4-5-10

9. Korytov KM, Voitkova VV, Dubrovina VI, Noskov AK, Mishchenko AI, Balakhonov SV. Immunological efficiency of plague vaccination in the active natural focus. Report 1. Cytokine and immunoglobulin status. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2017; 16(2): 45-48. (In Russ.). doi: 10.31631/2073-3046-2017-16-2-45-48

10. Klyueva SN, Bugorkova SA, Goncharova AYu, Kravtsov AL, Kudryavtseva OM, Sandzhiev DN, et al. Comprehensive analysis of the correlations between the indices of humoral and cellular immunity in individuals vaccinated against plague. *Infection and immunity.* 2019; 9(1): 135-141. (In Russ.). doi: 10.15789/2220-7619-2019-1-135-146

11. Korytov KM, Voitkova VV, Dubrovina VI, Pyatidesyatnikova AB, Noskov AK, Glushkov EA, et al. Efficiency of human plague vaccination in Tuvinian natural plague focus. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 31-37. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.5

12. Markov EYu, Golubinsky EP, Sappo SG, Nikolaev VB, Polovinkina VS, Popova YuO, Ivanova TA. *Method of obtaining an immunogenic preparation from Yersinia pestis EV*: Patent of the Russian Federation N 2248217. (In Russ.)

13. Polovinkina VS, Voitkova VV, Nikolaev VB, Dubrovina VI, Markov EYu. Investigation of the diagnostic significance of the subcellular fractions of the plague microbe to assess the severity of the immune response. *Occupational health and human ecology*. 2019: 4(20): 34-38. (In Russ.). doi: 10.24411/2411-3794-2019-10045

Сведения об авторах

Дубровина Валентина Ивановна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией патофизиологии, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-8561-6207

Корытов Константин Михайлович – научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, https://orcid.org/0000-0003-1137-6049

Пятидесятникова Анна Борисовна – младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, https://orcid.org/0000-0002-6381-4517

Киселева Наталья Олеговна – лаборант-исследователь лаборатории патофизиологии, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, e-mail: nata13026@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-6678-2998

Войткова Валентина Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, https://orcid.org/0000-0002-0685-7625

Брюхова Дарья Дмитриевна – младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, https://orcid.org/0000-0002-5589-9522

Николаев Валерий Борисович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник биохимического отдела, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, https://orcid.org/0000-0001-7282-3696

Половинкина Валерия Сергеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник биохимического отдела, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, https://orcid.org/0000-0003-4706-4186

Салчак Людмила Кимовна – руководитель, Управление Роспотребнадзора по Республике Тыва, e-mail: mail@17.rospotrebnadzor.ru

Щучинов Леонид Васильевич – руководитель, Управление Роспотребнадзора по Республике Алтай, e-mail: rpn_ra@mail.gorny.ru

Балахонов Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, директор, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, e-mail: balakhonov.irk@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-4201-5828

Information about the authors

Valentina I. Dubrovina – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: dubrovinavalya@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-8561-6207

Konstantin M. Korytov – Research Officer, Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, https://orcid.org/0000-0003-1137-6049

Anna B. Pyatidesyatnikova – Junior Research Officer, Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, https://orcid.org/0000-0002-6381-4517

Natalia O. Kiseleva – Laboratory Assistant-Researcher, Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: nata13026@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-6678-2998

Valentina V. Voitkova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer, Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, https://orcid.org/0000-0002-0685-7625

Daria D. Briukhova – Junior Research Officer, Pathophysiological Laboratory, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: darabrukhov@ mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-5589-9522

Lyudmila K. Salchak – Head, Directorate of the Rospotrebnadzor for the Republic of Tyva, **e**-mail: mail@17.rospotrebnadzor.ru

Leonid V. Shchuchinov – Head, Directorate of the Rospotrebnadzor for the Altai Republic, e-mail: rpn_ra@mail.gorny.ru

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

Вклад авторов

Дубровина В.И. – планирование эксперимента, анализ результатов, написание статьи.

Корытов К.М. – постановка реакций, учёт и анализ результатов, оформление статьи.

Пятидесятникова А.Б. – постановка реакций, учёт и анализ результатов.

Киселева Н.О. – постановка реакций, учёт и анализ результатов.

Войткова В.В. – постановка реакций, учёт и анализ результатов, оформление статьи.

Брюхова Д.Д. – постановка реакций, учёт и анализ результатов.

Николаев В.Б. – получение и характеристика антигена, анализ результатов, оформление статьи.

Половинкина В.С. – получение и характеристика антигена, анализ результатов, оформление статьи.

Салчак Л.К. – организация забора материала для исследования.

Щучинов Л.В. – организация забора материала для исследования.

Балахонов С.В. – планирование научной темы, оформление статьи.

Статья получена: 24.02.2021. Статья принята: 19.04.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 24.02.2021. Accepted: 19.04.2021. Published: 15.06.2021.

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.5

Ретроспектива международных серологических исследований по формированию и динамике гуморального иммунного ответа к SARS-CoV-2: от 2020 к 2021

Новикова Е.А., Петрова А.Г., Москалева Е.В., Ваняркина А.С., Рычкова Л.В.

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

Автор, ответственный за переписку: Новикова Евгения Анатольевна, e-mail: europe411@mail.ru

Резюме

11 марта 2020 г Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила о пандемии новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2, отличающейся высокой контагиозностью и тяжёлыми осложнениями, обусловленными инфекцией заболевания COVID-19. Механизмы формирования гуморального иммунитета и динамики антител к SARS-CoV-2 в популяции оказались неизвестны. Поэтому в этом обзоре нами была поставлена задача обобщить и проанализировать многочисленные зарубежные и отечественные серологические исследования, проведённые за год пандемии, для понимания динамики гуморального иммунного ответа, а также получения картины серопревалентности антител к SARS-CoV-2 в мировой популяции. Литературный поиск проводился в базах данных «PubMed» и «e-library» по ключевым словам «SARS-CoV-2 антитела», «SARS-CoV-2 гуморальный иммунитет» за период: февраль 2020 – март 2021 г. В начале пандемии понимание о формировании гуморального иммунного ответа приходило за счёт одноэтапных скрининговых исследований серопревалентности SARS-CoV-2, позже начали появляться данные лонгитюдных сероэпидемиологических исследований по кинетике антител. Время сероконверсии антител IgM, IgG варьирует, но большинство исследователей докладывают о появлении IgM с 1-го по 14-й день после начала клинических проявлений, IgG – на 14-й день с пиком концентрации к 21-му дню. В целом можно сказать о низкой серопревалентности антител к SARS-CoV-2 в мировой популяции – около 10 %, и более 20 % в регионах с высокой заболеваемостью и среди работников здравоохранения. Необходимы дальнейшие исследования по мониторингу напряжённости гуморального иммунитета к SARS-CoV-2, т. к. большинство людей во всём мире по-прежнему подвержены инфицированию SARS-CoV-2.

Ключевые слова: *серологические исследования, гуморальный иммунитет, серопревалентность, сероконверсия, антитела, SARS-CoV-2, COVID-19*

Для цитирования: Новикова Е.А., Петрова А.Г., Москалева Е.В., Ваняркина А.С., Рычкова Л.В. Ретроспектива международных серологических исследований по формированию и динамике гуморального иммунного ответа к SARS-CoV-2: от 2020 к 2021. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 47-57. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.5.

Retrospective of International Serological Studies on the Formation and Dynamics of the Humoral Immune Response to SARS-CoV-2: from 2020 to 2021

Novikova E.A., Petrova A.G., Moskaleva E.V., Vanyarkin*a* A.S., Rychkova L.V.

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

Corresponding author: Evgenia A. Novikova, e-mail: europe411@mail.ru

Abstract

Last year the COVID-19 pandemic caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) has started. The new coronavirus is highly contagious and causes severe complications. The mechanisms of humoral immunity and kinetics of SARS-CoV-2 specific antibodies in a population are not well understood. Therefore, we aimed to summarize and analyze numerous global and Russian serological studies for understanding dynamics of the SARS-CoV-2 humoral immune response and getting an accurate picture of the seroprevalence to SARS-CoV-2 in the world population. The PubMed and e-library databases were searched from February 2020 to March 2021 using terms "SARS-CoV-2", "antibodies", "humoral immunity". At the beginning of the pandemic first studies were cross-sectional by design and were responsible for determination of the seropositivity and for understanding the fundamental humoral immunity parameters of SARS-CoV-2. Since then, longitudinal seroepidemiological studies have been studying antibody kinetics. Seroconversion time for IgM, IgG antibodies varies, but most researchers report the seroconversion of IgM from the 1st to 14th days after the onset of clinical manifestations, and the seroconversion for IgG is around the 14th day with a concentration peak by the 21st day. Regarding seroprevalence we may say about low herd immunity at the COVID-19 pandemic. Thus, global seroprevalence is about 10 %, and more than 20 % for regions with high incidence and among healthcare workers. Seroprevalence studies have to be continued for more accurate monitoring of long-term humoral immunity to SARS-CoV-2, because the majority of the world's population is still susceptible to SARS-CoV-2 infection.

Key words: *serological studies, humoral immunity, seroprevalence, seroconversion, antibodies, SARS-CoV-2, COVID-19*

For citation: Novikova E.A., Petrova A.G., Moskaleva E.V., Vanyarkin*a* A.S., Rychkova L.V. Retrospective of International Serological Studies on the Formation and Dynamics of the Humoral Immune Response to SARS-CoV-2: from 2020 to 2021. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 47-57. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.5

ВВЕДЕНИЕ

11 марта 2020 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила о пандемии новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus 2) или коронавирусного заболевания COVID-19 (COronaVIrus Disease 2019), впервые

зарегистрированного в г. Ухань, Китай в декабре 2019 г. [1]. На 14 марта 2021 г. зарегистрирован 119 220 681 подтверждённый случай по всему миру, из них – более 2,6 миллионов смертей [2]. В Российской Федерации на 15 марта зафиксировано 4 390 608 случаев заражения SARS-CoV-2, из них умерло 92 090 человека [3]. Перенесённая COVID-19-инфекция существенно ухудшает качество жизни и вызывает патологические изменения в различных органах и системах [4–6].

По структуре SARS-CoV-2 – вирус с одноцепочечной РНК позитивной полярности, относящийся к семейству Coronaviridae, роду *Betacoronavirus*. Ближайший его родственник SARS-CoV в 2002–2004 гг. впервые стал причиной развития атипичной пневмонии или тяжёлого острого респираторного синдрома, за что и получил впервые соответствующее название SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus). MERS-CoV, другой представитель семейства, вызвал вспышку ближневосточного респираторного синдрома (Middle East Respiratory Syndrome, MERS) на Аравийском полуострове в 2012 г. SARS-CoV-2 так же, как и другие коронавирусы SARS-CoV и MERS-CoV, является высокопатогенным (II группа патогенности) [1]. Основные антигены нового коронавируса: белки шипа или так называемой «короны» (spike, S), оболочки (envelope, E), мембраны (membrane, M), нуклеокапсида (nucleocapsid, N), рецепторсвязывающего домена (receptor binding domain, RBD) S1-субъединицы спайкового белка [7]. Согласно классическому представлению гуморального иммунного ответа, антигены вируса попадают в организм в результате инфекции или иммунизации, и организм в ответ вырабатывает необходимое количество антител IgM в начале инфекционного процесса и IgG – к концу затухания клинических симптомов. Степень увеличения концентрации IgM и IgG позволяет уточнить продолжительность заболевания, что является диагностически значимым для пациентов, а также отследить напряжённость иммунитета после болезни, в том числе после вакцинации. Однако время появления антител к антигенам нового коронавируса или время сероконверсии, а также динамика антителообразования на момент начала пандемии были неизвестны, и могли отличаться как от других респираторных вирусов, так и от других коронавирусов [8–10]. Для изучения данного вопроса с момента начала пандемии по всему миру начали проводиться серологические исследования на SARS-CoV-2 с определением особенностей гуморального ответа [11–15]. Исследование популяционного иммунитета населения к новому коронавирусу необходимо для выявления особенностей эпидемического процесса, разработки прогноза развития эпидемиологической ситуации, а также планирования мероприятий по специфической и неспецифической профилактике COVID-19 [16].

В этом обзоре нами была поставлена задача обобщить и проанализировать многочисленные зарубежные и отечественные серологические исследования, проведённые за год пандемии, для понимания динамики гуморального иммунного ответа, а также получения картины серопревалентности антител к SARS-CoV-2 в мировой популяции. Литературный поиск проводился в международной базе данных NLM «PubMed» по ключевым словам «SARS-CoV-2 antibodies», «SARS-CoV-2 humoral immunity», а также в российской базе научных исследований «e-library» по ключевым словам «SARS-CoV-2 антитела», «SARS-CoV-2 гуморальный иммунитет» за период февраль 2020 – март 2021.

СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ФОРМИРОВАНИЮ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА К SARS-COV-2

На сегодняшний день имеется более 200 рецензируемых публикаций, препринтов, рукописей и правительственных докладов о результатах исследований серопревалентности в отношении SARS-CoV-2. Исследования неоднородны, так как проведены на разных выборках, с использованием разных серологических тест-систем и отличаются по качеству и временным точкам взятия биоматериала [17]. С целью объединения, стандартизации и увеличения доказательности всех серологических исследований 26 мая 2020 г. ВОЗ создаёт протокол проведения популяционных серологических исследований [18]. Согласно протоколу сероэпидемиологическое исследование инфекции COVID-19 у человека может быть проведено методом продольных и поперечных срезов. Ранние исследования серопревалентности SARS-CoV-2 имели дизайн одноэтапного поперечного исследования, так как в условиях нарастающей пандемии оно наиболее удобно для скрининговой оценки формирования гуморального иммунного ответа к SARS-CoV-2 в популяции, и требует минимум материальных и человеческих ресурсов. Поскольку ранние работы по оценке серопревалентности проводились в условиях разработки серологических тест-систем с нуля, необходимо учитывать возможные ошибки в серодиагностике. Использование несовершенных тест-систем с 90–95 % показателями чувствительности (способность выявлять носителей антител, доля истинно положительных результатов) и специфичности (доля истинно отрицательных результатов) могут ввести в заблуждение относительно своей достоверности, поскольку вероятность ошибки зависит от исследуемой популяции. Так, вероятность того, что положительный результат теста на антитела к новому коронавирусу действительно положителен в популяции переболевших COVID-19, составит 99 %, а в популяции не болевших она будет 50 %, это значит, что половина случаев являются ложноположительными! Поэтому, для серологического скрининга в популяции с частотой встречаемости антител 5 %, тест-система должна иметь специфичность более 99 %. При этом нужно понимать, что разработка тестов на антитела к SARS-CoV-2 со специфичностью более 99 % может занять несколько лет, как это было в случае с тестом на антитела к ВИЧ, и до этого времени трактовка результатов должна вестись с учётом возможной ошибки [19]. Глава департамента экстренных заболеваний ВОЗ Мария ван Керкхове (Dr. Maria Van Kerkhove) на брифинге в Женеве 13 апреля 2020 г. высказала сомнения насчёт оценки напряжённости иммунитета, цитата: «Прямо сейчас у нас нет доказательств, что серологические тесты могут показать наличие у человека иммунитета или то, что он защищён от болезни. Эти тесты могут показать серопревалентность, то есть уровень антител в крови, но это не означает, что тот, у кого они есть, иммунен. На данный момент у нас нет полного представления того, как вырабатывается иммунитет» [20].

Первые работы по изучению сероконверсии антител IgM и IgG SARS-CoV-2 опубликованы в марте-апреле 2020 года. Многие исследователи докладывали о появ-

лении IgM с 1-го по 14-й день после начала клинических проявлений (среднее время сероконверсии – 12-й день), среднее время появления IgG – 14-й день с выходом на плато антителообразования к 21-му дню [21–24]. Как правило, это были испытания различных серологических тестов на чувствительность и специфичность для максимально точного определения концентрации антител и минимизации ложноотрицательных результатов. В ходе тестирования двойной серологической тест-панели IgM/IgG фирмы «Diazyme» среднее время до серопозитивности, наблюдаемое с момента положительной ПЦР, составляло 5 дней для IgM и 4 дня для IgG [25]. Дальнейшие исследования показали пик IgM на 15–21-й день с последующим снижением, и пик IgG на 22–39-й день [26]. На сегодня предполагается, что в среднем антитела к SARS-CoV-2 появляются на 10-й день от начала инфекции, и к исходу третьей недели у большинства переболевших наступает сероконверсия [27].

Однако наряду с ними, другие исследователи докладывали о поздней сероконверсии. В марте в журнале «Nature medicine» описан случай нетяжёлого течения заболевания у 47-летней женщины из г. Ухань, провинция Хубэй, Китай. Несмотря на выраженную симптоматику (фебрильная температура, боль в горле, сухой кашель, боли в грудной клетке, одышка) пациентка была серонегативна до 7-го дня, оба типа иммуноглобулинов начали увеличиваться с 7-го дня по 20-й день от манифестации COVID-19 [28]. Для сравнения иммуноглобулины IgM к другим видам коронавирусов человека HCoV-229E и HCoV-OC43 могут быть обнаружены в крови уже на 3-й день [8,9].

Показатели гуморального иммунитета могут варьировать в зависимости от пола, возраста, степени тяжести COVID-19, вида профессиональной деятельности, меняя, таким образом, уровень серопревалентности в разных группах населения.

Большинство сероэпидемиологических исследований с большими выборками (свыше десяти тысяч участников) показывают, что возраст и пол не влияют на количество антител к SARS-CoV-2 [11–15]. Однако стоит упомянуть, что согласно некоторым работам, уровень антител к SARS-CoV-2 увеличивается с возрастом: у выздоровевших от COVID-19 в возрастной группе 60–85 лет их втрое выше, чем у пациентов в группе 15–39 лет [29], в группе детей семи лет уровни антител значительно ниже, чем у взрослых. Но в то же время у детей сероконверсия наблюдается раньше, чем у взрослых [30]. При дополнительной оценке фактора тяжести течения COVID-19 и уровней антител в зависимости от возраста Wu и коллеги обнаружили, что, несмотря на то что количество антител может различаться у людей среднего и пожилого возраста, продолжительность и течение COVID-19 у них сходятся [29]. У пожилых людей заболевание протекает тяжелее и возможно реинфицирование вследствие ослабленного иммунного ответа в силу возраста, поэтому напряжённость гуморального ответа для них – проблема острая. Исследовав серопревалентность среди лиц старшего поколения, учёные из больницы Renmin Hospital при Уханьском университете, провинция Хубэй (Китай) не выявили различий в концентрациях антител IgM и IgG в зависимости от тяжести течения коронавирусной болезни (n = 133). Однако авторы отметили, что однозначные выводы делать преждевременно, и чтобы действительно понять, меняется ли количество антител в зависимости от тяжести COVID-19, необходимы исследования на более крупных выборках [31]. Опубликованное через полгода популяционное исследование жителей г. Нью-Йорк (n = 28 523), показало, что пациенты, находившиеся в более тяжёлом состоянии, имели более высокий уровень IgG [32].

В целом можно сказать, что высокие уровни антител наблюдаются у пациентов с тяжёлой формой коронавирусной инфекции, бессимптомные же носители имеют низкие уровни антител, про- и противовоспалительных цитокинов [33]. Интересно, что бессимптомные носители могут совсем не иметь антител. 21 марта 2021 г. директор центра им. Н. Ф. Гамалеи, разработавшего вакцину «Спутник V», Александр Гинцбург сообщил о 20 % переболевших COVID-19, у которых не вырабатываются антитела к новому коронавирусу [34]. Яркий пример бессимптомного течения болезни – пассажиры круизного лайнера «Diamond Princess», из которых бессимптомно переболела треть пассажиров [35]. Такая же доля бессимптомного носительства обнаружена в сероэпидемиологическом исследовании более 60 000 жителей Испании [15]. Среди медицинских работников, так же, как и в основной популяции, были описаны случаи отсутствия антител после перенесённой коронавирусной инфекции. Почти треть переболевших COVID-19 сотрудников Университетской клиники г. Регенсбург (Германия) не имели антител IgG на протяжении 12 недель с момента возникновения симптомов [36]. Предположительно, в начале периода реконвалесценции большинство инфицированных коронавирусом становятся серонегативными, либо количество антител настолько мало, что не определяется тест-системами. Также, вероятно, пациенты, в крови которых не было обнаружено антител к SARS-CoV-2, смогли справиться с вирусом за счёт активации Т-клеток и цитокинов [29].

Предполагается, что иммунная прослойка среди лиц, занимающихся разной профессиональной деятельностью, различается в зависимости от степени их контакта с заражёнными SARS-CoV-2. Работники здравоохранения оказались на передовой борьбы с коронавирусом, и закономерно попали в зону высокого риска инфицирования, поэтому вопрос распространения новой коронавирусной инфекции в медицинских учреждениях, формирование серологического ответа у медицинского персонала, а также выявление факторов риска инфицирования встал незамедлительно после начала пандемии. В связи с этим 23 марта 2020 г. ВОЗ запускает проспективное исследование работников здравоохранения, оказывающих помощь пациентам с COVID-19 [37]. На март-апрель у медицинских работников Университетской клиники г. Эссен (Германия) (n = 316) была самая низкая серопревалентность – 1,6 % [38], при том, что Германия на тот момент занимала пятое место по числу заражённых [39]. Авторы связали это с соблюдением сотрудниками мер профилактики коронавирусной инфекции, эффективном использовании средств индивидуальной защиты, что весьма вероятно. В апреле 6,7 % сотрудников клиники Восточного Лимбурга (Бельгия) имели антитела IgG (n = 3056) [40]. Мультицентровое поперечное исследование медработников Дании сообщило о 4 % серопревалентности в восточном административном районе Ховедстаден (n = 28 792) и о 3,4 % серопревалентности в Центральной части Дании

(*n* = 17 971) за период с апреля по июнь 2020 г. [12, 41]. Очевидно, что срез серопревалентности в результате сероэпидемиологических исследований зависел от времени и места проведения исследования.

Низкие цифры серопревалентности среди работников здравоохранения также могли быть объяснены медленным ростом заболеваемости коронавирусной инфекцией в странах. В результате мультицентрового эпидемиологического исследования 1603 пациентов, врачей и медсестёр из 65 медицинских учреждений Японии, антитела класса IgG обнаружены у 2,0 % врачей и медсестёр (для сравнения у пациентов – 2,4 %). При этом популяционная серопревалентность в Японии на момент исследования (май-июнь 2020 г.) варьировала от 0,03 до 3,3 %, что было связано с низкой заболеваемостью COVID-19, и в целом соответствовало серопревалентности в мировой популяции (от 1 до 10 %). При оценке возможной связи факторов риска заражения COVID-19 с уровнем антител выяснилось, что поездки за границу, контакты с приехавшими из заграницы, присутствие/отсутствие инфицированных лиц в жилом районе, частое пользование общественным транспортом, БЦЖ вакцинация не коррелировали с наличием антител IgG у исследуемых [42].

В то же время в мае 2020 г. в Тоскане, регионе Центральной Италии с наиболее медленным распространением коронавирусной инфекции по стране, серопревалентность у контактных по COVID-19 лиц была выше по сравнению с неконтактирующими. У работников здравоохранения антитела обнаруживались чаще (4,38 %), чем у волонтёров, которые помогали жителям Тосканы во время тотального локдауна (1,4 %), а также тех, кто работал удалённо на дому (1,0 %). Это может свидетельствовать о неподготовленности организаций здравоохранения к первой волне коронавирусной инфекции и риске внутрибольничной передачи вируса. Низкая серопревалентность среди волонтёров, вероятно, связана с тем, что они работали в регионе с низкой заболеваемостью и добросовестно использовали средства индивидуальной защиты [11].

К концу июня из 40 329 медработников г. Нью-Йорк (США), а это больше половины всех работников здравоохранения города, 13,7 % оказались сероположительны (IgG), что совпадает с серопревалентностью среди всех жителей Нью-Йорка на данный временной промежуток – 14,0 % [43]. На конец декабря 2020 г., по данным ВОЗ, уровень серопревалентности превышал 20 % среди работников здравоохранения, контактирующих с COVID-19 пациентами, а также в регионах с высокой заболеваемостью [17]. Вполне возможно, что к концу года показатели коллективного иммунитета в данных популяциях увеличились и достигли среднемировых значений.

Во второй половине года многие страны начали публиковать результаты первого этапа популяционного сероэпидемиологического исследования COVID-19-инфекции. Испания была одной из наиболее пострадавших от COVID-19 европейских стран в начале пандемии с пиком заболеваемости в марте-апреле, однако общая серологическая распространённость на апрель-май 2020 г. составила 5 % с вариацией по регионам до 15 % (*n* = 61 075) [15]. Исследователи из Индии доложили о низких цифрах популяционного иммунитета – менее 1 % на май-июнь 2020 г., когда количество заражённых было ещё не велико по сравнению с пиком в сентябре-октябре (*n* = 28 000) [13]. К августу-сентябрю с увеличением числа инфицированных, закономерно увеличилась и серопревалентность: более, чем в шесть раз – и составила 6,6 % (*n* = 29 082) [14].

В Российской Федерации изучение распределения серопревалентности проводилось в рамках масштабного проекта Роспотребнадзора по оценке популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 в восьми федеральных округах с учётом протокола, рекомендованного ВОЗ [16]. На конференции «Молекулярная диагностика и биобезопасность – 2020» в октябре 2020 г. заместитель руководителя Роспотребнадзора Елена Ежлова сообщила, что в ходе обследования более 74,5 тысяч человек на первом этапе проекта показатели серопревалентности варьировали от 6 до 50 %, и в среднем 19,5 % по России [44, 45]. Максимальные показатели популяционного иммунитета были установлены у детей дошкольного и раннего школьного возраста – до 71 %. Среди разных профессиональных областей наибольшие показатели коллективного иммунитета были у работников здравоохранения (48 %) и образования (до 42 %). В регионах, где эпидемический процесс начался раньше, закономерно отмечен более высокий уровень серопревалентности. Так, более 30 % серопревалентности имеют жители Татарстана, Калининградской, Амурской и Мурманской областей, более 20 % – Москвы, Санкт-Петербурга, Астраханской, Московской, Ленинградской, Тюменской областей [46–52]. В регионах с более благоприятной эпидобстановкой к середине прошлого года, а это Крым, Краснодарский, Ставропольский края, Белгородская, Иркутская, Нижегородская и Новосибирская области, показатель серопревалентности был менее 10 % [44]. Наибольшая средняя серопревалентность по популяции составила 50,2 % в Калининградской области [47], наименьшая – в Иркутской области – 5,8 % [53]. В Иркутской области пик заболеваемости COVID-19 пришёлся на июль, и данные по серопревалентности населения значительно ниже, чем в других регионах России, однако находятся в согласии со сведениями о мировой серологической представленности. Заметно, что серопревалентность по многим регионам России разительно отличается от данных мировой статистики, но важно учитывать, что в конце апреля 2020 г. Россия вошла в десятку стран-лидеров по заражению SARS-CoV-2 [54], а к концу марта 2021 г. – в пятёрку, уступая США, Бразилии, Индии и Франции [55]. Так, к примеру, в г. Манаус (Бразилия) на момент пика эпидемии к 1 июня серологическая распространённость составила 44 %, и, по прогнозам, к октябрю имела шансы достигнуть 76 % [56]. Фактически, жители некоторых населённых пунктов, городов и областей уже смогли достичь коллективного иммунитета к новой коронавирусной инфекции.

Непрерывный публикационный поток исследований по серопревалентности SARS-CoV-2 и динамике гуморального ответа требовал осмысления, структурирования, глубокого анализа данных. Суммируя имеющиеся данные, в марте 2021 г. появились несколько систематических обзоров и мета-анализов [57, 58], занимающие в иерархии доказательности научных исследований наивысший уровень [59]. Группа учёных из Ирана, США, Нидерландов и Австралии проанализировала 47 препринтов и статей из баз данных «PubMed», «Scopus», «Embase», «medRxiv» и «bioRxiv» до 14 августа 2020 г. Критериями включения были популяционные исследования, описывающие распространённость сывороточных антител IgG и/или IgM к SARS-CoV-2 с участием 399 265 человек из 23 стран. Рас-

пространённость SARS-CoV-2 среди населения в целом варьировала от 0,37 до 22,1 %. Экстраполирование этих данных на мировую популяцию показало, что около 263,5 млн человек были инфицированы коронавирусной инфекцией в 2020 г. [57]. Другой масштабный систематический обзор базировался на анализе 404 исследований, зарегистрированных в рецензируемых базах «PubMed», «Embase», «Web of Science», а также четырёх базах препринтов с 1 декабря 2019 г. по 22 декабря 2020 г. [58]. Исследователи установили высокую серологическую распространённость среди контактных по коронавирусу лиц (18,0 %), а также медицинских работников из групп высокого риска инфицирования, контактировавших с больными COVID-19 и не носивших средства индивидуальной защиты (17,1 %), по сравнению с населением в целом (8,0 %) и медработниками низкого риска инфицирования, соблюдавших меры индивидуальной защиты/не работавшими с больными COVID-19 (4,2 %).

Обобщая все имеющиеся исследования на текущий момент, ВОЗ резюмирует, что показатели серопревалентности в мировой популяции продолжают пребывать низкими темпами и составляют около 10 % [17]. Основная масса населения Земного шара по-прежнему остаётся восприимчивой к инфицированию SARS-CoV-2, и, по мнению некоторых учёных, коллективный иммунитет, опосредованный антителами, скорее всего, недостижим. Возможные различия в серопревалентности к SARS-CoV-2 могут быть объяснены использованием разных тест-систем с разной чувствительностью и специфичностью, фактом того, что во многих исследованиях, в том числе крупных серологических, не учитывался серонегативный период, а также разной заболеваемостью в странах. Более того, необходимо учитывать, что в связи с быстрым распространением новой коронавирусной инфекции, учёные должны были в кратчайшие сроки выяснить этиологию, патогенез, эпидемиологию вируса для диагностики заболевания, оказания квалифицированной медицинской помощи и профилактики появления новых случаев. Поэтому результаты исследований, в том числе по оценке формирования гуморального иммунитета к COVID-19 инфекции, публиковались максимально быстро в виде препринтов без предварительного рецензирования, а значит нужно понимать, что некоторые идеи, выводы авторов могли быть преждевременными, «сырыми», и требовали перепроверки их достоверности специалистами. Также, исследователи приходили к заключению о необходимости появления продольных или лонгитьюдных (от англ. longitude – долговременный) серологических исследований напряжённости иммунитета к SARS-CoV-2, так как на тот момент выводы о динамике гуморального иммунитета к SARS-CoV-2 были сделаны на основании общих закономерностей, характерных для большинства вирусных заболеваний и данных о коронавирусной инфекции разных видов.

СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ДИНАМИКЕ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА К SARS-COV-2

К середине 2020 г. информационное научное пространство начало заполняться результатами исследований по наблюдению за уровнем антител к SARS-CoV-2 в динамике. Одно из первых продольных исследований сообщило о распаде IgG в течение 90 дней от начала заболевания у 34 пациентов со среднетяжёлым COVID-19 [60], что вызвало широкий отклик научной общественности. К концу года появились данные о сохранении протективного уровня IgG на протяжении уже 120 дней после появления симптомов (n = 229) [61], что было подтверждено в результате масштабного сероэпидемиологического исследования жителей Исландии (n = 30 576), которое показало персистенцию связывающих антител IgG, IgM к N- и S1-белкам в течение 4 месяцев [62]. В описании кинетики антител к SARS-CoV-2 единого мнения о времени наступления максимальной концентрации антител пока не сформировалось. Исследователи ФБУН Московского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н. Габричевского сообщают о максимальном количестве антител IgG к S-белку на 4-5-й неделе заболевания, при этом уровень IgG к N-белку нуклеокапсида оставался низким в течение всего срока наблюдения [63]. Недавнее исследование вирусологов из Японии, опубликованное в феврале 2021 г., показало пик титров антител IgG к RBD, S- и N-белку примерно через 20 дней от начала заболевания. Затем титр IgG постепенно снижается, но сохраняется в течение более 150 дней. Титры антител IgM к RBD снижаются быстро и исчезают через 90 дней [64]. К примеру, если сравнивать динамику гуморального иммунного ответа к другим коронавирусам, то к SARS-CoV-1 гуморальные маркеры иммунитета сохраняются в течение 2–3 лет [10]. Также было установлено, что тяжесть заболевания влияет на количество антител только в первые 60 дней (самые высокие антительные титры были в группе тяжёлых пациентов), после чего титр антител становится сходным. Авторы считают, что, несмотря на ограниченность выборки (n = 39), реакция антител против SARS-CoV-2 типична для иммунного ответа, наблюдаемого при острой вирусной инфекции, и реинфекция коронавирусом невозможна в течение нескольких месяцев после первого инфицирования [64].

Для понимания напряжённости гуморального ответа после перенесённой COVID-19-инфекции, помимо определения динамики связывающих антител, перед учёными встала задача определить нейтрализующие антитела, которые препятствуют проникновению коронавируса в клетку, и, следовательно, повторному заражению. В мае большой коллектив учёных из Китая сообщил о выделении нейтрализующих антител к рецептор-связывающему домену RBD S1-субъединицы спайкового белка SARS-CoV-2. Выделенные антитела не проявляли кроссреактивности с RBD S-белков других бетакоронавирусов, что свидетельствует об уникальности структуры нового коронавируса [65]. Вскоре была показана динамика нейтрализующих антител в первых пилотных исследованиях: нейтрализующие антитела к SARS-CoV-2 выявляются в течение 7–15 дней после начала заболевания [66], достигают пика к 4–5-й неделе, и начинают снижаться на третьем месяце после возникновения симптомов [67]. Эти предварительные результаты были подтверждены в рандомизированных контролируемых исследованиях – типе исследований, являющемся «золотым стандартом» доказательной медицины [68]. Perreault и др. показали снижение содержания иммуноглобулинов IgG к рецептор-связывающему домену RBD S1-домена спайкового белка вируса в плазме доноров-реконвалесцентов COVID-19 с 93,1 % на первом месяце до 75 % к 3–4-му месяцу [69].

Последние данные свидетельствуют о более продолжительном периоде персистенции нейтрализующих антител – от 4 до 8 месяцев [70, 71]. Так, в январе вышло исследовании Dan и коллег по формированию иммунологической памяти к SARS-CoV-2, в котором сообщалось о сохранении протективного уровня нейтрализующих антител в течение 6–8 месяцев [71]. Полученные результаты крайне важны, поскольку определение анти-RBD антител позволит оценить иммунный ответ после перенесённой COVID-19-инфекции или вакцинации. В девятой версии временных методических рекомендаций «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» указано, что для оценки напряжённости иммунитета после вакцинации рекомендовано определение анти-RBD антител, в том числе для выявления потенциальных доноров плазмы крови, которая применяется для лечения пациентов с COVID-19 [1].

Вопрос протективности гуморального иммунитета и реинфекции активно обсуждается и по-прежнему остаётся открытым, и до сих пор неясно будут ли подвержены повторному заражению переболевшие COVID-19 лица. На сегодняшний день описан ряд случаев реинфицирования. В популяции жителей Австрии показан крайне низкий риск реинфицирования в течение полугода после первого инфицирования – 0,27 %, то есть 40 человек из 14 840 участников [72]. В эксперименте на макаках-резус показано, что реинфекция SARS-CoV-2 невозможна в течение 1 месяца после первого заражения [73]. Интересно, что иммунитет к другим коронавирусам характеризуется длительностью и стойкостью. Антитела к SARS-CoV персистируют в течение нескольких месяцев до 2 лет, со снижением титра к 15-му месяцу [74]. Гуморальный иммунный ответ к другому виду коронавируса человека – HCoV-229E, принадлежащего роду *Alphacoronavirus* и распространённому в популяции наряду с бетакоронавирусами, сохраняется в течение года, однако является нестойким и не защищает от последующего реинфицирования [75].

ПЕРСПЕКТИВЫ

Формирование популяционного иммунитета является приоритетной задачей системы здравоохранения на ближайшие несколько лет. Из расчётов математиков для формирования невосприимчивости к инфекции в популяции необходимо, чтобы число специфических антител к вирусному антигену достигало как минимум 60 % [76], а согласно расчётам с использованием новой математической модели – по крайней мере 40 % [77]. Исследования эпидемиологов из Университета Гарварда по моделированию динамики передачи SARS-CoV-2 предсказывают, что длительность гуморального иммунитета в течение 10 месяцев обеспечит ежегодные вспышки инфекции, в то время как сохранение протективного уровня антител в течение двух лет приведёт к вспышкам раз в два года [78]. Однако, в связи с низкой серологической распространённостью антител к SARS-CoV-2 за год пандемии, достижение коллективного иммунитета путём спонтанного инфицирования маловероятно. Другой вариант создания популяционного иммунитета – охват населения вакцинацией. В настоящее время для массовой вакцинации применяется, по меньшей мере, восемь вакцин, более 200 находятся в стадии разработки, из них около 60 – на этапе клинических испытаний [10, 79]. На данный момент вакцинация от COVID-19 – основной способ преодоления массового инфицирования населения новой коронавирусной инфекцией, а также борьбы с нестойким гуморальным иммунитетом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С момента начала пандемии COVID-19 прошло более года. Проблема изучения иммунитета к SARS-CoV-2 до сих пор стоит остро из-за высокой патогенности вируса и ухудшения качества жизни после перенесённой инфекции. За этот год исследователи прошли путь становления знаний о формировании и динамике гуморального иммунного ответа к SARS-CoV-2, понимания общей картины серопревалентности по антителам к SARS-CoV-2 среди жителей разных стран, разработки вакцины от COVID-19 и запуска массовой вакцинации.

В начале пандемии серопревалентность по антителам к SARS-CoV-2 определялась исследователями в ходе разработки достоверных тест-систем для серологической диагностики COVID-19 и во многом это были скрининговые срезовые работы, позволяющие оценить сероконверсию антител у заболевших. Позже начали появляться работы по реакциям нейтрализации для отслеживания динамики антител после перенесённой инфекции. На сегодняшний день, подытоживая все исследования по серопревалентности, можно сказать, что показатели коллективного иммунитета остаются низкими и составляют около 10 % в общей популяции, и более 20 % в регионах с высокой заболеваемостью и среди работников здравоохранения. До сих пор остаётся неясным, являются ли высокие уровни антител надёжной защитой от последующего реинфицирования SARS-CoV. Дискутабельным остаётся вопрос времени сероконверсии и длительности промежутка между появлением клинических симптомов и выработкой антител. Необходимо продолжать исследования по мониторингу напряжённости гуморального иммунитета к SARS-CoV-2 для более глубокого понимания динамики иммунного ответа, усовершенствования вакцин и профилактики COVID-19. В приоритете должны быть крупные, качественные, продольные исследования с использованием высокочувствительных и высокоспецифичных серологических тест-систем, которые в перспективе могут быть обобщены и подвергнуты статистическому анализу с целью преодоления возможных ограничений серологических исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Камкин Е.Г., Костенко Н.А., Каракулина Е.В. *Временные методические рекомендации. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции* (COVID 2019). Версия 9. 26.10.2020.

2. *WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard*. URL: https://covid19.who.int/# [Дата доступа: 15.03.2021].

3. *Коронавирус-монитор – интерактивная карта распространения и статистика COVID-19 по данным Роспотребнадзора РФ*. URL: https://coronavirus-monitor.info/country/russia [Дата доступа: 15.03.2021]

4. Даренская М.А., Колесникова Л.И., Колесников С.И. COVID-19: окислительный стресс и актуальность антиоксидантной терапии. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2020; 75(4): 318-325. doi: 10.15690/vramn1360

5. Kunutsor SK, Laukkanen JA. Cardiovascular complications in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *J Infect*. 2020; 81(2): 139-141. doi: 10.1016/j.jinf.2020.05.068

6. Kunutsor SK, Laukkanen JA. Renal complications in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Ann Med*. 2020; 52(7): 345-353. doi: 10.1080/07853890.2020.1790643

7. Shibo Jiang, Hillyer C, Lanying Du. Neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 and other human coronaviruses. *Trends Immunol.* 2020; 41(5): 355-359. doi: 10.1016/j.it.2020.03.007

8. Lee HK, Lee BH, Seok SH, Baek MW, Lee HY, Kim DJ, et al. Production of specific antibodies against SARS-coronavirus nucleocapsid protein without cross reactivity with human coronaviruses 229E and OC43. *J Vet Sci.* 2010; 11(2): 165-167. doi: 10.4142/jvs.2010.11.2.165

9. Wan Zhuoyue, Zhang Xin, Yan Xinge. IFA in testing specific antibody of SARS coronavirus. *South China J Prev Med.* 2003; 29(3): 36-37. URL: https://europepmc.org/article/cba/562591 [Дата доступа: 16.03.2021].

10. Poland GA, Ovsyannikova IG, Kennedy RB. SARS-CoV-2 immunity: review and applications to phase 3 vaccine candidates. *Lancet*. 2020; 396(10262): 1595-1606. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32137-1

11. Lastrucci V, Lorini C, Del Riccio M, Gori E, Chiesi F, Sartor G, et al. SARS-CoV-2 seroprevalence survey in people involved in different essential activities during the general lock-down phase in the province of Prato (Tuscany, Italy). *Vaccines (Basel)*. 2020; 8(4): 778. doi: 10.3390/vaccines8040778

12. Jespersen S, Mikkelsen S, Greve T, Kaspersen KA, Tolstrup M, Boldsen JK, et al. SARS-CoV-2 seroprevalence survey among 17,971 healthcare and administrative personnel at hospitals, pre-hospital services, and specialist practitioners in the Central Denmark Region. *Clin Infect Dis.* 2020: ciaa1471. doi: 10.1093/cid/ciaa1471

13. Murhekar MV, Bhatnagar T, Selvaraju S, Rade K, Saravanakumar V, Vivian Thangaraj JW, et al. Prevalence of SARS-CoV-2 infection in India: Findings from the national serosurvey, May-June 2020. *Indian J Med Res.* 2020; 152(1, 2): 48-60. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_3290_20

14. Murhekar MV, Bhatnagar T, Selvaraju S, Saravanakumar V, Thangaraj JWV, Shah N, et al. SARS-CoV-2 antibody seroprevalence in India, August-September, 2020: Findings from the second nationwide household serosurvey. *Lancet Glob Health*. 2021; 9(3): 257-266. doi: 10.1016/S2214-109X(20)30544-1

15. Pollán M, Pérez-Gómez B, Pastor-Barriuso R, Oteo J, Hernán MA, Pérez-Olmeda M, et al. Prevalence of SARS-CoV-2 in Spain (ENE-COVID): A nationwide, population-based seroepidemiological study. *Lancet*. 2020; 396(10250): 535-544. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31483-5

16. *Оценка популяционного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 у населения Российской Федерации в условиях пандемии COVID-19 (с учётом протокола популяционного стратифицированного по возрасту сероэпидемиологического исследования коронавирусной инфекции COVID-19, рекомендованного ВОЗ, апрель 2020)*. URL: https://docviewer.yandex.ru/?lang=ru&tm=1617858148&tld=ru&name=programma_issledovaniy-1.docx&text=протокол+28.+Оценка+популяционного+иммунитета+к+вирусу+SARS-CoV-2+у+населения+Российской+Федерации+в+условиях+пандемии+COVID-19&url=https %3A//minzdravao.ru/sites/default/files/2020/2/programma_issledovaniy-1.docx&lr=63&mime=docx&l10n=ru&sign=48852be6047c1bbf837342ec186fc3b0&keyno=0 [Дата доступа: 16.03.2021].

17. ВОЗ. *COVID-19: серология, антитела и иммунитет*. URL: https://www.who.int/ru/news-room/q-a-detail/coronavirus-disease-covid-19-serology [Дата доступа: 22.03.2021].

18. ВОЗ. *Протокол популяционного стратифицированного по возрасту сероэпидемиологического исследования инфекции COVID-19 у человека. Версия 2.0. 2020*. URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332188/WHO-2019-nCoV-Seroepidemiology-2020.2-rus.pdf [Дата доступа: 18.03.2021].

19. Маянский Н.А. Иммунитет к COVID-19 и вопросы проведения скрининговых исследований антител к Sars-Cov-2. *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2020; (3): 27-30. doi: 10.24075/brsmu.2020.035

20. *Coronavirus Outbreak (COVID-19): WHO Update (13 April 2020). The daily press briefing on coronavirus COVID-19.* URL: https://www.youtube.com/watch?v=RyXcsykiVcs [Дата доступа: 19.03.2021].

21. Li Guo, Lili Ren, Siyuan Yang, Meng Xiao, De Chang, Fan Yang, et al. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin Infect Dis.* 2020; 71(15): 778-785. doi: 10.1093/cid/ciaa310

22. Juanjuan Zhao, Quan Yuan, Haiyan Wang, Wei Liu, Xuejiao Liao, Yingying Su, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis.* 2020; 71(16): 2027-2034. doi: 10.1093/cid/ciaa344

23. To KK, Tsang OT, Leung WS, Tam AR, Wu TC, Lung DC, et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: An observational cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2020; 20(5): 565-574. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30196-1

24. Балахонов С.В., Дубровина В.И., Чеснокова М.В., Войткова В.В., Пятидесятникова А.Б., Брюхова Д.Д. и др. Изучение гуморального иммунного ответа при лёгкой и бессимптомной формах проявления COVID-19. *Acta biomedica scientifica.* 2020; 5(5): 26-30. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.3

25. Suhandynata RT, Hoffman MA, Kelner MJ, McLawhon RW, Reed SL, Fitzgerald RL. Longitudinal monitoring of SARS-CoV-2 IgM and IgG seropositivity to detect COVID-19. *J Appl Lab Med.* 2020; 5(5): 908-920. doi: 10.1093/jalm/jfaa079

26. Lixiang Wu, Hui Wang, Dan Gou, Gang Fu, Jing Wang, Bianqin Guo. Clinical significance of the serum IgM and IgG to SARS-CoV-2 in coronavirus disease 2019. *J Clin Lab Anal.* 2021; 35(1): e23649. doi: 10.1002/jcla.23649

27. Silveira MM, Moreira GMSG, Mendonça M. DNA vaccines against COVID-19: Perspectives and challenges. *Life Sci.* 2021; 267: 118919. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118919

28. Thevarajan I, Nguyen THO, Koutsakos M, Druce J, Caly L, van de Sandt CE, et al. Breadth of concomitant immune responses prior to patient recovery: A case report of non-severe COVID-19. *Nat Med.* 2020; 26(4): 453-455. doi: 10.1038/s41591-020-0819-2

29. Fan Wu, Aojie Wang, Mei Liu, Qimin Wang, Jun Chen, Shuai Xia, et al. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications. *MedRxiv.* 2020. doi: 10.1101/2020.03.30.20047365

30. Xuejiao Liao, Jiaye Liu, Ziyi He, Ming Hu, Tongyang Xiao, Lanlan Wei, et al. Longitudinal changes on clinical features in 28 children with COVID-19 in Shenzhen, China. *Front Med (Lausanne)*. 2020; (7): 579406. doi: 10.3389/fmed.2020.579406

31. Rui Liu, Xinghui Liu, Li Yuan, Huan Han, Shereen MA, Jiesheng Zhen, et al. Analysis of adjunctive serological detection to nucleic acid test for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection diagnosis. *Int Immunopharmacol.* 2020; 86: 106746. doi: 10.1016/j.intimp.2020.106746

32. Reifer J, Hayum N, Heszkel B, Klagsbald I, Streva VA. SARS-CoV-2 IgG antibody responses in New York City. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2020; 98(3): 115128. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2020.115128

33. Quanxin Long, Xiaojun Tang, Qiulin Shi, Qin Li, Haijun Deng, Jun Yuan, et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med.* 2020; 26(8): 1200-1204. doi: 10.1038/s41591-020-0965-6

34. ИТАР-ТАСС. *Гинцбург: защитные антитела не вырабатываются у минимум 20 % переболевших COVID-19*. 21.03.2021. URL: https://tass.ru/obschestvo/10956921 [Дата доступа: 23.03.2021].

35. Tabata S, Imai K, Kawano S, Ikeda M, Kodama T, Miyoshi K, et al. Clinical characteristics of COVID-19 in 104 people with SARS-CoV-2 infection on the Diamond Princess cruise ship: A retrospective analysis. *Lancet Infect Dis.* 2020; 20(9): 1043-1050. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30482-5

36. Malfertheiner SF, Brandstetter S, Roth S, Harner S, Buntrock-Döpke H, Toncheva AA, et al. Immune response to SARS-CoV-2 in health care workers following a COVID-19 outbreak: A prospective longitudinal study. *J Clin Virol.* 2020; 130: 104575. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104575

37. ВОЗ. *Протокол оценки потенциальных факторов риска коронавирусной инфекции 2019 г. (COVID-19) среди работников здравоохранения в медицинском учреждении. Версия 2.2. 23.03.2020.* URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332071/WHO-2019-nCoV-HCW_risk_factors_protocol-2020.3-rus.pdf [Дата доступа: 23.03.2021].

38. Korth J, Wilde B, Dolff S, Anastasiou OE, Krawczyk A, Jahn M, et al. SARS-CoV-2-specific antibody detection in healthcare workers in Germany with direct contact to COVID-19 patients. *J Clin Virol.* 2020; 128: 104437. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104437

39. *Worldometer COVID-19 Data. Germany.* URL: https://www.worldometers.info/coronavirus/country/germany [Дата доступа: 26.04.2021].

40. Steensels D, Oris E, Coninx L, Nuyens D, Delforge ML, Vermeersch P, et al. Hospital-wide SARS-CoV-2 antibody screening in 3056 staff in a tertiary center in Belgium. *JAMA*. 2020; 324(2): 195-197. doi: 10.1001/jama.2020.11160

41. Iversen K, Bundgaard H, Hasselbalch RB, Kristensen JH, Nielsen PB, Pries-Heje M, et al. Risk of COVID-19 in health-care workers in Denmark: An observational cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2020; 20(12): 1401-1408. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30589-2

42. Matsuba I, Hatori N, Koido N, Watanabe Y, Ebara F, Matsuzawa Y, et al. Survey of the current status of subclinical coronavirus disease 2019 (COVID-19). *J Infect Chemother.* 2020; 26(12): 1294-1300. doi: 10.1016/j.jiac.2020.09.005

43. Moscola J, Sembajwe G, Jarrett M, Farber B, Chang T, McGinn T, et al. Prevalence of SARS-CoV-2 Antibodies in health care personnel in the New York City Area. *JAMA*. 2020; 324(9): 893-895. doi: 10.1001/jama.2020.14765

44. ИТАР-ТАСС. *В Роспотребнадзоре сообщили, у кого максимальный коллективный иммунитет к коронавирусу.* 6.10.2020. URL: https://tass.ru/obschestvo/9637203 [Дата доступа: 23.03.2021].

45. Попова А.Ю., Андреева Е.Е., Бабура Е.А., Балахонов С.В., Башкетова Н.С., Буланов М.В. и др. Особенности формирования серопревалентности населения Российской Федерации к нуклеокапсиду SARS-CoV-2 в первую волну эпидемии COVID-19. *Инфекция и иммунитет*. 2021; 11(2): 297-323. doi: 10.15789/2220-7619-FOD-1684

46. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Патяшина М.А., Сизова Е.П., Юзлибаева Л.Р. и др. Характеристика серопревалентности к SARS-CoV-2 среди населения Республики Татарстан на фоне COVID-19. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 97(6): 518-528. doi: 10.36233/0372-9311-2020-97-6-2

47. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Бабура Е.А., Михеенко О.П., Лялина Л.В. и др. Популяционный иммунитет к SARS-COV-2 населения Калининградской области в эпидемический сезон COVID-19. *Журнал инфектологии*. 2021; 12(5): 62-71. doi: 10.22625/2072-6732-2020-12-5-62-71

48. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Андреева Е.Е., Комбарова С.Ю., Лялина Л.В. и др. Коллективный иммунитет к SARS-CoV-2 жителей Москвы в эпидемический период COVID-19. *Инфекционные болезни*. 2020; 18(4): 8-16. doi: 10.20953/1729-9225-2020-4-8-16

49. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Микаилова О.М., Комбарова С.Ю., Костина М.А. и др. Структура серопревалентности к вирусу SARS-CoV-2 среди жителей Московской области в период эпидемической заболеваемости COVID-19. *Инфекционные болезни*. 2020; 18(4): 17-26. doi: 10.20953/1729-9225-2020-4-17-26

50. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Башкетова Н.С., Фридман Р.К., Лялина Л.В. и др. Популяционный иммунитет к SARS-CoV-2 среди населения Санкт-Петербурга в период эпидемии COVID-19. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 20(3): 124-130. doi: 10.21055/0370-1069-2020-3-124-130

51. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Историк О.А., Мосевич О.С., Лялина Л.В. и др. Оценка популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 среди населения Ленинградской области в период эпидемии COVID-19. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 20(3): 114-123. doi: 10.21055/0370-1069-2020-3-114-123

52. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Степанова Т.Ф., Шарухо Г.В., Летюшев А.Н. и др. Распределение серопревалентности к SARS-CoV-2 среди жителей Тюменской области в эпидемическом периоде COVID-19. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(5): 392-400. doi: 10.36233/0372-9311-2020-97-5-1

53. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Балахонов С.В., Чеснокова М.В., Дубровина В.И. и др. Опыт исследования серопревалентности к вирусу SARS-CoV-2 населения Иркутской области в период вспышки COVID-19. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 19(3): 106-113. doi: 10.21055/0370-1069-2020-3-106-113

54. *Worldometer COVID-19 Data. Russia.* URL: https://www.worldometers.info/coronavirus/country/russia [Дата доступа: 26.04.2021].

55. *COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU).* URL: https://coronavirus.jhu.edu/map.html [Дата доступа: 31.03.2021].

56. Buss LF, Prete CA Jr, Abrahim CMM, Mendrone A Jr, Salomon T, de Almeida-Neto C, et al. Three-quarters attack rate of SARS-CoV-2 in the Brazilian Amazon during a largely unmitigated epidemic. *Science*. 2021; 371(6526): 288-292. doi: 10.1126/science.abe9728

57. Rostami A, Sepidarkish M, Leeflang MMG, Riahi SM, Nourollahpour Shiadeh M, Esfandyari S, et al. SARS-CoV-2 seroprevalence worldwide: A systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect.* 2021; 27(3): 331-340. doi: 10.1016/j.cmi.2020.10.020

58. Chen X, Chen Z, Azman AS, Deng X, Chen X, Lu W, et al. Serological evidence of human infection with SARS-CoV-2: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health.* 2021; S2214-109X(21)00026-7. doi: 10.1016/S2214-109X(21)00026-7

59. Harbour R, Miller J. A new system for grading recommendations in evidence based guidelines. *BMJ*. 2001; 323(7308): 334-336. doi: 10.1136/bmj.323.7308.334

60. Ibarrondo FJ, Fulcher JA, Goodman-Meza D, Elliott J, Hofmann C, Hausner MA, et al. Rapid decay of anti-SARS-CoV-2 antibodies in persons with mild Covid-19. *N Engl J Med.* 2020; 383(11): 1085-1087. doi: 10.1056/NEJMc2025179

61. Bölke E, Matuschek C, Fischer JC. Loss of anti-SARS-CoV-2 antibodies in mild Covid-19. *N Engl J Med.* 2020; 383(17): 1694-1695. doi: 10.1056/NEJMc2027051

62. Gudbjartsson DF, Norddahl GL, Melsted P, Gunnarsdottir K, Holm H, Eythorsson E, et al. Humoral immune response to SARS-CoV-2 in Iceland. *N Engl J Med.* 2020; 383(18): 1724-1734. doi: 10.1056/NEJMoa2026116

63. Алешкин А.В., Новикова Л.И., Бочкарева С.С., Комбарова С.Ю., Лебедин Ю.С., Воробьев А.М. и др. Динамика антител к различным антигенам коронавируса SARS-CoV-2 у больных с подтверждённой инфекцией COVID-19. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2021; 171(2): 196-199. doi: 10.47056/0365-9615-2021-171-2-196-199

64. Yamayoshi S, Yasuhara A, Ito M, Akasaka O, Nakamura M, Nakachi I, et al. Antibody titers against SARS-CoV-2 decline, but do not disappear for several months. *EClinicalMedicine.* 2021; 32: 100734. doi: 10.1016/j.eclinm.2021.100734

65. Ju B, Zhang Q, Ge J, Wang R, Sun J, Ge X, et al. Human neutralizing antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection. *Nature*. 2020; 584(7819): 115-119. doi: 10.1038/s41586-020-2380-z

66. Post N, Eddy D, Huntley C, van Schalkwyk MCI, Shrotri M, Leeman D, et al. Antibody response to SARS-CoV-2 infection in humans: A systematic review. *PLoS One.* 2020; 15(12): e0244126. doi: 10.1371/journal.pone.0244126

67. Wang K, Long QX, Deng HJ, Hu J, Gao QZ, Zhang GJ, et al. Longitudinal dynamics of the neutralizing antibody response to SARS-CoV-2 infection. *Clin Infect Dis.* 2020: ciaa1143. doi: 10.1093/cid/ciaa1143

68. Baker A, Young K, Potter J, Madan I. A review of grading systems for evidence-based guidelines produced by medical specialties. *Clin Med (Lond).* 2010; 10(4): 358-363. doi: 10.7861/clinmedicine.10-4-358

69. Perreault J, Tremblay T, Fournier MJ, Drouin M, Beaudoin-Bussières G, Prévost J, et al. Waning of SARS-CoV-2 RBD antibodies in longitudinal convalescent plasma samples within 4 months after symptom onset. *Blood*. 2020; 136(22): 2588-2591. doi: 10.1182/blood.2020008367

70. Mai HK, Trieu NB, Long TH, Thanh HT, Luong ND, Huy LX, et al. Long-term humoral immune response in persons with as-

ymptomatic or mild SARS-CoV-2 infection, Vietnam. *Emerg Infect Dis.* 2021; 27(2): 663-666. doi: 10.3201/eid2702.204226

71. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 2021; 371(6529): eabf4063. doi: 10.1126/science.abf4063

72. Pilz S, Chakeri A, Ioannidis JP, Richter L, Theiler-Schwetz V, Trummer C, et al. SARS-CoV-2 re-infection risk in Austria. *Eur J Clin Invest*. 2021; 51(4): e13520. doi: 10.1111/eci.13520

73. Bao L, Deng W, Gao H, Xiao C, Liu J, Xue J, et al. Reinfection could not occur in SARS-CoV-2 infected rhesus macaques. *bioRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.03.13.990226

74. Mo H, Zeng G, Ren X, Li H, Ke C, Tan Y, et al. Longitudinal profile of antibodies against SARS-coronavirus in SARS patients and their clinical significance. *Respirology*. 2006; 11(1): 49-53. doi: 10.1111/j.1440-1843.2006.00783.x

75. Callow KA, Parry HF, Sergeant M, Tyrrell DA. The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man. *Epidemiol Infect.* 1990; 105(2): 435-46. doi: 10.1017/s0950268800048019

76. Randolph HE, Barreiro LB. Herd immunity: Understanding COVID-19. *Immunity*. 2020; 52(5): 737-741. doi: 10.1016/j.immuni.2020.04.012

77. Britton T, Ball F, Trapman P. A mathematical model reveals the influence of population heterogeneity on herd immunity to SARS-CoV-2. *Science*. 2020; 369(6505): 846-849. doi: 10.1126/science.abc6810

78. Kissler SM, Tedijanto C, Goldstein E, Grad YH, Lipsitch M. Projecting the transmission dynamics of SARS-CoV-2 through the postpandemic period. *Science*. 2020; 368(6493): 860-868. doi: 10.1126/science.abb5793

79. ВОЗ. Поиск вакцины против COVID-19. URL: https://www.who.int/ru/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/covid-19-vaccines [Дата доступа: 31.03.2021].

REFERENCES

1. Kamkin EG, Kostenko NA, Karakulina EV. *Temporary guidelines. Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID 2019)*. Version 9. 26.10.2020. (In Russ.)

2. *WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard.* URL: https://covid19.who.int/# [Date of access: 15.03.2021].

3. *Coronavirus monitor – an interactive map of the distribution and statistics of COVID-19 according to Rospotrebnadzor of the Russian Federation.* URL: https://coronavirus-monitor.info/country/russia [Date of access: 15.03.2021]. (In Russ.)

4. Darenskaya MA, Kolesnikova LI, Kolesnikov SI. COVID-19: Oxidative stress and the relevance of antioxidant therapy. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2020; 75(4): 318-325. (In Russ.). doi: 10.15690/vramn1360

5. Kunutsor SK, Laukkanen JA. Cardiovascular complications in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *J Infect.* 2020; 81(2): 139-141. doi: 10.1016/j.jinf.2020.05.068

6. Kunutsor SK, Laukkanen JA. Renal complications in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Ann Med*. 2020; 52(7): 345-353. doi: 10.1080/07853890.2020.1790643

7. Shibo Jiang, Hillyer C, Lanying Du. Neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 and other human coronaviruses. *Trends Immunol.* 2020; 41(5): 355-359. doi: 10.1016/j.it.2020.03.007

8. Lee HK, Lee BH, Seok SH, Baek MW, Lee HY, Kim DJ, et al. Production of specific antibodies against SARS-coronavirus nucleocapsid protein without cross reactivity with human coronaviruses 229E and OC43. *J Vet Sci.* 2010; 11(2): 165-167. doi: 10.4142/jvs.2010.11.2.165

9. Wan Zhuoyue, Zhang Xin, Yan Xinge. IFA in testing specific antibody of SARS coronavirus. *South China J Prev Med.* 2003; 29(3): 36-37. URL: https://europepmc.org/article/cba/562591 [Date of access: 16.03.2021]

10. Poland GA, Ovsyannikova IG, Kennedy RB. SARS-CoV-2 immunity: review and applications to phase 3 vaccine candidates. *Lancet*. 2020; 396(10262): 1595-1606. doi: 10.1016/S0140-6736(20)32137-1

11. Lastrucci V, Lorini C, Del Riccio M, Gori E, Chiesi F, Sartor G, et al. SARS-CoV-2 seroprevalence survey in people involved in different essential activities during the general lock-down phase in the province of Prato (Tuscany, Italy). *Vaccines (Basel).* 2020; 8(4): 778. doi: 10.3390/vaccines8040778

12. Jespersen S, Mikkelsen S, Greve T, Kaspersen KA, Tolstrup M, Boldsen JK, et al. SARS-CoV-2 seroprevalence survey among 17,971 healthcare and administrative personnel at hospitals, pre-hospital services, and specialist practitioners in the Central Denmark Region. *Clin Infect Dis.* 2020: ciaa1471. doi: 10.1093/cid/ciaa1471

13. Murhekar MV, Bhatnagar T, Selvaraju S, Rade K, Saravanakumar V, Vivian Thangaraj JW, et al. Prevalence of SARS-CoV-2 infection in India: Findings from the national serosurvey, May-June 2020. *Indian J Med Res.* 2020; 152(1, 2): 48-60. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_3290_20

14. Murhekar MV, Bhatnagar T, Selvaraju S, Saravanakumar V, Thangaraj JWV, Shah N, et al. SARS-CoV-2 antibody seroprevalence in India, August-September, 2020: Findings from the second nationwide household serosurvey. *Lancet Glob Health.* 2021; 9(3): 257-266. doi: 10.1016/S2214-109X(20)30544-1

15. Pollán M, Pérez-Gómez B, Pastor-Barriuso R, Oteo J, Hernán MA, Pérez-Olmeda M, et al. Prevalence of SARS-CoV-2 in Spain (ENE-COVID): A nationwide, population-based seroepidemiological study. *Lancet*. 2020; 396(10250): 535-544. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31483-5

16. *Assessment of population immunity to the SARS-CoV-2 virus in the population of the Russian Federation in the context of the COVID-19 pandemic (taking into account the protocol of the population-based age-stratified sero-epidemiological study of coronavirus infection COVID-19, recommended by WHO, April 2020)*. URL: https://docviewer.yandex.ru/?lang=ru&tm=1617858148&tld=ru&name=programma_issledovaniy-1.docx&text=протокол+28.+Оценка+популяционного+иммунитета+к+вирусу+SARS-CoV-2+у+населения+Российской+Федерации+в+условиях+пандемии+COVID-19&url=https %3A//minzdravao.ru/sites/default/files/2020/2/programma_issledovaniy-1.docx&lr=63&mime=docx&l10n=ru&sign=-48852be6047c1bbf837342ec186fc3b0&keyno=0 [Date of access: 16.03.2021]. (In Russ.)

17. WHO. *COVID-19: serology, antibodies and immunity.* URL: https://www.who.int/ru/news-room/q-a-detail/coronavirus-disease-covid-19-serology [Date of access: 22.03.2021]. (In Russ.)

18. WHO. *Protocol for a population-based age-stratified sero-epidemiological study of COVID-19 infection in humans. Version 2.0. 26.05.2020.* URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332188/WHO-2019-nCoV-Seroepidemiology-2020.2-rus.pdf [Date of access: 18.03.2020]. (In Russ.)

19. Mayanskiy NA. Immunity to COVID-19 and issues of screening for Sars-Cov-2 antibodies. *Vestnik Rossijskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*. 2020; (3): 27-30. (In Russ.). doi: 10.24075/brsmu.2020.035

20. *Coronavirus Outbreak (COVID-19): WHO Update (13 April 2020). The daily press briefing on coronavirus COVID-19.* URL: https://www.youtube.com/watch?v=RyXcsykiVcs [Date of access: 19.03.2021]

21. Li Guo, Lili Ren, Siyuan Yang, Meng Xiao, De Chang, Fan Yang, et al. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin Infect Dis.* 2020; 71(15): 778-785. doi: 10.1093/cid/ciaa310

22. Juanjuan Zhao, Quan Yuan, Haiyan Wang, Wei Liu, Xuejiao Liao, Yingying Su, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis.* 2020; 71(16): 2027-2034. doi: 10.1093/cid/ciaa344

23. To KK, Tsang OT, Leung WS, Tam AR, Wu TC, Lung DC, et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: An observational cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2020; 20(5): 565-574. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30196-1

24. Balakhonov SV, Dubrovina VI, Chesnokova MV, Voitkova VV, Pyatidesyatnikova AB, Bryukhova DD, et al. Studying humoral immune response at mild and asymptomatic COVID-19 forms. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 26-30. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.3

25. Suhandynata RT, Hoffman MA, Kelner MJ, McLawhon RW, Reed SL, Fitzgerald RL. Longitudinal monitoring of SARS-CoV-2 IgM and IgG seropositivity to detect COVID-19. *J Appl Lab Med.* 2020; 5(5): 908-920. doi: 10.1093/jalm/jfaa079

26. Lixiang Wu, Hui Wang, Dan Gou, Gang Fu, Jing Wang, Bianqin Guo. Clinical significance of the serum IgM and IgG to SARS-CoV-2 in coronavirus disease 2019. *J Clin Lab Anal.* 2021; 35(1): e23649. doi: 10.1002/jcla.23649

27. Silveira MM, Moreira GMSG, Mendonça M. DNA vaccines against COVID-19: Perspectives and challenges. *Life Sci.* 2021; 267: 118919. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118919

28. Thevarajan I, Nguyen THO, Koutsakos M, Druce J, Caly L, van de Sandt CE, et al. Breadth of concomitant immune responses prior to patient recovery: A case report of non-severe COVID-19. *Nat Med.* 2020; 26(4): 453-455. doi: 10.1038/s41591-020-0819-2

29. Fan Wu, Aojie Wang, Mei Liu, Qimin Wang, Jun Chen, Shuai Xia, et al. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications. *MedRxiv.* 2020. doi: 10.1101/2020.03.30.20047365

30. Xuejiao Liao, Jiaye Liu, Ziyi He, Ming Hu, Tongyang Xiao, Lanlan Wei, et al. Longitudinal changes on clinical features in 28 children with COVID-19 in Shenzhen, China. *Front Med (Lausanne).* 2020; (7): 579406. doi: 10.3389/fmed.2020.579406

31. Rui Liu, Xinghui Liu, Li Yuan, Huan Han, Shereen MA, Jiesheng Zhen, et al. Analysis of adjunctive serological detection to nucleic acid test for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection diagnosis. *Int Immunopharmacol.* 2020; 86: 106746. doi: 10.1016/j.intimp.2020.106746

32. Reifer J, Hayum N, Heszkel B, Klagsbald I, Streva VA. SARS-CoV-2 IgG antibody responses in New York City. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2020; 98(3): 115128. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2020.115128

33. Quanxin Long, Xiaojun Tang, Qiulin Shi, Qin Li, Haijun Deng, Jun Yuan, et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med.* 2020; 26(8): 1200-1204. doi: 10.1038/s41591-020-0965-6

34. ITAR-TASS. *Gunzburg: at least 20 % of COVID-19 patients do not develop protective antibodies.* 21.03.2021. URL: https://tass.ru/obschestvo/10956921 [Date of access: 23.03.2021]. (In Russ.)

35. Tabata S, Imai K, Kawano S, Ikeda M, Kodama T, Miyoshi K, et al. Clinical characteristics of COVID-19 in 104 people with SARS-CoV-2 infection on the Diamond Princess cruise ship: A retrospective analysis. *Lancet Infect Dis.* 2020; 20(9): 1043-1050. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30482-5

36. Malfertheiner SF, Brandstetter S, Roth S, Harner S, Buntrock-Döpke H, Toncheva AA, et al. Immune response to SARS-CoV-2 in health care workers following a COVID-19 outbreak: A prospective longitudinal study. *J Clin Virol.* 2020; 130: 104575. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104575

37. WHO. *Protocol for the assessment of potential risk factors for 2019 coronavirus infection (COVID-19) among healthcare workers in a healthcare facility. Version 2.2. 23.03.2020.* URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332071/WHO-2019-nCoV-HCW_risk_factors_protocol-2020.3-rus.pdf [Date of access: 23.03.2021]. (In Russ.)

38. Korth J, Wilde B, Dolff S, Anastasiou OE, Krawczyk A, Jahn M, et al. SARS-CoV-2-specific antibody detection in healthcare workers in Germany with direct contact to COVID-19 patients. *J Clin Virol.* 2020; 128: 104437. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104437

39. *Worldometer COVID-19 Data. Germany.* URL: https://www.worldometers.info/coronavirus/country/germany [Date of access: 26.04.2021].

40. Steensels D, Oris E, Coninx L, Nuyens D, Delforge ML, Vermeersch P, et al. Hospital-wide SARS-CoV-2 antibody screening in 3056 staff in a tertiary center in Belgium. *JAMA*. 2020; 324(2): 195-197. doi: 10.1001/jama.2020.11160

41. Iversen K, Bundgaard H, Hasselbalch RB, Kristensen JH, Nielsen PB, Pries-Heje M, et al. Risk of COVID-19 in health-care workers in Denmark: An observational cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2020; 20(12): 1401-1408. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30589-2

42. Matsuba I, Hatori N, Koido N, Watanabe Y, Ebara F, Matsuzawa Y, et al. Survey of the current status of subclinical coronavirus disease 2019 (COVID-19). *J Infect Chemother.* 2020; 26(12): 1294-1300. doi: 10.1016/j.jiac.2020.09.005

43. Moscola J, Sembajwe G, Jarrett M, Farber B, Chang T, McGinn T, et al. Prevalence of SARS-CoV-2 Antibodies in health care personnel in the New York City Area. *JAMA*. 2020; 324(9): 893-895. doi: 10.1001/jama.2020.14765

44. ITAR-TASS. *Rospotrebnadzor reported who has the maximum collective immunity to coronavirus.* 6.10.2020. URL: https://tass.ru/obschestvo/9637203 [Date of access: 23.03.2021]. (In Russ.)

45. Popova AY, Andreeva EE, Babura EA, Balakhonov SV, Bashketova NS, Bulanov MV, et al. Features of developing SARS-CoV-2 nucleocapsid protein population-based seroprevalence during the first wave of the COVID-19 epidemic in the Russian Federation. *Russian Journal of Infection and Immunity.* 2021; 11(2): 297-323. (In Russ.). doi: 10.15789/2220-7619-FOD-1684

46. Popova AY, Ezhlova EB, Melnikova AA, Patyashina MA, Sizova EP, Yuzlibaeva LR, et al. Distribution of SARS-CoV-2 seroprevalence among residents of the Republic of Tatarstan during the COVID-19 epidemic period. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii.* 2020; 97(6): 518-528. (In Russ.). doi: 10.36233/0372-9311-2020-97-6-2

47. Popova AY, Ezhlova EB, Melnikova AA, Babura EA, Mikheenko OP, Lyalina LV, et al. Herd immunity of Sars-Cov-2 among the population of Kaliningrad region amid the COVID-19 epidemic. *Journal Infectology*. 2020; 12(5): 62-71. (In Russ.). doi: 10.22625/2072-6732-2020-12-5-62-71

48. Popova AY, Ezhlova EB, Melnikova AA, Andreeva EE, Kombarova SY, Lyalina LV, et al. Collective immunity to Sars-Cov-2 of Moscow residents during the COVID-19 epidemic period. *Infectious Diseases.* 2020; 18(4): 8-16. (In Russ.). doi: 10.20953/1729-9225-2020-4-8-16

49. Popova AY, Ezhlova EB, Melnikova AA, Mikailova OM, Kombarova SY, Kostina MA, et al. The structure of seroprevalence to the Sars-Cov-2 virus among residents of the Moscow region during the period of epidemic incidence of COVID-19. *Infectious Diseases.* 2020; 18(4): 17-26. (In Russ.). doi: 10.20953/1729-9225-2020-4-17-26

50. Popova AY, Ezhlova EB, Melnikova AA, Bashketova NS, Fridman RK, Lyalina LV, et al. Herd immunity to SARS-CoV-2 among the population in Saint-Petersburg during the COVID-19 epidemic. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2020; (3): 124-130. (In Russ.). doi: 10.21055/0370-1069-2020-3-124-130

51. Popova AY, Ezhlova EB, Melnikova AA, Historik OA, Mosevich OS, Lyalina LV, et al. Assessment of the herd immunity to SARS-CoV-2 among the population of the Leningrad region during the COVID-19 epidemic. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2020; 20(3): 114-123. (In Russ.). doi: 10.21055/0370-1069-2020-3-114-123

52. Popova AY, Ezhlova EB, Melnikova AA, Stepanova TF, Sharukho GV, Letyushev AN, et al. Distribution of SARS-CoV-2 seroprevalence among residents of the Tyumen Region during the COVID-19 epidemic period. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii.* 2020; 97(5): 392-400. (In Russ.). doi: 10.36233/0372-9311-2020-97-5-1

53. Popova AY, Ezhlova EB, Melnikova AA, Balakhonov SV, Chesnokova MV, Dubrovina VI, et al. Experience in studying seroprevalence to SARS-CoV-2 virus in the population of the Irkutsk region during COVID-19 outbreak. *Problems of Particularly Dangerous Infections.* 2020; (3): 106-113. (In Russ.). doi: 10.21055/0370-1069-2020-3-106-113

54. *Worldometer COVID-19 Data. Russia.* URL: https://www.worldometers.info/coronavirus/country/russia [Date of access: 26.04.2021].

55. *COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU)*. URL: https://coronavirus.jhu.edu/map.html [Date of access: 31.03.2021].

56. Buss LF, Prete CA Jr, Abrahim CMM, Mendrone A Jr, Salomon T, de Almeida-Neto C, et al. Three-quarters attack rate of SARS-CoV-2 in the Brazilian Amazon during a largely unmitigated epidemic. *Science*. 2021; 371(6526): 288-292. doi: 10.1126/science.abe9728

57. Rostami A, Sepidarkish M, Leeflang MMG, Riahi SM, Nourollahpour Shiadeh M, Esfandyari S, et al. SARS-CoV-2 seroprevalence worldwide: A systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*. 2021; 27(3): 331-340. doi: 10.1016/j.cmi.2020.10.020

58. Chen X, Chen Z, Azman AS, Deng X, Chen X, Lu W, et al. Serological evidence of human infection with SARS-CoV-2: A systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*. 2021; S2214-109X(21)00026-7. doi: 10.1016/S2214-109X(21)00026-7

59. Harbour R, Miller J. A new system for grading recommendations in evidence based guidelines. *BMJ*. 2001; 323(7308): 334-336. doi: 10.1136/bmj.323.7308.334

60. Ibarrondo FJ, Fulcher JA, Goodman-Meza D, Elliott J, Hofmann C, Hausner MA, et al. Rapid decay of anti-SARS-CoV-2 antibodies in persons with mild Covid-19. *N Engl J Med*. 2020; 383(11): 1085-1087. doi: 10.1056/NEJMc2025179

61. Bölke E, Matuschek C, Fischer JC. Loss of anti-SARS-CoV-2 antibodies in mild Covid-19. *N Engl J Med*. 2020; 383(17): 1694-1695. doi: 10.1056/NEJMc2027051

62. Gudbjartsson DF, Norddahl GL, Melsted P, Gunnarsdottir K, Holm H, Eythorsson E, et al. Humoral immune response to SARS-CoV-2 in Iceland. *N Engl J Med*. 2020; 383(18): 1724-1734. doi: 10.1056/NEJMoa2026116

63. Aleshkin AV, Novikova LI, Bochkareva SS, Kombarova SIU, Lebedin IUS, Vorobev AM, et al. Dynamics of antibodies to various antigens of the Sars-Cov-2 coronavirus in patients with confirmed Covid-19 infection. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2021; 171(2): 196-199. (In Russ.). doi: 10.47056/0365-9615-2021-171-2-196-199

64. Yamayoshi S, Yasuhara A, Ito M, Akasaka O, Nakamura M, Nakachi I, et al. Antibody titers against SARS-CoV-2 decline, but do not disappear for several months. *EClinicalMedicine*. 2021; 32: 100734. doi: 10.1016/j.eclinm.2021.100734

65. Ju B, Zhang Q, Ge J, Wang R, Sun J, Ge X, et al. Human neutralizing antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection. *Nature*. 2020; 584(7819): 115-119. doi: 10.1038/s41586-020-2380-z

66. Post N, Eddy D, Huntley C, van Schalkwyk MCI, Shrotri M, Leeman D, et al. Antibody response to SARS-CoV-2 infection in humans: A systematic review. *PLoS One*. 2020; 15(12): e0244126. doi: 10.1371/journal.pone.0244126

67. Wang K, Long QX, Deng HJ, Hu J, Gao QZ, Zhang GJ, et al. Longitudinal dynamics of the neutralizing antibody response to SARS-CoV-2 infection. *Clin Infect Dis*. 2020: ciaa1143. doi: 10.1093/cid/ciaa1143

68. Baker A, Young K, Potter J, Madan I. A review of grading systems for evidence-based guidelines produced by medical specialties. *Clin Med (Lond)*. 2010; 10(4): 358-363. doi: 10.7861/clinmedicine.10-4-358

69. Perreault J, Tremblay T, Fournier MJ, Drouin M, Beaudoin-Bussières G, Prévost J, et al. Waning of SARS-CoV-2 RBD antibodies in longitudinal convalescent plasma samples within 4 months after symptom onset. *Blood*. 2020; 136(22): 2588-2591. doi: 10.1182/blood.2020008367

70. Mai HK, Trieu NB, Long TH, Thanh HT, Luong ND, Huy LX, et al. Long-term humoral immune response in persons with asymptomatic or mild SARS-CoV-2 infection, Vietnam. *Emerg Infect Dis*. 2021; 27(2): 663-666. doi: 10.3201/eid2702.204226

71. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 2021; 371(6529): eabf4063. doi: 10.1126/science.abf4063

72. Pilz S, Chakeri A, Ioannidis JP, Richter L, Theiler-Schwetz V, Trummer C, et al. SARS-CoV-2 re-infection risk in Austria. *Eur J Clin Invest*. 2021; 51(4): e13520. doi: 10.1111/eci.13520

73. Bao L, Deng W, Gao H, Xiao C, Liu J, Xue J, et al. Reinfection could not occur in SARS-CoV-2 infected rhesus macaques. *bioRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.03.13.990226

74. Mo H, Zeng G, Ren X, Li H, Ke C, Tan Y, et al. Longitudinal profile of antibodies against SARS-coronavirus in SARS patients and their clinical significance. *Respirology*. 2006; 11(1): 49-53. doi: 10.1111/j.1440-1843.2006.00783.x

75. Callow KA, Parry HF, Sergeant M, Tyrrell DA. The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man. *Epidemiol Infect*. 1990; 105(2): 435-46. doi: 10.1017/s0950268800048019

76. Randolph HE, Barreiro LB. Herd immunity: Understanding COVID-19. *Immunity*. 2020; 52(5): 737-741. doi: 10.1016/j.immuni.2020.04.012

77. Britton T, Ball F, Trapman P. A mathematical model reveals the influence of population heterogeneity on herd immunity to SARS-CoV-2. *Science*. 2020; 369(6505): 846-849. doi: 10.1126/science.abc6810

78. Kissler SM, Tedijanto C, Goldstein E, Grad YH, Lipsitch M. Projecting the transmission dynamics of SARS-CoV-2 through the postpandemic period. *Science*. 2020; 368(6493): 860-868. doi: 10.1126/science.abb5793

79. WHO. *Searching for a vaccine against COVID-19*. URL: https://www.who.int/ru/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/covid-19-vaccines [Date of access: 31.03.2021]. (In Russ.)

Сведения об авторах

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

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

Москалева Екатерина Владимировна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: mkatena@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-4196-0713

Ваняркина Анастасия Сергеевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории 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

Рычкова Любовь Владимировна – член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, http://orcid.org/0000-0001-5292-0907

Information about the authors

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

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

Ekaterina V. Moskaleva – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: mkatena@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-4196-0713

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

Lyubov V. Rychkova – Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of the Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, http://orcid.org/0000-0001-5292-0907

Статья получена: 03.03.2021. Статья принята: 30.04.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 03.03.2021. Accepted: 30.04.2021. Published: 15.06.2021.

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.6

Состояние показателей иммунного статуса у детей после перенесённой новой коронавирусной инфекции

Москалева Е.В., Петрова А.Г., Рычкова Л.В., Новикова Е.А., Ваняркина А.С.

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

Автор, ответственный за переписку: Москалева Екатерина Владимировна, e-mail: mkatena@mail.ru

Резюме

Актуальность. *В механизме иммунного ответа у больных COVID-19 как клеточная, так и гуморальная составляющие по-прежнему остаются недостаточно изученными и отличаются от других респираторных инфекций. Иммунодефицитные состояния и возрастные особенности иммунитета расцениваются как факторы, увеличивающие возможность реинфицирования и предрасположенность к длительному выделению вируса SARS-CoV-2. При этом исследования состояния иммунитета ведутся преимущественно на взрослой популяции, научные работы по изучению данного вопроса у детей единичны. Исследование состояния иммунитета и отслеживание динамики антителообразования к SARS-CoV-2 среди детей является крайне важным, т. к. это позволит оценить иммунную прослойку детей и предупредить возможные осложнения и отдалённые последствия COVID-19, а также спрогнозировать эпидемическую ситуацию в организованных детских коллективах.*

Цель: *определение состояния иммунной системы после перенесённой новой коронавирусной инфекции у детей г. Иркутска.*

Материалы и методы. *Проведён первый этап проспективного когортного клинического исследования состояния параметров иммунного статуса у детей (n = 60) города Иркутска, через месяц после перенесённой новой коронавирусной инфекции в октябре-ноябре 2020 г.*

Результаты. *Выявлены отклонения показателей клеточного, гуморального звеньев иммунитета и системы фагоцитоза у детей через месяц после заболевания. У 61,6 % детей определяется значительное снижение активности системы фагоцитоза с выраженным снижением метаболических резервов нейтрофилов.*

Заключение. *Наличие выявленных отклонений параметров иммунитета у детей может расцениваться как риск формирования хронических инфекционных процессов и других отдалённых последствий COVID-19.*

Ключевые слова: *дети, COVID-19, иммунный статус*

Для цитирования: Москалева Е.В., Петрова А.Г., Рычкова Л.В., Новикова Е.А., Ваняркина А.С. Состояние показателей иммунного статуса у детей после перенесённой новой коронавирусной инфекции. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 58-62. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.6.

Indicators of the Immune Status in Children after a New Coronavirus Infection

Moskaleva E.V., Petrova A.G., Rychkova L.V., Novikova E.A., Vanyarkina A.S.

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

Corresponding author: Ekaterina V. Moskaleva, e-mail: mkatena@mail.ru

Abstract

Background. *The mechanism of the immune response in patients with COVID-19 is still poorly understood and differs from other respiratory infections. Immunodeficiencies and age-related characteristics of immunity can be regarded as factors influencing reinfection and a predisposition to prolonged persistence of SARS-CoV-2. Most of the studies report about post-infection immunity to SARS-CoV-2 for adults and less for children. However, understanding the dynamics of antibody production to SARS-CoV-2 among children as well as other unique features of immune response is extremely important, because this provides to avoid possible complications and long-term outcomes of COVID-19, and predict the epidemic spread of the new coronavirus in the organized groups of children such as kindergartens, schools, study groups and clubs.*

Aim: *to evaluate the humoral and cellular immunity after SARS-CoV-2 infection in children.*

Materials and methods. *We reported data of the first phase prospective cohort study of immunity among 60 children living in Irkutsk, Russia within a month after SARS-CoV-2 infection, which took place in October and November 2020.*

Results. *Immunity of children one month after SARS-Cov-2 infection was characterized by suppressed cell-mediated and humoral immunity, and phagocytosis dysfunction. Reduced phagocytosis by neutrophils was noted for 61.6 % of individuals.*

Conclusions. *Children after COVID-19 had impaired immunity to SARS-CoV-2, which may be a predictor of chronic infection and other long-term outcomes of COVID-19.*

Key words: *children, COVID-19, immunity*

For citation: Moskaleva E.V., Petrova A.G., Rychkova L.V., Novikova E.A., Vanyarkina A.S. Indicators of the Immune Status in Children after a New Coronavirus Infection. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 58-62. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.6.

ВВЕДЕНИЕ

В декабре 2019 г. в г. Ухань (Китай) произошла вспышка новой коронавирусной инфекции. 11 февраля 2020 г. Международный комитет по таксономии вирусов присвоил официальное название возбудителю инфекции – SARS-CoV-2, так как данный возбудитель вызывает

тяжёлый острый респираторный синдром (severe acute respiratory syndrome, SARS) или, согласно терминологии Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), – COVID-19 (Coronavirus disease 2019) [1]. К маю 2020 г. более четырёх миллионов человек оказались инфицированы SARS-CoV-2, из них 300 тыс. смертельных исходов. Дети составляют до 10 % в структуре инфицированных SARS-CoV-2 и до 2 % в структуре пациентов с диагнозом COVID-19 [2]. COVID-19 опасен своими осложнениями, преимущественно влияющими, по данным нескольких мета-анализов, на сердечно-сосудистую и мочевыделительную системы [3, 4], и проявляющимися, также, как и другие респираторные инфекции [5, 6], наиболее интенсивно и тяжело у пациентов с высокой коморбидностью [7–9].

Большое значение в патогенезе коронавирусных инфекций уделяется роли окислительного стресса и недостаточности антиоксидантной защиты [10]. В механизме иммунного ответа у больных COVID-19 как клеточная, так и гуморальная составляющие по-прежнему остаются недостаточно изученными и отличаются от других респираторных инфекций. Первые работы по изучению динамики антителообразования к SARS-CoV-2 указывают на появление IgM с 1-го по 14-й день после начала клинических проявлений, среднее время появления IgG – 14-й день с выходом на фазу плато антителообразования к 21-му дню [11–13]. Протективный уровень IgG остаётся на протяжении 90–120 дней после появления симптомов [14, 15]. При этом отслеживание динамики изменений показателей иммунитета у детей является крайне важным, т. к. это позволит оценить риски и предупредить возможные осложнения и отдалённые последствия COVID-19, в том числе связанные с иммунными нарушениями.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение состояния иммунитета после перенесённой новой коронавирусной инфекции у детей г. Иркутска.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами проведён первый этап проспективного когортного клинического исследования состояния параметров иммунного статуса у детей города Иркутска через месяц после перенесённой новой коронавирусной инфекции.

В исследовании приняли участие 60 детей, наблюдающихся и получивших амбулаторное лечение с диагнозом COVID-19 (код по МКБ-10 – U07.1) в ОГАУЗ «Иркутская городская детская поликлиника № 1» в октябре-ноябре 2020 г.

Через месяц после выздоровления проводился ретроспективный анализ амбулаторной карты, клинический осмотр, исследование иммунного статуса.

В качестве критериев исключения при проведении иммунологического обследования были выбраны: отказ пациента или ответственного представителя пациента от исследования, признаки острой респираторной инфекции с повышением температуры в момент обследования, наличие острых или обострения хронических заболеваний за 2 недели до исследования, отсутствие требуемой подготовки к исследованию.

Исследование иммунного статуса проводилось в ОГАУЗ «Иркутский областной клинический консультативно-диагностический центр» и заключалось в определении параметров клеточного, гуморального иммунитета и состояния системы фагоцитоза. Иммунофенотипирование основных иммунокомпетентных клеток проводилось методом проточной цитофлюорометрии с определением количественного соотношения основных субпопуляций лимфоцитов с использованием моноклональных антител к кластерам дифференцировки: HLA DR^+CD3^+, HLA DR^+CD3^-, $CD19^+CD3^-$, $CD56^+CD16^+CD3^-$, $CD3^+$, $CD3^+CD8^+$, $CD3^+CD4^+$. Рассчитывался удельный вес клеток (%) и их абсолютное содержание в единице объёма крови, иммунорегуляторный индекс.

Уровни общих иммуноглобулинов A, M, G в сыворотке крови определялись методом иммуноферментного анализа. Состояние системы фагоцитоза оценивалось по показателям фагоцитарной активности нейтрофилов, фагоцитарного числа, фагоцитарного индекса; функциональное состояние фагоцитоза оценивалось с помощью спонтанной и индуцированной люминолзависимой хемилюминесценции нейтрофилов.

Значения показателей иммунного статуса, не попадающие в возрастной региональный референсный интервал, расценивались как отклонения от нормы.

Математическая обработка показателей проведена методами описательной вариационной статистики с использованием программ «Statistica 6.0». Доверительный интервал для долей рассчитывался с помощью онлайн калькулятора http://vassarstats.net/prop1.html. Графическая обработка данных выполнена с помощью программы Excel (Windows 2010).

Исследование было одобрено комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (протокол № 7 от 02.10.2020 г.) и проведено с информированного согласия пациентов, с соблюдением этических принципов Хельсинкской декларации ВМА 1964 г. (в ред. 2013 г.) и Правил клинической практики в Российской Федерации, утверждённых приказом Минздрава РФ от 01.04.2016 г. № 200Н.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведена оценка показателей иммунитета детей (n = 60) через месяц после новой коронавирусной инфекции. В исследуемой группе распределение по полу было равным – по 50 % (18/36) мальчиков и девочек. Медианный возраст в группе – 12 лет. В возрастной структуре группы преобладали дети школьного возраста – 83 % (n = 50), в том числе дети 7–10 лет – 25 % (n = 15), 11–14 лет – 40 % (n = 24), 15–17 лет – 18 % (n = 11), дошкольников – 17 % (n = 10), в том числе дети 1–3 года – 5 % (n = 3), 4–6 лет – 12 % (n = 7). В исследование были включены дети с этиологически подтверждённым диагнозом COVID-19 двукратным положительным результатом ПЦР к SARS-CoV-2. Все дети в период новой коронавирусной инфекции наблюдались и получали лечение амбулаторно, длительность заболевания составила 8–35 дней. У 43,4 % (n = 26) детей в группе новая коронавирусная инфекция протекала бессимптомно. Лёгкая форма COVID-19 с минимальными проявлениями отмечалась у 56,6 % (n = 34) детей, при этом наиболее частыми симптомами были повышение температуры – 100 % (n = 34) и гиперемия задней стенки глотки и дужек нёбных миндалин – 73,5 % (n = 34).

При оценке состояния системы фагоцитоза фагоцитарная активность нейтрофилов соответствовала рефе-

ренсным значениям у 61,6 % (37/60; 95% ДИ: 48,2–73,6 %) детей, при этом увеличение фагоцитарной активности наблюдалось у 20 % (12/60; 95% ДИ: 11,9–32,7 %), а снижение – у 18,3 % (11/60; 95% ДИ: 9,8–30,8 %). Фагоцитарный индекс и фагоцитарное число определялись в референсном интервале у 21,7 % (13/60; 95% ДИ: 12,4–34,35 %) и 45 % (27/60; 95% ДИ: 32,3–58,3 %) детей, при этом снижение этих показателей отмечалось у 53,3 % (32/60; 95% ДИ: 40,1–66,1 %) и 41,6 % (25/60; 95% ДИ: 29,3–55,1 %) детей соответственно. Резервные возможности кислородозависимого фагоцитоза нейтрофилов были снижены в спонтанной люминолзависимой хемилюминесценции у 60 % (36/60; 95% ДИ: 46,5–72,2 %), а в индуцированной – у 58,3 % (35/60; 95% ДИ: 44,9–70,6 %), при этом выраженность снижения в некоторых случаях достигала свыше 92 % от показателей нормы.

При оценке клеточного иммунитета наиболее частые отклонения от референсных значений выявлены при определении относительного и абсолютного количества В-лимфоцитов $CD19^+$ $CD3^-$, NK-клеток $CD56^+CD16^+CD3^-$ и активированных Т-лимфоцитов $CD3^+$. Значительное увеличение абсолютного количества В-лимфоцитов $CD19^+CD3^-$ выявлено у 58,3 % (35/60; 95% ДИ: 44,9–70,1 %), NK-клеток $CD56^+CD16^+CD3$ – у 46,6 % (28/60; 95% ДИ: 33,8–59,39 %) и активированных Т-лимфоцитов ($CD3^+$) – у 61,6 % (37/60; 95% ДИ: 48,2–73,6 %) детей (рис. 1).

Концентрации общих IgA, IgM, IgG не выходили за пределы референсного интервала у 96,7 % (58/60; 95% ДИ: 87,4–99,4 %), 93,3 % (56/60; 95% ДИ: 82,9–97,8 %) и 96,7 % (58/60; 95% ДИ: 87,4–99,4 %) детей соответственно (рис. 2).

Нежелательные явления при проведении исследования отсутствовали. Состояние иммунитета детей города Иркутска через месяц после перенесённой новой коронавирусной инфекции по результатам проведённого иммунологического исследования имеет тенденцию к активации клеточного звена за счёт увеличения относительного и абсолютного количества клеток, принимающих участие в формировании противовирусного иммунного ответа – активированных Т-лимфоцитов, NK-клеток и активации антителообразовании – В-лимфоцитов. Способность В-лимфоцитов к выработке общих иммуноглобулинов сохраняется.

Рис. 2. Отклонения от референсного интервала концентраций сывороточных иммуноглобулинов у детей, перенесших COVID-19 (n = 60)

Fig. 2. Deviations from reference values of serum immunoglobulin concentrations in children recovering from COVID-19 (n = 60)

При этом предварительно можно отметить, что признаки поликлональной активации не определяются. У большинства детей (61,6 %) выявлены выраженные нарушения в системе фагоцитоза со значительным снижением метаболических резервов нейтрофилов. При длительных и стойких нарушениях в системе фагоцитоза возможен риск развития отдалённых последствий и формирования хронический патологии.

Необходимо прицельное исследование специфических антител к SARS-CoV-2 у детей и клиническое наблюдение в динамике, поскольку роль IgG в предотвращении повторного заражения коронавирусной инфекцией остаётся неясной [16]. Одно из первых исследований напряжённости иммунитета у детей проведено в Германии [17]. Антитела к коронавирусу были обнаружены для 11,2 % детей (n = 731). Изучение нашими коллегами гуморального иммунного ответа к SARS-CoV-2 среди взрослой популяции Иркутской области [18] показало наличие IgG в сыворотке крови людей на 2–3-й неделях после инфицирования и достижении их максимального уровня на 20–21-й день болезни.

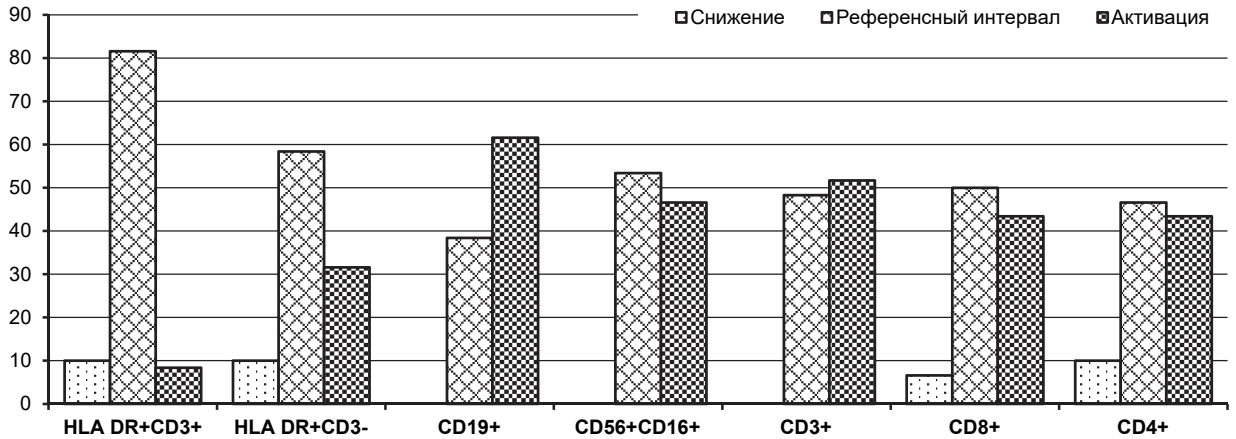


Рис. 1. Отклонения от референсного интервала абсолютных показателей клеточного иммунитета (10^9/л) у детей, перенесших COVID-19 (n = 60)

Fig. 1. Deviations from reference values of absolute indicators of cellular immunity (10^9/l) in children recovering from COVID-19 (n = 60)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ предварительных данных первого этапа проспективного когортного исследования состояния иммунитета после перенесённой новой коронавирусной инфекции позволяет сделать заключение о наличии у детей отклонения показателей клеточного, гуморального звеньев иммунитета и системы фагоцитоза. Значительное снижение активности системы фагоцитоза может являться риском формирования хронических инфекционных процессов и других отдалённых последствий COVID-19. Необходимо продолжить исследование параметров иммунитета и клиническое наблюдение детей после перенесённой COVID-19 в динамике.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Выражение признательности

Авторы выражают благодарность администрации ОГАУЗ «Иркутская городская детская поликлиника № 1» в лице главного врача Кондратенко Владимира Альбертовича и его заместителей Ильюшиной Татьяны Сергеевны и Воржевой Альбины Николаевны за активное содействие.

ЛИТЕРАТУРА

1. Камкин Е.Г., Костенко Н.А., Каракулина Е.В. *Временные методические рекомендации*. *Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID 2019)*. Версия 9. 26.10.2020.

2. Александрович Ю.С., Алексеева Е.И., Бакрадзе М.Д., Баранов А.А., Батышева Т.Т., Вашакмадзе Н.Д. и др. *Особенности клинических проявлений и лечения заболевания, вызванного новой коронавирусной инфекцией (COVID-19), у детей*. Версия 2. 03.07.2020.

3. Kunutsor SK, Laukkanen JA. Cardiovascular complications in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *J Infect.* 2020; 81(2): 139-141. doi: 10.1016/j.jinf.2020.05.068

4. Kunutsor SK, Laukkanen JA. Renal complications in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Ann Med*. 2020; 52(7): 345-353. doi: 10.1080/07853890.2020.1790643

5. Allard R, Leclerc P, Tremblay C, Tannenbaum TN. Diabetes and the severity of pandemic influenza A (H1N1) infection. *Diabetes care.* 2010; 33(7): 1491-1493. doi: 10.2337/dc09-2215

6. Петрова А.Г., Рычкова Л.В., Ваняркина А.С., Келешева И.Ю., Москалёва Е.В., Новикова Е.А. Клинико-лабораторные характеристики гриппа у детей с ожирением. *Вопросы практической педиатрии*. 2020; 15(4): 8-15. doi: 10.20953/1817-7646-2020-4-8-14

7. Rogers JP, Chesney E, Oliver D, Pollak TA, McGuire P, Fusar-Poli P, et al. Psychiatric and neuropsychiatric presentations associated with severe coronavirus infections: A systematic review and meta-analysis with comparison to the COVID-19 pandemic. *Lancet Psychiatry*. 2020; 7(7): 611-627. doi: 10.1016/S2215-0366(20)30203-0

8. Hussain A, Mahawar K, Xia Z, Yang W, El-Hasani S. Obesity and mortality of COVID-19. Meta-analysis. *Obes Res Clin Pract*. 2020; 14(4): 295-300. doi: 10.1016/j.orcp.2020.07.002

9. Huang I, Lim MA, Pranata R. Diabetes mellitus is associated with increased mortality and severity of disease in COVID-19 pneumonia: A systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *Diabetes Metab Syndr.* 2020; 14(4): 395-403. doi: 10.1016/j.dsx.2020.04.018

10. Даренская М.А., Колесникова Л.И., Колесников С.И. COVID-19: окислительный стресс и актуальность антиоксидантной терапии. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2020; 75(4): 318-325. doi: 10.15690/vramn1360

11. Guo L, Ren L, Yang S, Xiao M, Chang D, Yang F, et al. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin Infect Dis*. 2020; 71(15): 778-785. doi: 10.1093/cid/ciaa310

12. Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis.* 2020; 71(16): 2027-2034. doi: 10.1093/cid/ciaa344

13. To KK, Tsang OT, Leung WS, et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: An observational cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2020; 20(5): 565-574. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30196-1

14. Ibarrondo FJ, Fulcher JA, Goodman-Meza D, Elliott J, Hofmann C, Hausner MA, et al. Rapid decay of anti-SARS-CoV-2 antibodies in persons with mild Covid-19. *N Engl J Med.* 2020; 383(11): 1085-1087. doi: 10.1056/NEJMc2025179

15. Bölke E, Matuschek C, Fischer JC. Loss of anti-SARS-CoV-2 antibodies in mild Covid-19. *N Engl J Med.* 2020; 383(17): 1694-1695. doi: 10.1056/NEJMc2027051

16. Alberca GGF, Alberca RW. What is the long-term clinical significance of anti-SARS-CoV-2-specific IgG? *Influenza Other Respir Viruses.* 2021; 15(3): 413-414. doi: 10.1111/irv.12825

17. Schwarz S, Jenetzky E, Krafft H, Maurer T, Steuber C, Reckert T, et al. Corona bei Kindern: Die Co-Ki Studie: Relevanz von SARS-CoV-2 in der ambulanten pädiatrischen Versorgung in Deutschland [Corona in Children: the Co-Ki Study]. *Monatsschr Kinderheilkd.* 2020; (3): 1-6. doi: 10.1007/s00112-020-01050-3. (In German)

18. Балахонов С.В., Дубровина В.И., Чеснокова М.В., Войткова В.В., Пятидесятникова А.Б., Брюхова Д.Д. и др. Изучение гуморального иммунного ответа при лёгкой и бессимптомной формах проявления COVID-19. *Acta biomedica scientifica.* 2020; 5(5): 26-30. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.3

REFERENCES:

1. Kamkin EG, Kostenko NA, Karakulina EV. *Temporary guidelines. Prevention, diagnosis and treatment of new coronavirus infection (COVID 2019)*. Version 9. 26.10.2020. (In Russ.)

2. Aleksandrovich YS, Alekseeva EI, Bakradze MD, Baranov AA, Batysheva TT, Vashakmadze ND, et al. *Features of clinical manifestations and treatment of a disease caused by a new coronavirus infection (COVID-19) in children*. Version 2. 03.07.2020. (In Russ.)

3. Kunutsor SK, Laukkanen JA. Cardiovascular complications in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *J Infect.* 2020; 81(2): 139-141. doi: 10.1016/j.jinf.2020.05.068

4. Kunutsor SK, Laukkanen JA. Renal complications in COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Ann Med*. 2020; 52(7): 345-353. doi: 10.1080/07853890.2020.1790643

5. Allard R, Leclerc P, Tremblay C, Tannenbaum TN. Diabetes and the severity of pandemic influenza A (H1N1) infection. *Diabetes care.* 2010; 33(7): 1491-1493. doi: 10.2337/dc09-2215

6. Petrova AG, Rychkova LV, Vanyarkina AS, Kelesheva IYu, Moskaleva EV, Novikova EA. Clinical laboratory features of influenza in children with obesity. *Voprosy prakticheskoy pediatrii.* 2020; 15(4): 8-14. (In Russ.). doi: 10.20953/1817-7646-2020-4-8-14

7. Rogers JP, Chesney E, Oliver D, Pollak TA, McGuire P, Fusar-Poli P, et al. Psychiatric and neuropsychiatric presentations associated with severe coronavirus infections: A systematic review and meta-analysis with comparison to the COVID-19 pandemic. *Lancet Psychiatry*. 2020; 7(7): 611-627. doi: 10.1016/S2215-0366(20)30203-0

8. Hussain A, Mahawar K, Xia Z, Yang W, El-Hasani S. Obesity and mortality of COVID-19. Meta-analysis. *Obes Res Clin Pract*. 2020; 14(4): 295-300. doi: 10.1016/j.orcp.2020.07.002

9. Huang I, Lim MA, Pranata R. Diabetes mellitus is associated with increased mortality and severity of disease in COVID-19 pneumonia: A systematic review, meta-analysis, and meta-regression. *Diabetes Metab Syndr.* 2020; 14(4): 395-403. doi: 10.1016/j.dsx.2020.04.018

10. Darenskaya MA, Kolesnikova LI, Kolesnikov SI. COVID-19: Oxidative stress and the relevance of antioxidant therapy. *Vestnik*

Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk. 2020; 75(4): 318-325. (In Russ.). doi: 10.15690/vramn1360

11. Guo L, Ren L, Yang S, Xiao M, Chang D, Yang F, et al. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin Infect Dis*. 2020; 71(15): 778-785. doi: 10.1093/cid/ciaa310

12. Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su Y, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis.* 2020; 71(16): 2027-2034. doi: 10.1093/cid/ciaa344

13. To KK, Tsang OT, Leung WS, et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: An observational cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2020; 20(5): 565-574. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30196-1

14. Ibarrondo FJ, Fulcher JA, Goodman-Meza D, Elliott J, Hofmann C, Hausner MA, et al. Rapid decay of anti-SARS-CoV-2 antibodies in persons with mild Covid-19. *N Engl J Med.* 2020; 383(11): 1085-1087. doi: 10.1056/NEJMc2025179

15. Bölke E, Matuschek C, Fischer JC. Loss of anti-SARS-CoV-2 antibodies in mild Covid-19. *N Engl J Med.* 2020; 383(17): 1694-1695. doi: 10.1056/NEJMc2027051

16. Alberca GGF, Alberca RW. What is the long-term clinical significance of anti-SARS-CoV-2-specific IgG? *Influenza Other Respir Viruses.* 2021; 15(3): 413-414. doi: 10.1111/irv.12825

17. Schwarz S, Jenetzky E, Krafft H, Maurer T, Steuber C, Reckert T, et al. Corona bei Kindern: Die Co-Ki Studie: Relevanz von SARS-CoV-2 in der ambulanten pädiatrischen Versorgung in Deutschland [Corona in Children: the Co-Ki Study]. *Monatsschr Kinderheilkd.* 2020; (3): 1-6. doi: 10.1007/s00112-020-01050-3. (In German)

18. Balakhonov SV, Dubrovina VI, Chesnokova MV, Voitkova VV, Pyatidesyatnikova AB, Bryukhova DD, et al. Studying humoral immune response at mild and asymptomatic COVID-19 forms. *Acta biomedica scientifica.* 2020; 5(5): 26-30. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.3

Сведения об авторах

Москалева Екатерина Владимировна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории инфектологии и иммунопрофилактики в педиатрии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: mkatena@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-4196-0713

Рычкова Любовь Владимировна – член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, http://orcid.org/0000-0001-5292-0907

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

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

Ваняркина Анастасия Сергеевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории 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

Information about the authors

Ekaterina V. Moskaleva – Cand. Sc. (Med.), Research Officer at the Laboratory of Infectology and Immunoprophylaxis, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: mkatena@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-4196-0713

Lyubov V. Rychkova – Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of the Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, http://orcid.org/0000-0001-5292-0907

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

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

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

Статья получена: 05.03.2021. Статья принята: 11.05.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 05.03.2021. Accepted: 11.05.2021. Published: 15.06.2021.

КАРДИОЛОГИЯ
CARDIOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.7

Антитромботическая терапия у пожилых пациентов с фибрилляцией предсердий: состояние проблемы в реальной клинической практике врача семейной медицины

Канат кызы Базира [1], Киндербаева Н.К. [1], Турдалиев С.О. [2], Махмудова Ж.А. [1], Кундашев У.К. [1], Маматов С.М. [1]

[1] Кыргызская государственная медицинская академия имени И.К. Ахунбаева (720020, г. Бишкек, ул. Ахунбаева, 92, Кыргызская Республика); [2] Ошский государственный университет (723500, г. Ош, ул. Ленина, 331, Кыргызская Республика)

Автор, ответственный за переписку: Маматов Сагынали Мурзаевич, e-mail: s.480077@mail.ru

Резюме

Введение. *В настоящее время всё больше возрастает актуальность исследований, направленных на изучение эффективности и безопасности антикоагулянтной терапии у больных фибрилляцией предсердий (ФП), в особенности в старших возрастных группах.*

Цель исследования: *проанализировать ситуацию с назначением антикоагулянтной терапии у лиц пожилого и старческого возраста с фибрилляцией предсердия в реальной клинической практике и продемонстрировать возможность улучшения качества наблюдения и ведения группы пациентов в рамках работы специализированной команды.*

Материалы и методы. *Всего было изучено 2770 медицинских амбулаторных карт наблюдения больных с фибрилляцией предсердий за период с 2017 по 2019 гг. Из этого количества отобрано 320 пациентов с ФП неклапанной этиологии, средний возраст которых составил 70,3 ± 8,15 года. Женщин было 270 чел., мужчин – 50 чел. Наблюдательное проспективное исследование у 45 пациентов пожилого и старческого возраста с ФП неклапанной этиологии проведено командой специализированных врачей на протяжении 12 месяцев.*

Результаты. *Из 301 пациента антикоагулянтная терапия была назначена 166 (55,1 %), из этого числа должную терапию антикоагулянтами получили только 17 (10,2 %, p < 0,05) чел. Чрезмерная активность наблюдалась в отношении антиагрегантной терапии аспирином, которая была назначена у 114 (37,9 %) чел., и без какого-либо лечения антикоагулянтами и антиагрегантами остался 21 (7,0 %) пациент. Хотя и в случаях, когда аспирин назначался, и когда он не назначался, были показаны антикоагулянты. В проспективной части исследования (в течение 12 мес.) все 45 пациентов продолжают пить антикоагулянты и систематически наблюдаться. МНО (международное нормализованное отношение) в целевом диапазоне более 60 % времени у пациентов, получающих терапию варфарином, было достигнуто в 37 % случаев.*

Заключение. *В реальной клинической практике центров семейной медицины Кыргызской Республики пациенты с ФП получают неадекватную антитромботическую терапию. Основным препаратом выбора для специалистов остаётся варфарин – терапия, которую можно признать адекватной только у незначительного числа (16 %) пациентов. Возможность улучшения качества наблюдения и ведения группы пациентов с ФП и высокую приверженность к лечению продемонстрировала работа специализированной команды врачей.*

Ключевые слова: *антикоагулянтная терапия, варфарин, фибрилляция предсердий, лица пожилого и старческого возраста*

Для цитирования: Канат кызы Базира, Киндербаева Н.К., Турдалиев С.О., Махмудова Ж.А., Кундашев У.К., Маматов С.М. Антитромботическая терапия у пожилых пациентов с фибрилляцией предсердий: состояние проблемы в реальной клинической практике врача семейной медицины. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 63-69. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.7.

Antithrombotic Therapy in Elderly Patients with Atrial Fibrillation: The State of the Problem in the Real Clinical Practice of a Family Medicine Doctor

Kanat kyzy Bazira [1], Kinderbaeva N.K. [1], Turdaliyev S.O. [2], Mahmudova Zh.A. [1], Kundashev U.K. [1], Mamatov S.M. [1]

[1] I.K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy (Akhunbaeva str. 92, Bishkek 720020, Kyrgyzstan); [2] Osh State University (Lenina str. 331, Osh 723500, Kyrgyzstan)

Corresponding author: Sagynali M. Mamatov, e-mail: s.480077@mail.ru

Abstract

Introduction*. The research aimed at studying the efficacy and safety of anticoagulant therapy in patients with atrial fibrillation (AF), especially in older age groups, is now increasingly relevant.*

The aim of the study *is to analyze the situation with prescribing anticoagulant therapy in elderly and senile persons with atrial fibrillation in real clinical practice and to demonstrate the possibility of improving the quality of observation and management of a group of patients as part of the work of a specialized team.*
Materials and methods. *A total of 2,770 medical records of outpatient patients with atrial fibrillation were studied for the period from 2017 to 2019. Of this number, 320 patients with AF of nonvalvular etiology were selected, the average age of which was 70.3 ± 8.15 years. There were 270 women and 50 men. An observational prospective study in 45 elderly and senile patients with AF of non-valvular etiology was carried out by a team of specialized doctors for 12 months.*
Results. *Of the 301 patients, anticoagulant therapy was prescribed to 166 (55.1* **%***), of which only 17 (10.2* **%***) people received proper anticoagulant therapy. The excessive activity was observed in 114 (37.9* **%***) patients, who underwent antiplatelet therapy with aspirin, and 21 (7.0* **%***) patients remained without any treatment with anticoagulants nor antiplatelet agents. Although, in the case of both, prescribing aspirin and not prescribing, anticoagulants have been indicated. In the prospective part of the study (for 12 months), all 45 patients continued to take anticoagulants and were systematically monitored. The INR in the target range over 60* **%** *of the time was achieved in 37* **%** *of patients receiving warfarin therapy.*
Conclusion*. In the actual clinical practice of Kyrgyzstan family medicine centers, older patients with atrial fibrillation receive inadequate antithrombotic therapy. The main drug of choice for specialists remains warfarin, a therapy that can be recognized as adequate only in a small number (16* **%***) of patients. The ability to improve the quality of surveillance and management of a group of patients with AF and high adherence to treatment was demonstrated by the work of a specialized team of doctors.*

Key words: *anticoagulant therapy, warfarin, atrial fibrillation, elderly and senile persons*

For citation: Kanat кyzy Bazira, Kinderbaeva N.K., Turdaliyev S.O., Mahmudova Zh.A., Kundashev Y.K., Mamatov S.M. Antithrombotic Therapy in Elderly Patients with Atrial Fibrillation: The State of the Problem in the Real Clinical Practice of a Family Medicine Doctor. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 63-69. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.7.

ВВЕДЕНИЕ

Серьёзную проблему многих заболеваний составляют тромботические и тромбоэмболические осложнения из-за распространённости, тяжести клинического течения, высокой вероятности инвалидизации и фатальных исходов. В основе этих осложнений лежит неконтролируемая активация свёртывания крови с локальным тромбообразованием в различных отделах сосудистого русла [1]. Одним из таких заболеваний является фибрилляция предсердий (ФП), которая считается самым распространённым нарушением сердечного ритма, и частота её с возрастом только увеличивается.

Обновлённые рекомендации Европейского общества кардиологов, опубликованные в 2020 г., обозначили понимание ФП как полиморбидного, непрерывно развивающегося синдрома, в связи с чем в основу стратегии лечения положена комплексная оценка пациента, включающая риск инсульта, наличие и тяжесть симптомов, а также оценку структурного заболевания сердца и сопутствующей патологии [2]. Так, по данным Фремингемского исследования, распространённость и частота ФП после 50 лет удваиваются каждое десятилетие [3]. У таких пациентов риск инсульта повышается в 5 раз и обусловливает возникновение каждого пятого инсульта, что зачастую связано с тромбоэмболией в церебральные артерии вследствие тромбоза ушка левого предсердия [4]. Ишемический инсульт у больных с ФП приводит к наиболее выраженному нарушению ментальной функции, имея рецидивирующее течение, чаще заканчивается смертью по сравнению с инсультом другой природы. При этом 50 % всех кардиоэмболических инсультов ассоциировано с ФП неклапанной этиологии [5].

По показателям смертности от цереброваскулярных заболеваний Киргизия занимает первое место среди стран Европейского региона, превышая показатели по Казахстану, России, Молдове и СНГ в более чем 10 раз [6]. Высокой сохраняется общая летальность при инсульте, которая в 2007–2011 гг. составила 41,8 % (39 % у мужчин, 44 % у женщин).

Независимо от того, какая тактика лечения выбирается, всем пациентам с ФП при высоком риске развития тромбоэмболических осложнений (ТЭО) показана терапия антикоагулянтами, которая у лиц пожилого и старческого возраста требует особого подхода [7].

Проблема антикоагулянтной терапии у пациентов с ФП, да и вообще в целом, в нашей стране оказалась абсолютно не решённой. Недавние исследования авторов в южных регионах страны показали, что профилактика инсульта и системных эмболий проводится лишь у 11,8 % из всего количества пациентов (387 чел. в исследовании), кому она показана в соответствии с клиническими рекомендациями [8]. Проблемным остаётся и выбор антикоагулянта, так как арсенал лекарственных средств представлен только антагонистами витамина К.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Продолжить исследование по изучению ситуации с назначением антикоагулянтной терапии у лиц пожилого и старческого возраста с фибрилляцией предсердия в реальной клинической практике и продемонстрировать возможность улучшения качества наблюдения и ведения группы пациентов в рамках работы специализированной команды.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При центрах семейной медицины северного региона Киргизии было проведено неконтролируемое исследование адекватной антикоагулянтной терапии у лиц пожилого и старческого возраста на амбулаторном уровне оказания медицинской помощи. Критерии включения: наличие неклапанной ФП, возраст на момент назначения антикоагулянтной терапии – 65 лет и старше. Критерии исключения: возраст пациентов с неклапанной ФП меньше 65 лет, отсутствие сведений о приёме препаратов.

Всего было изучено 2770 медицинских амбулаторных карт наблюдения больных с фибрилляцией предсердий за период с 2017 по 2019 гг. Из этого количества отобрано 320 пациентов с ФП неклапанной этиологии, средний возраст которых составил 70,3 ± 8,15 года. Женщин было 270 чел., мужчин – 50 чел.

В каждой медицинской амбулаторной карте больного оценивались: показания к назначению антикоагу-

лянтной терапии, её наличие или отсутствие; вид антикоагулянта, при отсутствии – причины её неназначения; риск развития ТЭО по шкале CHA_2DS_2-VASc; риск развития кровотечений по шкале HAS-BLED; данные лабораторных исследований, включая время нахождения МНО в терапевтическом окне (целевой уровень – от 2,0 до 3,0) и наличие сопутствующей патологии.

Для повышения эффективности и безопасности антикоагулянтной терапии на базе кафедры госпитальной терапии Кыргызской государственной медицинской академии им. И.К. Ахунбаева была создана единая команда в составе врачей: кардиолога, гематолога, лаборанта и медицинской сестры, которые осуществляли полный контроль за больными (осмотр, обследование, консультации, корректировка лечения, оценка рисков развития ТЭО и кровотечений), принимающих антикоагулянты.

С помощью этой команды проведено наблюдательное проспективное исследование у 45 пациентов пожилого и старческого возраста с ФП неклапанной этиологии, проживающих в г. Бишкек. Продолжительность наблюдения составила 12 месяцев. Стандартная начальная доза варфарина составляла 5 мг или 4,5 мг. Коррекция дозы варфарина происходила в зависимости от уровня МНО в день определения МНО или на следующий день. Показатель МНО определялся в лаборатории городской клинической больницы № 1. На этапе коррекции дозы варфарина пациентам выполнялось определение МНО 1 раз в 3 дня, затем не менее двух определений МНО в месяц. Установленный интервал – 12 месяцев, за это время рассчитывался процент визитов, во время которых МНО находится в целевом диапазоне. Так, если из 100 % визитов всех больных, прошедших за это время, 60 попадают в диапазон МНО, а 40 – нет, показатель составляет 60 %. Связь с пациентами обеспечивалась посредством мобильной связи и приложения WhatsApp (в каких-то случаях информацию сообщали сами пациенты, в каких-то – их родственники) на постоянной основе (24/7), кроме того, обязательным было посещение специалистов по вызову.

Статистический анализ данных и математическая обработка проведены с использованием программы Microsoft Excel, пакета прикладных программ Statistica Excel, пакета прикладных программ Statistica 8.0. Для оценки значимости различий между группами использовали критерии Манна – Уитни. Различия считали статистически значимыми при уровне ошибки $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристика пациентов представлена в табл. 1. Как следует из таблицы, артериальная гипертензия выявлена у 75,3 %, ишемическая болезнь сердца – у 43,4 %, в том числе инфаркт миокарда в анамнезе – у 21,2 %, хроническая сердечная недостаточность – у 19,0 %, сахарный диабет 1-го и 2-го типов – у 17,8 % и острое нарушение мозгового кровообращения – у 15,3 %. Кроме того, у незначительного количества пациентов (4,1 %) выявили хроническую болезнь почек со значимым снижением скорости клубочковой фильтрации. Эти выявленные заболевания отнесены к основным факторам риска развития тромбоэмболических осложнений.

Для прогнозирования риска ишемического инсульта и системного тромбоэмболизма в работе проведено распределение пациентов по шкале CHA_2DS_2-VASc. Для большинства пациентов характерным оказался умеренный и высокий риск развития ТЭО ($p < 0,05$). При стратификации риска развития геморрагических осложнений по шкале HAS-BLED высокий риск отмечен у 27 пациентов ($p < 0,05$) (табл. 2).

Таблица 1

Характеристика пациентов в исследовании

Table 1

Patient characteristics in the study

Показатели/факторы	Значение
Всего пациентов, *n*	320
Средний возраст, лет	71 (65; 81)
Мужчины, *n* (%)	50 (15,6 %)
Женщины, *n* (%)	270 (84,4 %)
Артериальная гипертония, *n* (%)	241 (75,3 %)
Ишемическая болезнь сердца, *n* (%):	139 (43,4 %)
в том числе инфаркт миокарда в анамнезе, *n* (%)	68 (21,2 %)
Хроническая сердечная недостаточность, *n* (%)	61 (19,0 %)
Сахарный диабет 1-го и 2-го типов, *n* (%)	57 (17,8 %)
Острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе, *n* (%)	49 (15,3 %)
Хроническая болезнь почек, *n* (%)	13 (4,1 %)

Таблица 2

Распределение пациентов по шкалам CHA_2DS_2-VASc и HAS-BLED

Table 2

Patient distribution according to the CHA_2DS_2-VASc and HASB-LED scales

Показатели	Шкала CHA_2DS_2-VASc			Шкала HAS-BLED	
	0	1	≥ 2	≥ 3	< 3
Количество пациентов	3 (0,9 %)	16 (5,0 %)*	301 (94,1 %)*	27 (8,4 %)*	293 (91,6 %)

Примечание. * – $p < 0,05$, различия статистически значимы по сравнению с меньшим риском развития ТЭО и кровотечений.

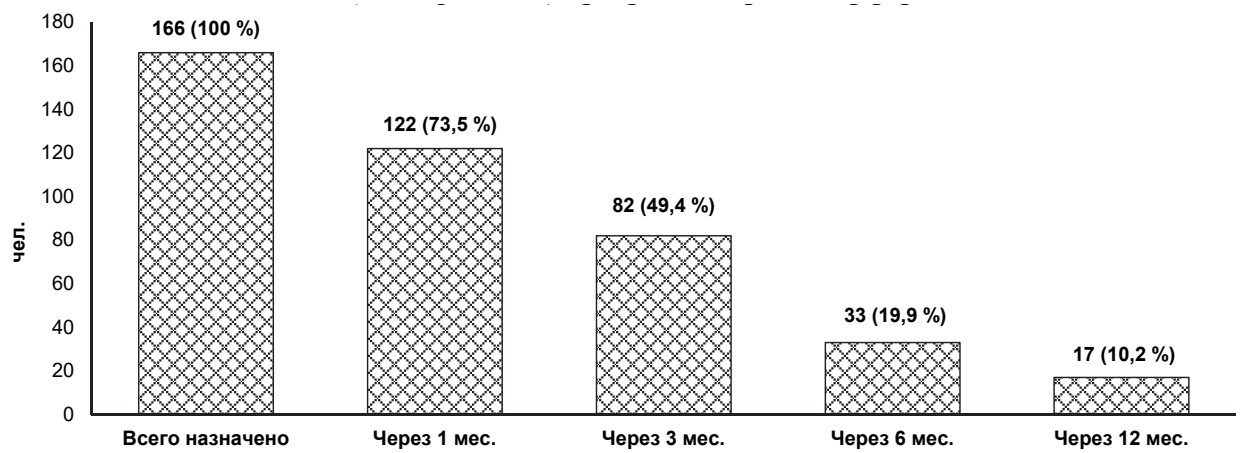


Рис. 1. Динамика снижения числа пациентов с фибрилляцией предсердий, принимающих варфарин (анализ в течение 12 месяцев)
Fig. 1. Dynamics of a decrease in the number of patients with atrial fibrillation taking warfarin (analysis within 12 months)

Таким образом, изучение причинных факторов риска развития ТЭО и их распределение по шкалам показало, что большинство пациентов (301 чел., 94,1 %) имели высокий риск ТЭО по шкале CHA_2DS_2-VASc и нуждались в приёме антикоагулянтной терапии. Промежуточный или умеренный риск развития ТЭО в исследовании имели 16 (5,0 %) и низкий риск – 3 (0,9 %) чел., эти пациенты не имели показаний в какой-либо антитромботической терапии.

Из 301 пациента антикоагулянтная терапия была назначена 166 (55,1 %), из этого числа должную терапию антикоагулянтами получили только 17 (10,2 %) чел. Чрезмерная активность наблюдалась в отношении антиагрегантной терапии аспирином, которая была назначена у 114 (37,9 %), и без какого-либо лечения антикоагулянтами и антиагрегантами остался 21 (7,0 %) пациент. Хотя как в случае назначения аспирина, так и не назначения, были показаны антикоагулянты.

Нами проанализирован приём варфарина пациентами в течение 12 месяцев, который показал неутешительные результаты. Проблемы с приёмом варфарина возникали по ходу всего наблюдения (рис. 1). Как видно из данных рисунка, через 1 мес. число пациентов, принимающих варфарин под контролем МНО, уменьшилось до 73,5 % ($p < 0,05$), через 3 месяца почти половина (50 %, $p < 0,05$) прекратила приём варфарина.

В последующие сроки их число также уменьшалось, и к концу первого года пациентов, действительно принимающих варфарин с периодическим контролем МНО, осталось всего 17 (10,2 %, $p < 0,05$) человек. Это то реальное количество пациентов, которые в течение года регулярно наблюдались и следовали рекомендациям врачей центра семейной медицины.

Изучение времени нахождения МНО в терапевтическом диапазоне (TTR – time in therapeutic range) показало, что из 2779 измерений МНО, которое проводилось 132 пациентам в течение одного года наблюдения, в пределах целевого значения оказалось только 284, или 10,2 %. При анализе осложнений от приёма варфарина выявлено, что проявления геморрагического синдрома в виде подкожных гематом и кровотечений (десневые, носовые, микрогематурия) разной степени отмечались в 23,5 % случаев.

В связи со сложившейся ситуацией с назначением антикоагулянтной терапии, нами проведено наблюдательное проспективное исследование у 45 пациентов, принимавших варфарин под наблюдением и контролем специализированной команды. По уровню риска развития ТЭО пациенты имели от 3 до 5 баллов по шкале CHA_2DS_2-VASc, а при оценке развития кровотечения – 0–2 балла по шкале HAS-BLED, то есть имели показания для приёма антикоагулянта, всем был назначен варфарин.

На момент анализа результатов срок наблюдения составил 12 месяцев. Все пациенты продолжают принимать антикоагулянты и проходить наблюдение в специализированной врачебной команде. МНО в целевом диапазоне более 60 % времени у пациентов было достигнуто в 37 % случаев. За время наблюдения тромбоэмболические осложнения были отмечены всего у 11 пациентов, в виде 27 геморрагических эпизодов, при этом повторные кровотечения имелись у 6 больных, эти малые кровотечения были устранимыми и легко проходили. Больших кровотечений в нашем исследовании не наблюдалось, что свидетельствует о безопасном ведении пациентов на антагонистах витамина К в рамках непрерывного наблюдения специализированной командой. Самыми распространёнными видами геморрагических осложнений у пациентов в нашем исследовании были носовые кровотечения и петехиальная сыпь. У одного пациента наблюдалась гематурия, ему было назначено обследование, которое исключило почечную патологию, больной находится под контролем. При этом в нашем исследовании не обнаружено ни одного внутричерепного кровоизлияния. Число пациентов, самостоятельно отказавшихся от приёма варфарина, в исследовании составило 3 (6,6 %) чел., что не превышало 10 %. Причиной отказа в одном случае явилось злоупотребление алкоголем, и в двух случаях – отъезд пациентов из города, где по месту прибытия в село не было возможности организовать контроль МНО.

В настоящее время охват пациентов старших возрастных групп специализированной врачебной командой увеличился до 69 больных.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведённый анализ в нашей работе показал, что 90 % пациентов не получают должную антикоагулянт-

ную терапию. Данный показатель оказался незначительно, но лучше, чем в исследовании РЕКВАЗА, включавшем 3690 больных с ФП из амбулаторной практики в г. Рязани [9]. По данным этого исследования, неназначение антикоагулянтов происходит в 95,9 % случаев (только 3,6 % пациентов получали варфарин и 0,6 % – дабигатран). Но в то же время наши результаты никак не конкурируют с данными, полученными в работе А.А. Соколовой и соавт. (2015), где из 677 проанализированных пациентов с ФП (70 % женщин, 30 % мужчин), неудовлетворительный контроль МНО вследствие пребывания вне терапевтического окна менее 60 % времени выявлен в 79 % случаев [10]. При проведении этими же авторами антикоагулянтной терапии в рамках работы специализированного кабинета, нахождение общего времени пребывания в целевом диапазоне МНО более 60 % времени достигнуто у 41 % пациентов, что в два раза превосходит нахождение в терапевтическом окне среди пациентов в рутинной клинической практике [11].

Время нахождения МНО в терапевтическом диапазоне в нашем исследовании, проведённое 132 пациентам в течение одного года наблюдения, показало, что в пределах целевого значения оказалось только 284 измерения, или 10,2 %. Эти цифры значительно ниже значений, полученных в исследованиях RE-LY (64 %), ROCKET – AF (55 %) и ARISTOTLE (62 %) [12], и не конкурируют со значениями в исследовании EU-PACT TTR (67 и 60 % в разных группах) [13] и CoumaGen-II (69 и 58 %) [14].

Полученные нами результаты ещё раз подчёркивают не только сложность подбора терапии антагонистами витамина К в силу ряда объективных и субъективных причин, но и высвечивают проблему в этой области.

В зависимости от риска развития ТЭО и кровотечений наши пациенты имели высокий риск развития инсультов и системных эмболий (2–6 баллов по шкале CHA_2DS_2-VASc), при низком риске кровотечений (0–2 балла HAS-BLED), что напрямую указывало на назначение антикоагулянтов, но этого не было сделано в полной мере.

В последнее время проблема недостаточного охвата пациентов с ФП антикоагулянтной терапией стала выходить на первый план. Так, по данным крупного наблюдательного исследования регистра EORP-AF [15], антитромботическую терапию не получали 4,8 % пациентов из 3119 чел. Среди наших пациентов, которые имели абсолютные показания для назначения антикоагулянтной терапии, неохваченными остались почти 90 % больных.

Наиболее грозным побочным эффектом терапии антикоагулянтами и основной причиной воздержания от них является развитие геморрагических осложнений. При этом, при назначении варфарина частота больших кровотечений составляет около 2 %, а фатальных – около 0,1 % в год [16]. В исследовании российских авторов геморрагические осложнения развились у 8,45 % пациентов, получавших антагонисты витамина К [17]. При ретроспективном анализе у наших пациентов наблюдали проявления геморрагического синдрома в виде подкожных гематом и кровотечений (десневые, носовые, микрогематурия) разной степени, которые отмечались в 23,5 % случаев, что значительно выше данных литературы.

Пациенты, которые вошли в проспективную часть исследования, контролировались нами с момента назначения им варфарина. Среди них были пациенты, которые ранее в сроки от 1 до 3 месяцев получали антикоагулянты и самостоятельно прервали лечение, а также вообще не принимавшие антикоагулянты. К этому следует добавить, что пациенты нашего исследования не являются искусственно отобранной группой, это обычные пациенты врачей терапевтов и кардиологов центров семейной медицины. При сравнении с данными других исследований и регистров, посвящённых рутинной практике [18, 19], пациенты нашей выборки имели более низкий социально-экономический статус и были значимо моложе. Их средний возраст составил 64,6 года, а число пациентов старше 75 лет – лишь 14,5 %.

В то же время следует констатировать, что предварительные результаты работы вновь созданной специализированной команды оказались обнадёживающими, и в перспективе могут дать определенные положительные результаты на данном этапе развития государства, из-за отсутствия возможностей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В реальной клинической практике центров семейной медицины нашей страны пациенты с ФП получают неадекватную антитромботическую терапию. Основным препаратом выбора для специалистов остаётся варфарин – терапия, которую можно признать адекватной только у незначительного числа пациентов (10,2 %).

Работа специализированной команды врачей продемонстрировала возможности улучшения качества наблюдения и ведения данной группы пациентов, высокую приверженность к лечению, более низкое число геморрагических и тромбоэмболических осложнений.

Успешный опыт работы специализированной команды даёт надежду на возможное улучшение ситуации по стране в целом для создания кабинета контроля антитромботической терапии.

Конфликт интересов

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вавилова Т.В. Антикоагулянты в клинической практике. *Медицинский совет*. 2015; 12: 44-47. doi: 10.21518/2079-701X-2015-12-44-47

2. Кропачева Е.С., Панченко Е.П. Аспекты антикоагулянтной терапии у больных фибрилляцией предсердий в свете обновлённых рекомендаций Европейского общества кардиологов 2020 года: место дабигатрана. *Атеротромбоз*. 2020; (2): 17-26. doi: 10.21518/2307-1109-2020-2-17-26

3. Heeringa J, van der Kuip DA, Hofman A, Kors JA, van Herpen G, Stricker BHCh, et al. Prevalence, incidence and lifetime risk of atrial fibrillation: The Rotterdam study. *Eur Heart J*. 2006; 27(8): 949-953. doi: 10.1093/eurheartj/ehi825

4. Rubanenko AO, Shchukin YuV. Factors associated with thrombosis of the left atrial appendage in patients with chronic atrial fibrillation. *Klinicheskaya Medicina*. 2014; 92(11): 29-34.

5. McGrath ER, Kapral MK, Fang J, Eikelboom JW, Conghaile Aó, Canavan M, et al.; Investigators of the Ontario Stroke Registry. Association of atrial fibrillation with mortality and disability after ischemic stroke. *Neurology*. 2013; 81(9): 825-832. doi: 10.1212/WNL.0b013e3182a2cc15

6. Тургунбаев Д.Д., Артыкбаев А.Ш., Кадырова Н. и др. Документ исследования политики «Анализ верифицированности диагноза «инсульт» у лиц, умерших на дому». *Центр анализа политики здравоохранения*. 2014; 23. URL: www.hpac.kg

7. Канат кызы Базира, Мусакеев А.О., Маматов С.М., Киндербаева Н.К., Кундашев У.К. Антикоагулянтная терапия

пожилых людей во врачебной клинической деятельности центров семейной медицины Кыргызской Республики. *Клиническая геронтология*. 2020; (9-10): 3-8. doi: 10.26347/1607-2499202009-10003-008

8. Беленков Ю.Н., Шакарьянц Г.А., Хабарова Н.В., Ан Г.В. Антикоагулянтная терапия у пожилых пациентов с фибрилляцией предсердий. *Кардиология*. 2018; 58(10): 45-52. doi: 10.18087/cardio.2018.10.10177

9. Лукьянов М.М., Бойцов С.А., Якушин С.С. и др. Диагностика, лечение, сердечно-сосудистая патология и сопутствующие заболевания у больных с диагнозом «фибрилляция предсердий» в условиях реальной амбулаторно-поликлинической практики. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2014; 10(4): 366-377.

10. Соколова А.А., Царев И.Л., Напалков Д.А., Сулимов В.А. Антикоагулянтная терапия у пациентов с фибрилляцией предсердий: состояние проблемы в рутинной клинической практике. *Трудный пациент*. 2015; 7(13): 36-40.

11. Соколова А.А., Жиленко А.В., Царев И.Л., Напалков Д.А., Сулимов В.А. Практические аспекты применения антикоагулянтной терапии у пациентов с фибрилляцией предсердий неклапанной этиологии: данные регистра университетской клиники. *Российский кардиологический журнал*. 2015; 9(125): 32-37.

12. Amin A, Deitelzweig S, Jing Y, Makenbaeva D, Wiederkehr D, Lin J, et al. Estimation of the impact of warfarin's time-in-therapeutic range on stroke and major bleedings rates and its influence on the medical cost avoidance associated with novel oral anticoagulant use – learnings from ARISTOTLE, ROCKET-AF, and RE-LY trials. *J Thromb Thrombolysis*. 2014; 38(2): 150-159. doi: 10.1007/s11239-013-1048-z

13. Pirmohamed M, Burnside G, Eriksson N, Jorgensen A, Toh CH, Nicholson T, et al. A randomized trial of genotype-guided dosing of warfarin. *N Engl J Med*. 2013; 369(24): 2294-2303. doi: 10.1056/NEJMoa1311386

14. Anderson JL, Horne BD, Stevens SM, Woller SC, Samuelson KM, Mansfield JW, et al. A randomized and clinical effectiveness trial comparing two pharmacogenetic algorithms and standard care for individualizing warfarin dosing (CoumaGen-II). *Circulation*. 2012; 125(16): 1997-2005. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.070920

15. Lip GYH, Laroche C, Dan G-A, Santini M, Kalarus Z, Rasmussen LH, et al. A prospective survey in European Society of Cardiology member countries of atrial fibrillation management: Baseline results of EURObservational Research Programme Atrial Fibrillation (EORP-AF) Pilot General Registry. *EP Europace*. 2014; 16(3): 308-319. doi: 10.1093/europace/eut373

16. Levine MN, Raskob G, Landefeld S, Kearon C. Hemorrhagic complication of anticoagulant treatment. *Chest*. 2001; 19(1): 108-121.

17. Сулимов В.А., Напалков Д.А., Соколова А.А., Жилинко А.В., Аникина О.С. Антикоагулянтная терапия в реальной клинической практике: данные ретроспективного одномоментного исследования. Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2015; 11(1): 116-123. doi: 10.20996/1819-6446-2015-11-2-116-123

18. Arihiro S, Todo K, Koga M, Furui E, Kinoshita N, Kimura K, et al. Three-month risk benefit profile of anticoagulation after stroke with atrial fibrillation: The SAMURAI-Nonvalvular Atrial Fibrillation (NVAF) study. *Int J Stroke*. 2016; 11(5): 565-574. doi: 10.1177/1747493016632239

19. Basaran E, Dogan V, Biteker M. et al. Guideline-adherent therapy for stroke prevention in atrial fibrillation in different health care settings: Results from RAMSES study. *Eur J Intern Med*. 2017; 40: 50-55. doi: 10.1016/j.ejim.2017.02.011

REFERENCES

1. Vavilova TV. Anticoagulants in clinical practice. *Medical Board*. 2015; 12: 44-47. (In Russ.). doi: 10.21518/2079-701X-2015-12-44-47

2. Kropacheva ES, Panchenko EP. Aspects of anticoagulant therapy in patients with atrial fibrillation in the light of updated guidelines of the European society of cardiology 2020: The position of dabigatran. *Atherothrombosis*. 2020; (2): 17-26. (In Russ.). doi: 10.21518/2307-1109-2020-2-17-26

3. Heeringa J, van der Kuip DA, Hofman A, Kors JA, van Herpen G, Stricker BHCh, et al. Prevalence, incidence and lifetime risk of atrial fibrillation: The Rotterdam study. *Eur Heart J*. 2006; 27(8): 949-953. doi: 10.1093/eurheartj/ehi825

4. Rubanenko AO, Shchukin YuV. Factors associated with thrombosis of the left atrial appendage in patients with chronic atrial fibrillation. *Klinicheskaya Medicina*. 2014; 92(11): 29-34.

5. McGrath ER, Kapral MK, Fang J, Eikelboom JW, Conghaile Aó, Canavan M, et al.; Investigators of the Ontario Stroke Registry. Association of atrial fibrillation with mortality and disability after ischemic stroke. *Neurology*. 2013; 81(9): 825-832. doi: 10.1212/WNL.0b013e3182a2cc15

6. Turgunbaev DD, Artykbaev ASh, Kadyrova N, et al. Policy study document "Analysis of the verification of stroke diagnosis in persons died at home" *Center for Health Policy Analysis*. 2014; 23. URL: www.hpac.kg. (In Russ.)

7. Kanat kyzy Bazira, Musakeev AO, Mamatov SM, Kinderbayeva NK, Kundashev UK. Anticoagulant therapy of elderly people in the medical clinical activities of family medicine centers of the Kyrgyz Republic. *Clinical gerontology*. 2020; (9-10): 3-8. doi: 10.26347/1607-2499202009-10003-008. (In Russ.)

8. Belenkov YuN, Shakaryants GA, Khabarova NV, An GV. Anticoagulant therapy in elderly patients with atrial fibrillation. *Cardiology*. 2018; 58(10): 45-52. doi: 10.18087/cardio.2018.10.10177. (In Russ.)

9. Loukianov MM, Boytsov SA, Yakushin SS, Martsevich SYu, Vorobyev AN, Zagrebelnyy AV, et al. Diagnostic, treatment, associated cardiovascular and concomitant non-cardiac diseases in patients with diagnosis of atrial fibrillation in real outpatient practice. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2014; 10(4): 366-377. (In Russ.)

10. Sokolova AA, Tsarev IL, Napalkov DA, Sulimov VA. Anticoagulant therapy in patients with atrial fibrillation: A state of the art in routine clinical practice. *Trudnyy patsient*. 2015; 7(13): 36-40. (In Russ.)

11. Sokolova AA, Zhilenko AV, Tsarev IL, Napalkov DA, Sulimov VA Practical aspects of the use of anticoagulant therapy in patients with atrial fibrillation of nonvalvular etiology: Data from the register of the university clinic. *Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal*. 2015; 9(125): 32-37. (In Russ.)

12. Amin A, Deitelzweig S, Jing Y, Makenbaeva D, Wiederkehr D, Lin J, et al. Estimation of the impact of warfarin's time-in-therapeutic range on stroke and major bleedings rates and its influence on the medical cost avoidance associated with novel oral anticoagulant use – learnings from ARISTOTLE, ROCKET-AF, and RE-LY trials. *J Thromb Thrombolysis*. 2014; 38(2): 150-159. doi: 10.1007/s11239-013-1048-z

13. Pirmohamed M, Burnside G, Eriksson N, Jorgensen A, Toh CH, Nicholson T, et al. A randomized trial of genotype-guided dosing of warfarin. *N Engl J Med*. 2013; 369(24): 2294-2303. doi: 10.1056/NEJMoa1311386

14. Anderson JL, Horne BD, Stevens SM, Woller SC, Samuelson KM, Mansfield JW, et al. A randomized and clinical effectiveness trial comparing two pharmacogenetic algorithms and standard care for individualizing warfarin dosing (CoumaGen-II). *Circulation*. 2012; 125(16): 1997-2005. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.070920

15. Lip GYH, Laroche C, Dan G-A, Santini M, Kalarus Z, Rasmussen LH, et al. A prospective survey in European Society of Cardiology member countries of atrial fibrillation management: Baseline results of EURObservational Research Programme Atrial Fibrillation (EORP-AF) Pilot General Registry. *EP Europace*. 2014; 16(3): 308-319. doi: 10.1093/europace/eut373

16. Levine MN, Raskob G, Landefeld S, Kearon C. Hemorrhagic complication of anticoagulant treatment. *Chest*. 2001; 19(1): 108-121.

17. Sulimov VA, Napalkov DA, Sokolova AA, et al. Anticoagulant therapy in real clinical practice: Data from a retrospective one-step study. *Ratsional'naya farmakoterapiya v kardiologii*. 2015; 11(1): 116-123. doi: 10.20996/1819-6446-2015-11-2-116-123. (In Russ.)

18. Arihiro S, Todo K, Koga M, Furui E, Kinoshita N, Kimura K, et al. Three-month risk benefit profile of anticoagulation after stroke with atrial fibrillation: The SAMURAI-Nonvalvular Atrial Fibrillation (NVAF) study. *Int J Stroke*. 2016; 11(5): 565-574. doi: 10.1177/1747493016632239

19. Basaran E, Dogan V, Biteker M, et al. Guideline-adherent therapy for stroke prevention in atrial fibrillation in different health care settings: Results from RAMSES study. *Eur J Intern Med*. 2017; 40: 50-55. doi: 10.1016/j.ejim.2017.02.011

Сведения об авторах

Канат кызы Базира – аспирант кафедры госпитальной терапии, профпатологии с курсом гематологии, Кыргызская государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева, e-mail: lady.bazira@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-1424-4052

Киндербаева Назгуль Кажибековна – ассистент кафедры госпитальной терапии, профпатологии с курсом гематологии, Кыргызская государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева, e-mail: kgma.gospter@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9747-0775

Турдалиев Саматбек Орозалиевич – ассистент кафедры клинической дисциплины 1-го медицинского факультета, Ошский государственный университет, e-mail: s.turdaliev@oshsu.kg, https://orcid.org/0000-0002-0836-0671

Махмудова Жылдыз Акматовна – доктор медицинских наук, доцент кафедры биохимии, Кыргызская государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева, e-mail: zhyldyz.makhmudova@yndex.com, https://orcid.org/0000-0001-5057-9215

Кундашев Улан Келгинович – доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной терапии, профпатологии с курсом гематологии, Кыргызская государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева, e-mail: kgma.gospter@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5785-4670

Маматов Сагынали Мурзаевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной терапии, профпатологии с курсом гематологии, Кыргызская государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева, e-mail: s.480077@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-8540-3252

Information about the authors

Kanat kyzy Bazira – Postgraduate, Department of Hospital Internal Medicine, Occupational Pathology with Hematology Course, I.K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy, e-mail: lady.bazira@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-1424-4052

Nazgul K. Kinderbaeva – Teaching Assistant at the Department of Hospital Therapy, Occupational Pathology with Hematology Course, I.K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy, e-mail: gospiter@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9747-0775

Samatbek O. Turdaliev – Teaching Assistant at the Department of Clinical Disciplines of the 1st Medical Faculty, Osh State University, e-mail: s.turdaliev@oshsu.kg, https://orcid.org/0000-0002-0836-0671

Zhyldyz A. Mahmudova – Dr. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Biochemistry, I.K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy, e-mail: zhyldyz.makhmudova@yndex.com, https://orcid.org/0000-0001-5057-9215

Kundashev U. Kelginovich – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Hospital Therapy, Occupational Pathology with Hematology Course, I.K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy, e-mail: gospiter@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5785-4670

Sagynali M. Mamatov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Hospital Therapy, Occupational Pathology with Hematology Course, I.K. Akhunbaev Kyrgyz State Medical Academy, e-mail: s.480077@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-8540-3252

Вклад авторов

Канат кызы Базира – сбор и обработка материала, написание текста

Киндербаева Н.К. – сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста

Турдалиев С.О. – сбор и обработка материала, статистическая обработка

Махмудова Ж.А. – концепция и дизайн исследования, статистическая обработка

Кундашев У.К. – концепция и дизайн исследования, написание текста, редактирование

Маматов С.М. – концепция и дизайн исследования, редактирование

Статья получена: 12.02.2021. Статья принята: 11.05.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 12.02.2021. Accepted: 11.05.2021. Published: 15.06.2021.

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.8

Влияние нарушений метаболизма жирных кислот, гипоксии артериальной стенки и внутрибляшечных кровоизлияний на аккумуляцию липидов в сосудах с атеросклерозом

Осипенко А.Н.

УО «Могилёвский государственный университет им. А.А. Кулешова» (212022, г. Могилёв, ул. Космонавтов, 1, Беларусь)

Автор, ответственный за переписку: Осипенко Александр Николаевич, e-mail: alosipenko@yandex.ru

Резюме

В обзоре описан ряд конкурирующих взглядов на основные причины аккумуляции холестерина в атеросклеротических сосудах. С одной стороны, нерегулируемое поступлении холестерина в артериальную интиму, прежде всего, связывается с возрастанием доли атерогенных липопротеинов в липопротеиновом спектре крови. С другой – ведущая роль в этом процессе отводится повышенной проницаемости активированного эндотелия для атерогенных липопротеинов. Возросшая способность у соединительной ткани артериальной интимы связывать атерогенные липопротеины крови также рассматривается в качестве ведущей причины отложения холестерина в сосудистой стенке. Помимо этого, ключевое значение в аккумуляции холестерина отводится нерегулируемому (по механизму отрицательной обратной связи) поглощению атерогенных липопротеинов пенистыми клетками. Выдвинуто мнение, что основной причиной обильного накопления холестерина в атеросклеротических сосудах является значительное поступление этого липида в сосудистую стенку при кровоизлияниях vasa vasorum.

В статье также представлены аргументы, согласно которым расстройство метаболизма жирных кислот в клетках артериальной стенки может инициировать начальное накопление в них нейтральных липидов, способствовать течению воспалительного процесса и негативно отразиться на механических условиях вокруг залегающих в стенках артерий vasa vasorum. Вследствие этого воздействие пульсовых волн на люминальную поверхность артерий приведёт к учащённым кровоизлияниям этих микрососудов. Одновременно адаптивно-мышечная гиперплазия интимы, развивающаяся в зонах артериального русла, подвергающихся высоким гемодинамическим нагрузкам, вызывает локальную гипоксию в сосудистой стенке. В результате клетки артериальной стенки претерпевают ещё более выраженную липидную трансформацию. Гипоксия также стимулирует васкуляризацию артериальной стенки, что способствует возникновению в ней геморрагий. С кровоизлияниями происходит проникновение в формирующуюся атеросклеротическую бляшку свободного эритроцитарного холестерина, из части которого внутри клеток артерии происходит образование эфиров холестерина. Насыщение этим липидом мембран эритроцитов в условиях гиперхолестеринемии и атерогенной дислипопротеинемии способствует процессу накопления холестерина в артериях.

Ключевые слова: *атеросклероз, гипоксия, жирные кислоты, холестерин, эритроциты, кровоизлияния*

Для цитирования: Осипенко А.Н. Влияние нарушений метаболизма жирных кислот, гипоксии артериальной стенки и внутрибляшечных кровоизлияний на аккумуляцию липидов в сосудах с атеросклерозом. *Acta biomedica scientifica.* 2021. 6(2): 70-80. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.8.

Influence of Disorders of Fatty Acid Metabolism, Arterial Wall Hypoxia, and Intraplaque Hemorrhages on Lipid Accumulation in Atherosclerotic Vessels

Osipenko A.N.

Mogilev State A. Kuleshov University (Kosmonavtov str. 1, Mogilev 212022, Belarus)

Corresponding author: Alexander N. Osipenko, e-mail: alosipenko@yandex.ru

Abstract

The review describes a number of competing views on the main causes of cholesterol accumulation in atherosclerotic vessels. On the one hand, unregulated cholesterol influx into arterial intima is primarily related to the increasing proportion of atherogenic lipoproteins in the lipoprotein spectrum of blood. On the other hand, the leading role in this process is assigned to the increased permeability of endothelium for atherogenic lipoproteins. The increased ability of arterial intima connective tissue to bind atherogenic blood lipoproteins is also considered to be the leading cause of cholesterol accumulation in the vascular wall. The key role in cholesterol accumulation is also assigned to unregulated (by a negative feedback mechanism) absorption of atherogenic lipoproteins by foam cells. It is suggested that the main cause of abundant cholesterol accumulation in atherosclerotic vessels is significant inflow of this lipid into the vascular wall during vasa vasorum hemorrhages.

The article also provides arguments, according to which disorder of fatty acid metabolism in arterial wall cells can initiate accumulation of neutral lipids in them, contribute to the inflammation and negatively affect the mechanical conditions around the vasa vasorum in the arterial walls. As a result, the impact of pulse waves on the luminal surface of the arteries will lead to frequent hemorrhages of these microvessels. At the same time, adaptive-muscular intima hyperplasia, which develops in arterial channel areas subjected to high hemodynamic loads, causes local hypoxia in a vascular wall. As a result, arterial wall cells undergo even more severe lipid transformation. Hypoxia also stimulates vascularization of the arterial wall, which contributes to hemorrhages in it. With hemorrhages, free erythrocyte cholesterol penetrates into the forming atherosclerotic plaque, a part of this cholesterol forms cholesterol esters in-

side the arterial cells. The saturation of erythrocyte membranes with this lipid in conditions of hypercholesterolemia and atherogenic dyslipoproteinemia contributes to the process of cholesterol accumulation in arteries.

Key words: *atherosclerosis, hypoxia, fatty acids, cholesterol, erythrocytes, hemorrhage*

For citation: Osipenko A.N. Influence of Disorders of Fatty Acid Metabolism, Arterial Wall Hypoxia, and Intraplaque Hemorrhages on Lipid Accumulation in Atherosclerotic Vessels. *Acta Biomedica Scientifica.* 2021. 6(2): 70-80. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.8.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на многочисленность исследований, посвящённых патогенезу атеросклероза, остаются дискуссионными основные причины обильного накопления холестерина (ХС) в артериальной стенке. Об этом, в частности, свидетельствует множественность взглядов на механизмы данной аккумуляции, а также отсутствие однозначного ответа, какой именно процесс вносит наибольший вклад в отложение ХС в артериальной стенке при атеросклерозе [1–5]. В современной научной печати в качестве основных причин, обусловливающих аккумуляцию ХС, обычно упоминается рост атерогенных липопротеинов (ЛП) в липопротеиновом спектре крови [6, 7], повышенная проницаемость эндотелия для данных ЛП [8, 9], рост связывания атерогенных ЛП внеклеточным матриксом интимы [2, 10–12], а также нерегулируемое поглощение ЛП пенистыми клетками [13]. Кроме того, установлено наличие внутрибляшечных кровоизлияний, которые, с одной стороны, рассматриваются, как фактор, способствующий дестабилизации бляшек, а с другой – как причины значительных поступлений ХС в стенку атеросклеротического сосуда в составе мембран эритроцитов [14–18]. В этой связи одной из целей данного обзора является описание основных современных взглядов на причины нерегулируемого поступления ХС в стенку сосуда при атеросклерозе с указанием ряда нерешённых в этой сфере вопросов. Особое внимание в статье уделяется аргументам в пользу участия внутрибляшечных геморрагий и свободного эритроцитарного холестерина в аккумуляции ХС в сосудах с атеросклерозом. Это обусловлено тем, что поступлению ХС с кровоизлияниями в артериальную стенку в русскоязычной научной печати практически не уделяется внимание. При этом актуальность изучения данного пути поступления ХС состоит в том, что если будет подтверждена его важная патогенетическая значимость, то это потребует, в дополнение к имеющимся подходам, предупреждения развития атеросклеротического процесса, внедрения новых, не связанных с коррекцией дислипопротеинемии, терапевтических способов сдерживания атерогенеза.

Следует также отметить, что в настоящее время нет достаточной информации о факторах, которые способствуют возникновению внутрибляшечных геморрагий. В этой связи в статье излагается взгляд на возможные причины формирования кровоизлияний в сосудах с атеросклерозом с учётом регионарного характера локализации бляшек в артериальном русле. При этом отмечается, что значительную роль в васкуляризации и формировании внутрибляшечных геморрагий может играть гипоксия артериальной стенки и особенности её липогенеза.

СОВРЕМЕННЫЕ ВЗГЛЯДЫ НА МЕХАНИЗМЫ ПОСТУПЛЕНИЯ И АККУМУЛЯЦИИ ХОЛЕСТЕРИНА В АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ АРТЕРИЯХ

Холестерин является преобладающим липидом в атеросклеротических бляшках. Обычно принято считать, что он поступает из кровотока в составе ЛП, субэндотелиальное накопление которых является ключевым моментом атерогенеза. При этом образование липидных пятен и их трансформация в бляшки, а также рост бляшек происходит благодаря инфильтрации ЛП в направлении от эндотелия к адвентиции артерий [1, 8, 9, 19]. Об этом, в частности, свидетельствует тот факт, что, несмотря на то, что макрофаги и гладкомышечные клетки (ГМК) в атеросклеротических поражениях активно накапливают ХС, значительная доля этого липида в бляшках расположена внеклеточно [2, 19].

В качестве важнейшего фактора накопления ХС в артериальной интиме рассматривается повышение проницаемости эндотелия под действием высоких гемодинамических нагрузок [8, 9]. Об этом, в частности, свидетельствует то, что из всех фракций ЛП наиболее высокой атерогенностью обладают липопротеины «а» и липопротеины низкой плотности (ЛПНП). Считается, что это связано с их способностью, благодаря небольшим размерам (18–28 нм), легко проникать через щели между эндотелиоцитами [6, 20]. Тем не менее, высокий уровень аккумулирующих значительное количество триглицеридов (ТГ) более крупных (30–80 нм) липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) также является предиктором развития сердечно-сосудистых заболеваний [6]. С другой стороны, есть мнение, что основное количество ЛП крови проникает через активированный эндотелий путём трансцитоза после связывания со специфическими рецепторами эндотелиоцитов. При этом считается, что апоВ-содержащие ЛП размером более 70 нм (хиломикроны) не могут проходить через эндотелий из-за ограничения размера трансцитотических везикул и поэтому не обладают атерогенностью [7]. И в первом и во втором вариантах развивающаяся дисфункция эндотелия рассматривается в качестве важнейшего фактора, обуславливающего нерегулируемое поступление атерогенных ЛП в интиму.

С другой стороны, в качестве главного фактора накопления липидов при атерогенезе рассматривается способность интимального слоя артерий связывать ЛП крови, при этом гиперплазия интимы активно способствует этому процессу. Об этом свидетельствует повышенное содержание ЛПНП в межклеточном пространстве артериальной интимы по сравнению с другими соединительными тканями, что обусловлено взаимодействием ЛПНП с протеогликанами, эластином и фибрином интимы. Отмечается, что накопление этих соединений в интиме идёт одновременно с отложением в ней липидов [2, 10–12].

Более традиционно в качестве лидирующей причины аккумуляции липидов в артериях считается различная по типу атерогенная дислипопротеинемия, представляющая важный фактор риска развития атеросклероза. Медикаментозная коррекция первичной или вторичной дислипопротеинемии, направленная на уменьшение содержания атерогенных ЛП в плазме крови, и как следствие снижение их инфильтрации в артериальную интиму, на сегодняшний день является приоритетным способом

сдерживания развития атеросклероза и борьбы с его осложнениями [6, 7].

В других публикациях [13] ключевое значение в отложении ХС в артериальной стенке и формировании атеросклеротических бляшек отводится образованию в стенке сосуда пенистых клеток (прежде всего макрофагального происхождения), а накопление липидов внутри этих клеток считается важнейшим событием в развитии атеросклероза. При этом аккумуляция липидов идёт, в основном, за счёт модифицированных ЛПНП, которые вызывают активацию макрофагов и, в отличие от нативных ЛПНП, захватываются благодаря скавенджер-рецепторам (в частности CD36) макрофагов. Такой захват является нерегулируемым по механизму отрицательной обратной связи, в силу чего наступает перегрузка клеток липидами. Согласно такому представлению атерогенными являются лишь модифицированные ЛП. При этом, по одному мнению, модификация ЛП происходит в плазме крови и связана с высоким содержанием и длительностью их циркуляции в кровотоке [20], согласно другой версии [7, 21] атерогенная модификация ЛП происходит в артериальной стенке. Последующая гибель потерявших подвижность пенистых клеток сопровождается высвобождением их внутриклеточного содержимого с образованием в бляшках значительных количеств внеклеточных липидов [6, 13]. Воспалительный процесс, связанный с активацией и гибелью иммунокомпетентных клеток, сопровождается продукцией различных провоспалительных цитокинов и ростовых факторов которые вызывают миграцию ГМК из медии в интиму и их дальнейшую пролиферацию, а также стимулирует атерогенную модификацию ЛП в артериальной стенке [4, 6].

Следует отметить, что ГМК в зоне атеросклеротического поражения также приобретают способность к нерегулируемому эндоцитозу ЛПНП, при этом подавляющее количество ЛП поступает в них благодаря не скавенджер-рецепторам, а путём макропиноцитоза. При атеросклерозе ГМК подвергаются фенотипической модификации от покоящихся сократительных фенотипов до пролиферативных синтетических фенотипов, что активно способствует образованию атеросклеротических бляшек. При этом они экспрессируют различные рецепторы, способствующие захвату жирных кислот (ЖК) и ХС, в результате ГМК трансформируются в миоцитарные пенистые клетки, характеризующиеся цитоплазмой, заполненной липидными каплями. В образовании этих капель в ГМК участвуют такие ферменты как диацилглицерин-О-ацилтрансфераза и ацил-КоА-холестерин-ацилтрансфераза (АХАТ), которые из ЖК и ХС образуют ТГ и эфиры холестерина (ЭХС) соответственно, что приводит к хранению этих нейтральных липидов в липидных каплях [22, 23]. Высказана мысль, что именно пролиферация ГМК является важнейшей причиной стеноза сосудов и развития атеросклеротической бляшки, а также участвует в формировании покрышки бляшки после формирования в ней ядра внеклеточных липидов [4, 24]. Существуют свидетельства того, что большая часть пенистых клеток, обнаруживаемых в атеросклеротических поражениях, происходит из подвергшихся липидной трансформации ГМК, а не из трансформированных макрофагов [22].

Следует отметить, что на начальном этапе атеросклероза пенистые клетки залегают менее глубоко, чем внеклеточные липиды [11], что говорит о том, что проникновение липидов в состав бляшки в эту фазу преимущественно происходит без их поглощения этими клетками. Изучение атеросклеротических бляшек и липидных пятен также показало, что в бляшках содержится значительно больше свободного ХС по отношению к ЭХС. Это указывает на то, что захват макрофагами ЛП и их гибель после трансформации в пенистые клетки не может быть основным источником образования внеклеточных липидов бляшки. Ещё одним свидетельством проникновения липидов в артериальную стенку минуя этап клеточного поглощения является факт более высокого процентного содержания линолеата ХС при меньшем содержании олеата ХС в бляшках в сравнении с липидными полосками. Во внеклеточных отложениях липидов бляшки при сопоставлении с внутриклеточными также отмечается более высокая доля линолеата ХС [2, 19].

Одним из спорных вопросов атеросклероза остаётся региональный характер локализации бляшек (области ветвлений, искривлений и сужений сосудов). Данное явление связывают и с особенностями перемещения ЛП в турбулентном кровотоке [9], и с влиянием гемодинамических нагрузок на эндотелий сосуда [6, 8], а также с адаптивно-мышечной гиперплазией интимы [5, 10, 12, 25].

Остаётся неясным механизм проникновения липидов через плотную фиброзную покрышку атеросклеротической бляшки. Также непонятно, почему ЛП устремляются в бляшку, а не в прилежащую к ней неизменную интиму [2]. Существует версия, что рост бляшки в основном происходит из-за накопления липидов, поступающих из прорастающих в неё *vasa vasorum* [5, 25]. При этом, по некоторым данным [11], активное проникновение макрофагов в толщу бляшки также начинается лишь после её васкуляризации. Кроме того, в крупных атеросклеротических бляшках доля ЭХС лишь в полтора раза выше доли свободного ХС, в то время как практически три четверти холестерина плазмы крови циркулирует в виде ЭХС. В отдельно взятых ЛПНП количество ЭХС превосходит содержание свободного ХС в 4–5 раз. Также в бляшках по сравнению с плазмой крови существенно меньше линолеата ХС, который в плазме является преобладающим эфиром ХС [19, 26, 27]. Эти факты, в свою очередь, ставят под сомнение утверждение о происхождении основного количества ХС бляшек в результате непосредственного проникновения атерогенных ЛП плазмы крови из просвета сосуда. Поэтому было высказано мнение, согласно которому миоцитарные пенистые клетки в покрышке ядра бляшки захватывают ЛП плазмы крови и далее в везикулах перемещают их липиды в более глубокие слои, одновременно высвобождая свободный ХС из ЭХС [2]. Проникая в клетки артерий, свободный ХС активирует АХАТ, катализирующую образование ЭХС. При этом в основном происходит образование олеата ХС. Образовавшийся ЭХС, в отличие от свободного ХС, накапливается в цитоплазме клеток в виде жировых капель [2, 26]. Такой ХС становится недоступным для липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), так как они абсорбируют свободный ХС с поверхности клеточных мембран, который после действия лецитин-холестерин-ацилтрансферазы ЛПВП превращается в ЭХС и погружается внутрь гидрофобного ядра ЛПВП.

В качестве важнейшего источника ХС рядом авторов также рассматривается проникновение с кровоизли-

яниями *vasa vasorum* липидов эритроцитарных мембран [14–18]. Так, в атеросклеротических поражениях обнаруживаются белки эритроцитов (гликофорин А, агглютиногены) и продукты распада гемоглобина (гемосидерин, различные формы железа). Также установлена взаимосвязь между активностью внутрибляшечных кровоизлияний и увеличением объёма атеросклеротической бляшки [14–18]. Показано, что содержание ХС в эритроцитах сопоставимо с содержанием ХС в плазме крови [28]. Кроме того, для мембран эритроцитов характерно высокое содержание свободного ХС (около 40 % липидов) при практическом отсутствии ЭХС [17]. При этом [26] пути метаболизма свободного ХС клетками артерий существенным образом ограничены и, в основном, заключаются в образовании его эфиров с ЖК, что способствует накоплению ХС в сосудистой стенке.

Неоваскуляризация и периодические кровоизлияния *vasa vasorum* содействуют инфильтрации иммунных клеток в атеросклеротические бляшки, стимулируя течение там хронического воспалительного процесса, который в свою очередь вызывает рост активности свободнорадикальных реакций [5, 6, 15]. Проникновение в бляшку с кровоизлияниями эритроцитарного железа объясняет рост активности процессов свободнорадикального окисления в атеросклеротических сосудах, а также способность экстрактов из бляшек вызывать перекисное окисление липидов [14, 28].

Следует отметить, что рядом российских учёных внутрибляшечные кровоизлияния также рассматриваются в качестве фактора, стимулирующего развитие атеросклеротических бляшек, при этом они отмечают, что наличие таких кровоизлияний в каротидных бляшках серьёзным образом ухудшает реактивность церебрального кровотока [29]. Данный путь поступления ХС в артериальную стенку предполагает поиск новых способов борьбы с атеросклерозом, например, перспективным может оказаться разработка новых препаратов для покрытия коронарных стентов на основе соединений, способных тормозить ангиогенез в атеросклеротической бляшке. Показано [30–32], что прогрессирование атеросклероза связано с активностью экспрессии такого важного ангиогенного агента, как фактор роста эндотелия сосудов (продуцируемого гладкомышечными клетками, макрофагами и эндотелиальными клетками).

В настоящее время нет ясности в том, поступают ли липиды в бляшку в основном из просвета сосуда или из *vasa vasorum*. Нет единства в понимании того, что является основным источником поступления ХС в атеросклеротические сосуды. Кроме того, основное внимание исследователей традиционно уделяется изучению атерогенной роли ХС и ЛП плазмы крови, в то время как значение других липидов, вероятных участников атерогенеза, является менее изученным. Тем не менее, определение участия в атеросклеротическом процессе других соединений липидной природы может позволить более полно использовать возможности коррекции нарушений метаболизма липидов в профилактике атеросклероза и его осложнений, например, путём влияния на процессы метаболизма жирных кислот. На сегодняшний день опубликовано достаточное количество работ, в том числе и российскими исследователями [33], касающихся про- и антиатерогенной роли ЖК, однако в своём большинстве они касаются диетических аспектов. При этом в настоящее время существуют доказательства наличия активного липогенеза в артериях с атеросклерозом [34, 35], который может негативно сказываться на скорости накопления липидов, а следственно (с ростом объёма клеток) и на эффективности диффузии кислорода и активности процессов васкуляризации. Это предполагает перспективность использования веществ, ингибирующих липогенную активность в артериальной стенке.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ПЛАЗМЫ КРОВИ НА ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ АРТЕРИЙ И ЗНАЧЕНИЕ РАССТРОЙСТВА МЕТАБОЛИЗМА ЖИРНЫХ КИСЛОТ В АТЕРОГЕНЕЗЕ

В настоящее время показана экспрессия липогенных генов и синтез ЖК *de novo* в клетках артерий [34, 35]. Исследования на животных [34] также позволили выяснить, что в атеросклеротических артериях синтезируется больше ЖК, чем в интактных. Отмечается, что ЖК и их производные могут напрямую влиять на свойства атеросклеротических бляшек. Например, в атеросклеротических поражениях может повышаться содержание продуктов свободнорадикального окисления арахидоновой кислоты, что способствует их нестабильности. На жирнокислотный состав атеросклеротической бляшки могут оказывать влияние диетические ЖК. Так добавка ω-3 ПНЖК к пище приводит к росту содержания этих кислот в бляшках [36, 37]. На состав ЖК состав атеросклеротической бляшки оказывают влияние особенности местного липогенеза [36–38]. Следует отметить, что распределение липидов в бляшках слабо коррелирует с липидами плазмы, что свидетельствует об активном местном метаболизме в бляшке [36], который пока изучен достаточно неполно.

Функциональная активность макрофагов также в значительной степени связана с их липидным метаболизмом, который не только обеспечивает их энергией, но и влияет на фенотип макрофагов, обуславливая их роль в воспалительном процессе [39]. Предполагается [40], что ингибирование синтеза ЖК, ограничение поглощения определённых ЖК макрофагами может оказать положительное влияние на ограничение развития воспаления в артериальной стенке и формирование атеросклероза. Есть мнение [36], что метаболизм ЖК макрофагов играет крайне важную роль в их активности. Макрофаги синтезируют ЖК, а также включают их в свои внутриклеточные липиды. При этом генетическое изменение метаболизма ЖК макрофагов влияет на атеросклероз. Функциональные свойства макрофагов зависят от количественного накопления ЖК в их клетках. Обнаружено, что поглощение макрофагами свободных жирных кислот (СЖК) плазмы крови влияет на развитие атеросклероза. Так, липопротеинлипаза, высвобождающая СЖК из триглицеридов ЛП, активно экспрессируется в макрофагах и способствует накоплению в них ЖК. Дефицит этого фермента в макрофагах снижает образование в них ЭХС и атеросклероз.

При этом скавенджер-рецептор CD36, активно участвующий в процессе трансформации макрофагов в пенистые клетки, не только позволяет этим клеткам захватывать модифицированные ЛП, но и одновременно является транслоказой жирных кислот, облегчая перемещение СЖК внутрь клетки [36]. ГМК, захватывая ЖК и ХС, дают начало значительному количеству миоцитарных

пенистых клеток, характеризующихся цитоплазмой, заполненной липидными каплями, которые преимущественно содержат ЭХС и ТГ. Образуются липидные капли во многом путём поглощения СЖК при увеличении экспрессии рецепторов и белков, связанных с метаболизмом липидов [22].

Проведённое исследование [38] показало, что состав жирных кислот общих липидов плазмы крови (практически полностью находящихся в составе ЛП [26, 27]) здоровых добровольцев, а также пациентов со стенокардией напряжения и атеросклерозом существенно отличается от соответствующего состава интактных и атеросклеротических артериальных сосудов эластического типа. Различия же в составе ЖК между сосудами с атеросклерозом и сосудами без признаков атеросклероза невелики в сравнении с различиями между составом жирных кислот всех этих сосудов и составом ЖК общих липидов плазмы крови. Состав жирных кислот богатых липидами ядер крупных атеросклеротических бляшек также в значительной мере сходен с составом ЖК фрагментов тех же сосудов, но с нормальной консистенцией и составом ЖК интактных артериальных сосудов. При этом состав этих ядер существенным образом отличается от состава ЖК общих липидов плазмы крови, как здоровых людей, так и людей с атеросклерозом. По полученным данным [38], определённое сходство наблюдается лишь между составом ЖК общих липидов плазмы крови и соответствующим составом люминальной поверхности аорты, что говорит о сближении состава ЖК интимы аорты с составом ЖК плазмы крови. Это также указывает на достаточно активное проникновение ЖК из липопротеинов плазмы крови в интиму артериальных сосудов, и отражает её способность к накоплению ЛП плазмы крови.

В целом, полученные при анализе состава ЖК результаты позволяют заключить, что влияние жирных кислот ЛП крови на состав ЖК атеросклеротических артерий и бляшек невелико. При этом состав ЖК ядер атеросклеротических бляшек, атеросклеротических и интактных сосудов эластического типа имеет существенную степень сходства с описанным в литературе составом фракции СЖК плазмы крови (обычно составляют не более 5 % ЖК плазмы крови [26, 27]) [38, 41]. По-видимому, не подвергнувшиеся окислению СЖК плазмы крови накапливаются в артериальных сосудах, используясь их клетками для синтеза структурно более сложных липидов. Аккумулирование этих липидов может влиять на формирование и рост атеросклеротической бляшки. Подтверждает такой вывод тот факт, что избыток СЖК зачастую является причиной перегрузки клеток липидами [42], а также то, что атеросклеротические бляшки накапливают не только ХС, но и ТГ [19, 35]. Кроме того, такой важный фактор риска развития атеросклероза как возраст связан с ростом содержания ТГ в артериальных сосудах [35]. Важно также упомянуть об ускоренном развитии атеросклероза при патологиях, сопровождающихся увеличением содержания СЖК в плазме крови, таких как ожирение, метаболический синдром, сахарный диабет.

В атеросклеротических бляшках при диабете также выявляется повышенное содержание СЖК, которые потенциально могут стимулировать местное воспаление. При этом бляшки пациентов с диабетом имеют более крупные некротические сердечники, являются более уязвимыми, чем аналогичные по размеру бляшки людей, не страдающих диабетом [37]. Увеличение содержания СЖК в клетках и межклеточной жидкости, учитывая их мембранодеструктивное действие, вероятно, стимулирует гибель претерпевших липидную трансформацию клеток артерий и тем самым способствует формированию ядра внеклеточных липидных отложений бляшки.

Ещё одной причиной роста содержания ЖК в сосудах при атеросклерозе может быть повышенная активность синтазы жирных кислот. Основным (около 80 %) продуктом этого фермента является пальмитиновая ($C_{16:0}$) кислота (ЖК с более короткой углеводородной цепью синтезируется при помощи этого фермента в небольших количествах [43]), из которой при участии элонгаз в организме образуются заменимые ЖК с более длиной цепью [44–47]. На фоне нормальной активности синтазы ЖК в такие кислоты путём дальнейших элонгаций превращается значительная часть пальмитиновой ($C_{16:0}$) и пальмитолеиновой ($C_{16:1}$) кислот [44, 46]. В эластических артериях (как в атеросклеротических, так и в интактных) пациентов с выраженным атеросклерозом в сравнении с пациентами без существенных атеросклеротических изменений сосудов обнаруживается повышенное содержание мононенасыщенных миристолеиновой ($C_{14:1}$) и пальмитолеиновой ($C_{16:1}$) ЖК по отношению к мононенасыщенной олеиновой ($C_{18:1}$) ЖК [38]. Это указывает на повышенную активность синтазы ЖК в артериях таких пациентов, так как образование данных ЖК происходит практически без участия элонгаз, в то время как количество образуемой олеиновой ($C_{18:1}$) кислоты определяется как активностью синтазы ЖК, так и активностью удлиняющих пальмитиновую и пальмитолеиновую кислоты элонгаз. Следует отметить [47], что повышенная активность синтазы жирных кислот и увеличенный синтез ЖК в клетках одновременно снижает в них активность процессов окисления ЖК. Кроме того, [36] синтез ЖК в макрофагах заметно увеличивается во время их активации, при этом липолиз и окисление ЖК ассоциированы с противоположным эффектом. Воспалительный ответ в макрофагах мышей снижается при дефиците синтазы ЖК. Дефицит этого фермента в макрофагах снижает накопление в них ХС и развитие атеросклероза. Важно также упомянуть [45, 47], что высокая активность синтазы ЖК отмечается в активно пролиферирующих тканях и клетках с высоким уровнем липидного обмена. При этом показано [47], что ингибирование синтазы ЖК может останавливать пролиферацию клеток и одновременно тормозить ангиогенез. Такая взаимосвязь между синтезом ЖК, ангиогенезом и клеточной пролиферацией представляется весьма интересной в аспекте поиска способов борьбы с атеросклерозом, учитывая, что формирование новых сосудов внутри атеросклеротических бляшек является одной из основных причин их дестабилизации [15, 16], а пролиферация ГМК – важной причиной стеноза сосудов [24].

Эластические артерии (как атеросклеротические, так и интактные) пациентов с выраженным атеросклерозом сосудов в сравнении аналогичными сосудами пациентов без существенных атеросклеротических изменений характеризуются повышенным содержанием мононенасыщенных ЖК по отношению к насыщенным кислотам с тем же числом атомов углерода [38]. Этот факт свидетельствует об активации 9-десатуразы в сосудах на фоне атеросклероза. Фермент катализирует [48, 49] образование мононенасыщенных кислот из соответству-

ющих насыщенных ЖК и участвует в ответе на изменение условий путём поддержания текучести клеточных мембран. Повышенная активность Δ9-десатуразы в гладкомышечных клетках артерий также может способствовать развитию атеросклероза. Свидетельствовать в пользу такого вывода могут данные [48, 49], указывающие на низкую активность Δ9-десатуразы как одну из причин увеличения окисления ЖК и ингибирования липидного синтеза в печени, бурой жировой ткани и скелетной мускулатуре мышей. Кроме того, опосредованное Δ9-десатуразой образование мононенасыщенных ЖК снижает отток ХС из макрофагов [36]. Также опубликованные ранее данные [50] свидетельствуют о низкой активности Δ9-десатуразы в организме крыс в сравнении с человеческим организмом. Можно предположить, что это одна из причин значительно более высокой устойчивости крыс к атеросклерозу. Следует также отметить, что в сравнении с человеком крысы имеют более низкую активность элонгазы Elovl6 (фермент, удлиняющий насыщенные и мононенасыщенные ЖК) [50]. При этом макрофаги мышей с нокдауном Elovl6 характеризуются пониженным накоплением ХС [36].

Показано [51], что наличие в организме достаточного количества ПНЖК подавляет экспрессию Δ9-десатуразы. Учитывая это, можно предположить, что выявленный [38] в плазме крови у пациентов с ИБС и атеросклерозом относительный дефицит ПНЖК, обусловленный снижением доли линолевой ($C_{18:2}$) ПНЖК, может служить фактором, стимулирующим экспрессию десатураз в гладкомышечных клетках. На дефицит ПНЖК указывает и увеличение при ИБС и атеросклерозе в плазме крови доли эйкозатриеновой ($C_{20:3}$) кислоты, синтез которой в организме может существенным образом повышаться в условиях недостатка эссенциальных ПНЖК. Отмечается увеличение доли этой ПНЖК и в эластических артериях пациентов с выраженным атеросклерозом [38]. Существуют данные, что ПНЖК также могут подавлять активность синтазы жирных кислот [51]. Таким образом, при атеросклерозе, по-видимому, возникают взаимосвязанные системные изменения состава ЖК в организме, затрагивающие как плазму крови, так и артериальные сосуды.

РОЛЬ ГИПОКСИИ, ВАСКУЛЯРИЗАЦИИ АРТЕРИАЛЬНОЙ СТЕНКИ И ЭРИТРОЦИТОВ В АККУМУЛЯЦИИ ХОЛЕСТЕРИНА АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИМИ БЛЯШКАМИ

Фактором, вынуждающим клетки артерий дополнительно синтезировать нейтральные липиды либо из синтезируемых ими ЖК, либо из поступающих СЖК, вместо полноценного использования этих кислот в процессах окисления, может быть дефицит кислорода. В этом случае важной причиной отложения липидов в стенке артерии может выступать возникающая в ней локальная гипоксия. Об этом свидетельствует тот факт [1], что в бляшки переходят те липидные пятна, которые находятся в зонах изначальной адаптивной мышечно-эластической гиперплазии интимы, подвергающихся значительным гемодинамическим нагрузкам. При этом причиной развития гипоксии в сосудистой стенке является её растущая потребность в кислороде на фоне снижения эффективности его диффузии в результате пролиферации интимы, а также формировании бляшки. Развитию гипоксии также содействует высокое гидродинамическое давление крови на стенку сосуда, способное вызывать снижение её кровоснабжения через *vasa vasorum*. Одновременно компенсаторной реакцией на возросшую потребность артериальной стенки в кислороде становится формирование в ней новых сосудов [5, 14, 15, 25].

Можно предположить, что увеличение доли мононенасыщенных жирных кислот при снижении доли насыщенных ЖК приводит к снижению вязкости липидов в сосудах. В свою очередь это снижение, а также увеличение объёма липидов в атеросклеротических бляшках, делает их более мягкими, что способствует дестабилизации бляшек под действием кровотока. При этом некоторыми исследователями [5, 52] сделан вывод о том, что механические условия вокруг формирующихся внутри бляшки кровеносных сосудов (склонность бляшки к деформации, гемодинамические нагрузки) способствуют их разрыву, приводя к образованию внутрибляшечных кровоизлияний. Отмечается также [14, 25] повышенная склонность новообразованных микрососудов к кровоизлияниям. Таким образом, липидная трансформация гладкомышечных клеток артерий, связанная с гипоксией и нарушением метаболизма жирных кислот, может благоприятствовать возникновению геморрагий и проникновению ХС в формирующуюся атеросклеротическую бляшку. Интересно отметить, что при мышечной дистрофии Дюшенна [53] в результате сниженной способности миоцитов окислять ЖК в мышцах отмечается не только увеличение содержания ТГ, но и рост ХС, что также может быть вызвано повышенной частотой кровоизлияний в потерявшую нормальную структуру и претерпевшую жировую трансформацию мышечную ткань. Озвученный взгляд также позволяет провести некоторую аналогию между аккумуляцией ХС в атеросклеротических бляшках и отложением этого липида в холестериновых гранулёмах. Считается [54, 55], что активное увеличение объёма последних связано с происходящими в них частыми кровоизлияниями, при этом данные гранулёмы помимо значительных количеств ХС содержат продукты распада эритроцитов.

Гипоксия артериальной стенки может объяснить характер изменения липидного состава ЛП в стенках атеросклеротических артерий. Показано, что ЛП, выделенные из атеросклеротических артерий, в отличие от плазменных, обогащены сфингомиелином (СМ). В атеросклеротических бляшках, а также в мембранах ГМК атеросклеротических артерий также отмечается увеличение содержания СМ [7, 19, 21, 56]. Наблюдаемая аккумуляция СМ, по всей видимости, является следствием повышенного фосфолиполиза. Известно [57], что активный гидролиз мембранных диацилглицерофосфолипидов способствует гипоксическому и ишемическому повреждению. При этом гипоксия в ишемизированных тканях приводит к формированию ацидоза, стимулирующего переход кальция в активную ионизированную форму [58]. Увеличение активной фракции кальция повышает активность кальций-зависимых фосфолипаз [59], при этом распад молекул СМ преимущественно осуществляется нейтральными сфингомиелиназами [60], в каталитической активности которых ионы кальция не играют значительной роли. Таким образом, повышенный кальций-зависимый фосфолиполиз может лежать в основе аккумуляции СМ в ЛП и клеточных мембранах атеросклеротической стенки. Это подтверждается данными [22, 61] о высокой активности секреторной кальций-зависимой фосфолипа-

зы A_2 (ФЛ A_2) в стенках сосудов при атеросклеротическом процессе. Считается, что эти ферменты играют существенную роль в образовании липидных капель в ГМК артериальных сосудов и формировании миоцитарных пенистых клеток, стимулируют трансформацию макрофагов в пенистые клетки, продуцируют провоспалительные липидные медиаторы, вызывают атерогенную модификацию ЛПНП [22, 61]. Гипоксия также, вероятно, является причиной повышения содержания плазмалогенных фосфолипидов (ПФЛ) в стенках атеросклеротических артерий в сравнении с интактными артериальными сосудами [62]. Как и в случае с СМ, в распаде их молекул принимают участие не кальций-зависимые ФЛ A_2, а, главным образом кальций-независимые плазмалогенные ФЛ A_2 [63]. Аккумуляция ПФЛ в атеросклеротических сосудах может способствовать дальнейшему атерогенезу, так как [63] их взаимодействие с образуемой при участии миелопероксидазы хлорноватистой кислотой приводит к образованию хлорсодержащих свободных жирных альдегидов, участвующих в воспалительном процессе в артериальной стенке.

Отсутствие существенных различий в составе ЖК между интактными и атеросклеротическими сосудами, а также существенное их отличие по этому параметру от плазмы крови [38], указывают на то, что ХС проникает в артериальную стенку преимущественно в свободной форме, не вызывая значительного изменения жирнокислотного состава артерий. Это (с учётом того, что ХС является преобладающем липидом в бляшках [8, 19]) подкрепляет мнение [14–17] о том, что основным источником ХС являются эритроциты, проникающие с кровоизлияниями в бляшку из формирующихся внутри неё сосудов. При поступлении свободного холестерина в атеросклеротическую бляшку, её клетки для этерификации ХС и его внутриклеточного хранения должны использовать преимущественно олеиновую ($C_{18:1}$) кислоту, так как она преобладает [38, 42] в составе СЖК плазмы крови и ЖК сосуда. Это объясняет высокую долю олеата ХС в бляшке в сравнении с плазмой крови [19, 27], а также несколько более высокую долю олеата ХС в клетках бляшки в сравнении с её внеклеточными холестериновыми эфирами [2, 19], среди которых может присутствовать некоторое количество ЭХС из ЛП плазмы крови. Таким образом, основное количество ЭХС атеросклеротической бляшки, по-видимому, не поступает из плазмы крови, а образуется из его свободной формы в клетках бляшки.

Взгляд на эритроцитарные мембраны как на основной источник ХС в атеросклеротические бляшки позволяет объяснить многочисленные случаи [64] развития атеросклероза у лиц без дислипидемии. При этом он не снижает роль гиперхолестеринемии как важного фактора риска развития атеросклероза, так как реализация её атерогенного эффекта может осуществляться путём влияния на содержание ХС в мембране эритроцита. Отмечается, что рост содержания ХС в мембранах эритроцитов является индикатором атерогенных нарушений. Показано наличие процессов холестеринового обмена между зрелыми эритроцитами и ЛП крови, в результате чего ХС в свободной форме поступает в состав эритроцитарных мембран. Таким образом, рост содержания ХС и ХС ЛПНП в плазме крови приводит к повышению содержания ХС в эритроцитарных мембранах [17, 64]. При внутрибляшечных кровоизлияниях обогащённые ХС эритроциты в большей степени будут способствовать отложению этого липида в артериальной стенке, активнее стимулируя развитие атеросклероза. Существует мнение [17], что содержание ХС в мембранах эритроцитов коррелирует с величиной атеросклеротических бляшек. Также есть свидетельства [18] положительной связи между риском разрыва бляшки и содержанием ХС в эритроцитах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Можно предположить, что липидная трансформация клеток в сосудистой стенке магистральных артерий, связанная с нарушением метаболизма ЖК и накоплением нейтральных липидов, ухудшает диффузию кислорода, стимулирует ангиогенез и провоспалительную активацию артериальных макрофагов, что негативно отражается на механических условиях вокруг *vasa vasorum*. В результате значительные деформации люминальной поверхности артерии, возникающие в зонах, подвергающихся высоким гемодинамическим нагрузкам, приводят к разрыву кровеносных микрососудов в артериальной стенке. Локальная гипоксия стенки артерии, возникающая в этих зонах вследствие адаптивно-мышечной гиперплазии интимы, стимулирует её васкуляризацию и усугубляет липидную трансформацию клеток, благоприятствуя возникновению геморрагий. С кровоизлияниями происходит активное проникновение в формирующуюся атеросклеротическую бляшку иммунных клеток и свободного эритроцитарного холестерина, из части которого внутри клеток бляшки происходит образование ЭХС. При этом преимущественно синтезируется олеат ХС, так как олеиновая кислота преобладает в составе ЖК артериальной стенки, а также СЖК плазмы крови. Рост содержания ХС в мембранах эритроцитов на фоне гиперхолестеринемии и атерогенной дислипопротеинемии стимулирует процесс накопления ХС в артериях при атеросклерозе.

Следует отметить, что подобный взгляд на механизмы аккумуляции липидов в сосудистой стенке в значительной степени носит теоретизированный характер и предполагает проведение дальнейших исследований для получения данных о патогенетической значимости указанных процессов в развитии атеросклероза. Необходимы исследования, направленные на выяснение вклада описанных механизмов в общую аккумуляцию липидов в сосудах с атеросклерозом. Так как нельзя сказать могут ли указанные механизмы накопления липидов быть основными или играют второстепенное значение при атеросклерозе. Не ясно на каких стадиях развития атеросклеротического процесса их роль может быть наиболее значимой. В этой связи небезосновательным может быть изучение экспрессии факторов, индуцируемых гипоксией в сосудах с развивающимся атеросклерозом и их связи с активностью местного липогенеза и продукции провоспалительных цитокинов. Требуется уточнение роли различных ферментов, участвующих в синтезе жирных кислот в накоплении липидов и процессах васкуляризации в атеросклеротической бляшке. Важно произвести достаточное количество исследований взаимного влияния накопления липидов в артериальной стенке и частоты нарушений целостности её микрососудов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. *Основы общей патологии. Часть 2. Основы патохимии*. СПб.: ЭЛБИ, 2000.

2. Guyton JR, Klemp KF. Development of the atherosclerotic core region. Chemical and ultrastructural analysis of microdissected atherosclerotic lesions from human aorta. *Arterioscler Thromb.* 1994; 14(8): 1305-1314. doi: 10.1161/01.atv.14.8.1305

3. Nguyen MT, Fernando S, Schwarz N, Tan JT, Bursill CA, Psaltis PJ. Inflammation as a therapeutic target in atherosclerosis. *J Clin Med.* 2019; 8(8): 1109. doi: 10.3390/jcm8081109

4. Wang D, Wang Z, Zhang L, Wang Y. Roles of cells from the arterial vessel wall in atherosclerosis. *Mediators Inflamm.* 2017; 2017: 8135934. doi: 10.1155/2017/8135934

5. Xu J, Lu X, Shi G-P. Vasa vasorum in atherosclerosis and clinical significance. *Int J Mol Sci.* 2015; 16(5): 11574-11608. doi: 10.3390/ijms160511574

6. Сергиенко И.В., Аншелес А.А., Кухарчук В.В. Атеросклероз и дислипидемии: современные аспекты патогенеза, диагностики и лечения. М.: ПатиСС, 2017.

7. Morita SY. Metabolism and modification of apolipoprotein B-containing lipoproteins involved in dyslipidemia and atherosclerosis. *Biol Pharm Bull.* 2016; 39(1): 1-24. doi: 10.1248/bpb.b15-00716

8. Linton MF, Yancey PG, Davies SS, Jerome WG, Linton EF, Song WL, et al. *The role of lipids and lipoproteins in atherosclerosis*. Endotext. South Dartmouth (MA): MDText.com, 2019.

9. Soulis JV, Giannoglou GD, Papaioannou V, Parcharidis GE, Louridas GE. Low-density lipoprotein concentration in the normal left coronary artery tree. *Biomed Eng Online.* 2008; 7: 26. doi: 10.1186/1475-925X-7-26

10. Boren J, Chapman MJ, Krauss RM, Packard CJ, Bentzon JF, Binder CJ, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease: pathophysiological, genetic, and therapeutic insights: A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J.* 2020; 41(24): 2313-2330. doi: 10.1093/eurheartj/ehz962

11. Bocan TM, Guyton JR. Human aortic fibrolipid lesions. Progenitor lesions for fibrous plaques, exhibiting early formation of the cholesterol-rich core. *Am J Pathol.* 1985; 120(2): 193-206.

12. Fogelstrand P, Boren J. Retention of atherogenic lipoproteins in the artery wall and its role in atherogenesis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2012; 22(1): 1-7. doi: 10.1016/j.numecd.2011.09.007

13. Bobryshev YV, Ivanova EA, Chistiakov DA, Nikiforov NG, Orekhov AN. Macrophages and their role in atherosclerosis: Pathophysiology and transcriptome analysis. *Biomed Res Int.* 2016; 2016: 9582430. doi: 10.1155/2016/9582430

14. Michel JB, Virmani R, Arbustini E, Pasterkamp G. Intraplaque haemorrhages as the trigger of plaque vulnerability. *Eur Heart J.* 2011; 32(16): 1977-1985. doi: 10.1093/eurheartj/ehr054

15. Pasterkamp G, van der Steen AF. Intraplaque hemorrhage: An imaging marker for atherosclerotic plaque destabilization? *Thromb Vasc Biol.* 2012; 32(2): 167-168. doi: 10.1161/ATVBAHA.111.241414

16. Takaya N, Yuan C, Chu B, Saam T, Polissar NL, Jarvik GP., et al. Presence of intraplaque hemorrhage stimulates progression of carotid atherosclerotic plaques: A high-resolution magnetic resonance imaging study. *Circulation.* 2005; 111(21): 2768-2775. doi: 10.1161/circulationaha.104.504167

17. Tziakas DN, Chalikias GK, Boudoulas H. Significance of the cholesterol content of erythrocyte membranes in atherosclerosis. *Clinical Lipidology.* 2010; 5(4): 449-452. doi: 10.2217/clp.10.41

18. Wu M, Zhang J, Xu Y, Wang Y, Deng F, Chen X. Correlations of total cholesterol content of erythrocyte membranes with plasma cholesterol efflux capacity. *Biomed Res*. 2017; 28(10): 4305-4310.

19. Katz SS, Shipley GG, Small DM. Physical chemistry of the lipids of human atherosclerotic lesions. Demonstration of a lesion intermediate between fatty streaks and advanced plaques. *Clin Invest*. 1976; 58(1): 200-211. doi: 10.1172/JCI108450

20. Ivanova EA, Myasoedova VA, Melnichenko AA, Grechko AV, Orekhov AN. Small dense low-density lipoprotein as biomarker for atherosclerotic diseases. *Oxid Med Cell Longev.* 2017; 2017: 1273042. doi: 10.1155/2017/1273042

21. Hurtubise J, McLellan K, Durr K, Onasanya O, Nwabuko D, Ndisang JF. The different facets of dyslipidemia and hypertension in atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2016; 18(12): 82. doi: 10.1007/s11883-016-0632-z

22. Giannotti KC, Weinert S, Viana MN, Leiguez E, Araujo TLS, Laurindo FRM, et al. A secreted phospholipase A2 induces formation of smooth muscle foam cells which transdifferentiate to macrophage-like state. *Molecules.* 2019; 24(18): 3244. doi: 10.3390/molecules24183244

23. Chellan B, Reardon CA, Getz GS, Hofmann Bowman MA. Enzymatically modified low-density lipoprotein promotes foam cell formation in smooth muscle cells via macropinocytosis and enhances receptor-mediated uptake of oxidized low-density lipoprotein. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2016; 36(6): 1101-1113. doi: 10.1161/ATVBAHA.116.307306

24. Bennett MR, Sinha S, Owens GK. Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis. *Circ Res*. 2016; 118(4): 692-702. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306361

25. Pourcet B, Staels B. Alternative macrophages in atherosclerosis: Not always protective! *J Clin Invest.* 2018; 128(3): 910-912. doi: 10.1172/JCI120123

26. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Липиды, липопротеиды и атеросклероз. СПб.: Питер Пресс, 1995.

27. Vance DE, Vance JE. (eds.) *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes*. Elsevier, 2008. doi: 10.1016/B978-0-444-53219-0.X5001-6

28. Hung KT, Berisha SZ, Ritchey BM, Santore J, Smith JD. Red blood cells play a role in reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012; 32(6): 1460-1465. doi: 10.1161/ATVBAHA.112.248971

29. Максимова А.С., Бобрикова Е.Э., Буховец И.Л., Плотников М.П., Усов В.Ю. Структура атеросклеротической бляшки как определяющий фактор цереброваскулярной реактивности при стенозирующем атеросклерозе сонных артерий. *Сибирский медицинский журнал.* 2016; 31(2): 38-43.

30. Губарева Е.Ю., Губарева И.В. Фактор роста эндотелия сосудов в качестве потенциального маркера субклинического поражения органов, опосредованного артериальной гипертонией. *Сибирский медицинский журнал.* 2019; 34(3): 40-44. doi: 10.29001/2073-8552-2019-34-3-40-44

31. Celletti FL, Waugh JM, Amabile PG, Brendolan A, Hilfiker PR, Dake MD. Vascular endothelial growth factor enhances atherosclerotic plaque progression. *Nat Med.* 2001; 7(4): 425-429. doi: 10.1038/86490

32. Inoue M, Itoh H., Ueda M, Naruko T, Kojima A, Komatsu R, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in human coronary atherosclerotic lesions: Possible pathophysiological significance of VEGF in progression of atherosclerosis. *Circulation.* 1998; 98(20): 2108-2116. doi: 10.1161/01.cir.98.20.2108

33. Таратухин Е.О. Атеросклероз и жирные кислоты: важная взаимосвязь и новое направление терапии. *Российский кардиологический журнал.* 2011; 91(5): 77-80.

34. Clair St. RW, Lofland HB, Clarkson TB. Composition and synthesis of fatty acids in atherosclerotic aortas of the pigeon. *J Lipid Res.* 1968; 9(6): 739-747.

35. Hamlat N, Forcheron F, Negazzi S, del Carmine P, Feugier P, Bricca G, et al. Lipogenesis in arterial wall and vascular smooth muscular cells: Regulation and abnormalities in insulin-resistance. *Cardiovasc Diabetol.* 2009; 8: 64. doi: 10.1186/1475-2840-8-64

36. Ménégaut L, Jalil A, Thomas C, Masson D. Macrophage fatty acid metabolism and atherosclerosis: The rise of PUFAs. *Atherosclerosis*. 2019; 291: 52-61. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.10.002

37. Ménégaut L, Masson D, Abello N, Denimal D, Truntzer C, Ducoroy P, et al. Specific enrichment of 2-arachidonoyl-lysophosphatidylcholine in carotid atheroma plaque from type 2 diabetic patients. *Atherosclerosis*. 2016; 251: 339-347. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.05.004

38. Osipenko AN. Fatty acid metabolism disorder as a factor in atherogenesis. *Rom J Diabetes Nutr Metab Dis.* 2018; 25(3): 243-252. doi: 10.2478/rjdnmd-2018-0028

39. Remmerie A, Scott CL. Macrophages and lipid metabolism. *Cellular immunology.* 2018; 330: 27-42. doi: 10.1016/j.cellimm.2018.01.020

40. Yvan-Charvet L, Ivanov S. Metabolic reprogramming of macrophages in atherosclerosis: Is it all about cholesterol? *J Lipid Atheroscler.* 2020; 9(2): 231-242. doi: 10.12997/jla.2020.9.2.231

41. Hellmuth C, Demmelmair H, Schmitt I, Peissner W, Blüher M, Koletzko B. Association between plasma nonesterified fatty acids species and adipose tissue fatty acid composition. *PLoS One.* 2013; 8(10): e74927. doi: 10.1371/journal.pone.0074927

42. Boden G. Obesity and free fatty acids (FFA). *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2008; 37(3): 635-646. doi: 10.1016/j.ecl.2008.06.007

43. Menendez JA, Vazquez-Martin A, Ortega FJ, Fernandez-Real JM. Fatty acid synthase: Association with insulin resistance, type 2 diabetes, and cancer. *Clin Chem.* 2009; 55(3): 425-438. doi: 10.1373/clinchem.2008.115352

44. Green CD, Ozguden-Akkoc CG, Wang Y, Jump DB, Olson LK. Role of fatty acid elongases in determination of de novo synthesized monounsaturated fatty acid species. *J Lipid Res.* 2010; 51(7): 1871-1877. doi: 10.1194/jlr.M004747

45. Kusakabe T, Maeda M, Hoshi N, Sugino T, Watanabe K, Fukuda T, et al. Fatty acid synthase is expressed mainly in adult hormone-sensitive cells or cells with high lipid metabolism and in proliferating fetal cells. *J Histochem Cytochem.* 2000; 48(5): 613-622. doi: 10.1177/002215540004800505

46. Yew Tan C, Virtue S, Murfitt S, Roberts LD, Phua YH, Dale M, et al. Adipose tissue fatty acid chain length and mono-unsaturation increases with obesity and insulin resistance. *Sci Rep.* 2015; 5: 18366. doi: 10.1038/srep18366

47. Bruning U, Morales-Rodriguez F, Kalucka J, Goveia J, Taverna F, Queiroz KCS, et al. Impairment of angiogenesis by fatty acid synthase inhibition involves mTOR malonylation. *Cell Metab.* 2018; 28(6): 866-880.e15. doi: 10.1016/j.cmet.2018.07.019

48. Ntambi JM, Miyazaki M, Stoehr JP, Lan H, Kendziorski C.M, Yandell BS, et al. Loss of stearoyl-CoA desaturase-1 function protects mice against adiposity. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99(17): 11482-11486. doi: 10.1073/pnas.132384699

49. Dobrzyn P, Dobrzyn A, Miyazaki M, Cohen P, Asilmaz E, Grahame Hardie D, et al. Stearoyl-CoA desaturase 1 deficiency increases fatty acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase in liver. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101(17): 6409-6414. doi: 10.1073/pnas.0401627101

50. Осипенко А.Н. Антиатерогенный характер синтеза жирных кислот у крыс – одна из возможных причин их устойчивости к атеросклерозу. *Вестник Могилевского государственного университета имени А.А. Кулешова. Сер. В, Естественные науки*. 2019; 54(2): 110-115.

51. Kersten S. Effects of fatty acids on gene expression: role of peroxisome proliferator-activated receptor α, liver X receptor α and sterol regulatory element-binding protein-1c. *Proc Nutr Soc.* 2002; 61(3): 371-374. doi: 10.1079/PNS2002169

52. Teng Z, He J, Degnan AJ, Chen S, Sadat U, Bahaei NS, et al. Critical mechanical conditions around neovessels in carotid atherosclerotic plaque may promote intraplaque hemorrhage. *Atherosclerosis.* 2012; 223(2): 321-326. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.06.015

53. Saini-Chohan HK, Mitchell RW, Vaz FM, Zelinski T, Hatch GM. Delineating the role of alterations in lipid metabolism to the pathogenesis of inherited skeletal and cardiac muscle disorders: Thematic review series: Genetics of human lipid diseases. *J Lipid Res.* 2012; 53(1): 4-27. doi: 10.1194/jlr.R012120

54. Kuruma T, Tanigawa T, Uchida Y, Tetsuya O, Ueda H. Large cholesterol granuloma of the middle ear eroding into the middle cranial fossa. *Case Rep Otolaryngol.* 2017; 2017: 4793786. doi: 10.1155/2017/4793786

55. Sun Z, Cao Y, Zhai LZ. Java brucea and Chinese herbal medicine for the treatment of cholesterol granuloma in the suprasellar and sellar regions: A case report and literature review. *Medicine (Baltimore).* 2017; 96(5): e5930. doi: 10.1097/MD.0000000000005930

56. Chen M, Mason RP, Tulenko TN. Atherosclerosis alters the composition, structure and function of arterial smooth muscle cell plasma membranes. *Biochim Biophys Acta.* 1995; 1272(2): 101-112. doi: 10.1016/0925-4439(95)00073-d

57. Wang H, Harrison-Shostak DC, Wang XF, Nieminen AL, Lemasters JJ, Herman B. Role of phospholipid catabolism in hypoxic and ischemic injury. *Journal Advances in Lipobiology.* 1997; 2: 167-194. doi: 10.1016/S1874-5245(97)80009-2

58. Hamroun A, Pekar JD, Lionet A, Ghulam A, Maboudou P, Mercier A, et al. Ionized calcium: Analytical challenges and clinical relevance. *J Lab Precis Med.* 2020; 5: 22.

59. Damron DS, Dorman RV. Calcium-dependent phospholipid catabolism and arachidonic acid mobilization in cerebral minces. *Mol Chem Neuropathol.* 1990; 12(3): 177-190. doi: 10.1007/BF03159943

60. Goñi FM, Alonso A. Sphingomyelinases: Enzymology and membrane activity. *FEBS Lett.* 2002; 531(1): 38-46. doi: 10.1016/s0014-5793(02)03482-8

61. Mallat Z, Lambeau G, Tedgui A. Lipoprotein-associated and secreted phospholipases A2 in cardiovascular disease: Roles as biological effectors and biomarkers. *Circulation*. 2010; 122(21): 2183-2200. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.936393

62. Осипенко А.Н. Плазмалогенные фосфолипиды в интактных и поражённых атеросклерозом артериях. *Вестник Могилёвского государственного университета имени А.А. Кулешова. Сер. В, Естественные науки.* 2020; 56(2): 70-78.

63. Braverman NE, Moser AB. Functions of plasmalogen lipids in health and disease. *Biochim Biophys Acta.* 2012; 1822(9): 1442-1452. doi: 10.1016/j.bbadis.2012.05.008

64. Uydu HA, Bostan M, Atak M, Yılmaz A, Demir A, Akçan B, et al. Cholesterol forms and traditional lipid profile for projection of atherogenic dyslipidemia: lipoprotein subfractions and erythrocyte membrane cholesterol. *J Membr Biol.* 2014; 247(2): 127-134. doi: 10.1007/s00232-013-9611-2

REFERENCES

1. Zaychik ASh, Churilov LP. *Fundamentals of general pathology. Part 2. Fundamentals of pathochemistry*. St. Petersburg: ELBI; 2000. (In Russ.)

2. Guyton JR, Klemp KF. Development of the atherosclerotic core region. Chemical and ultrastructural analysis of microdissected atherosclerotic lesions from human aorta. *Arterioscler Thromb.* 1994; 14(8): 1305-1314. doi: 10.1161/01.atv.14.8.1305

3. Nguyen MT, Fernando S, Schwarz N, Tan JT, Bursill CA, Psaltis PJ. Inflammation as a therapeutic target in atherosclerosis. *J Clin Med.* 2019; 8(8): 1109. doi: 10.3390/jcm8081109

4. Wang D, Wang Z, Zhang L, Wang Y. Roles of cells from the arterial vessel wall in atherosclerosis. *Mediators Inflamm.* 2017; 2017: 8135934. doi: 10.1155/2017/8135934

5. Xu J, Lu X, Shi G-P. Vasa vasorum in atherosclerosis and clinical significance. *Int J Mol Sci.* 2015; 16(5): 11574-11608. doi: 10.3390/ijms160511574

6. Sergienko IV, Ansheles AA, Kuharchuk VV. Atherosclerosis and dyslipidemia: Modern aspects of pathogenesis, diagnosis and treatment. Moscow: PatiSS; 2017.(In Russ.)

7. Morita SY. Metabolism and modification of apolipoprotein B-containing lipoproteins involved in dyslipidemia and atherosclerosis. *Biol Pharm Bull.* 2016; 39(1): 1-24. doi: 10.1248/bpb.b15-00716

8. Linton MF, Yancey PG, Davies SS, Jerome WG, Linton EF, Song WL, et al. *The role of lipids and lipoproteins in atherosclerosis*. Endotext. South Dartmouth (MA): MDText.com, 2019.

9. Soulis JV, Giannoglou GD, Papaioannou V, Parcharidis GE, Louridas GE. Low-density lipoprotein concentration in the normal left coronary artery tree. *Biomed Eng Online.* 2008; 7: 26. doi: 10.1186/1475-925X-7-26

10. Boren J, Chapman MJ, Krauss RM, Packard CJ, Bentzon JF, Binder CJ, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease: pathophysiological, genetic, and therapeutic insights: A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J*. 2020; 41(24): 2313-2330. doi: 10.1093/eurheartj/ehz962

11. Bocan TM, Guyton JR. Human aortic fibrolipid lesions. Progenitor lesions for fibrous plaques, exhibiting early formation of the cholesterol-rich core. *Am J Pathol.* 1985; 120(2): 193-206.

12. Fogelstrand P, Boren J. Retention of atherogenic lipoproteins in the artery wall and its role in atherogenesis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2012; 22(1): 1-7. doi: 10.1016/j.numecd.2011.09.007

13. Bobryshev YV, Ivanova EA, Chistiakov DA, Nikiforov NG, Orekhov AN. Macrophages and their role in atherosclerosis: Pathophysiology and transcriptome analysis. *Biomed Res Int*. 2016; 2016: 9582430. doi: 10.1155/2016/9582430

14. Michel JB, Virmani R, Arbustini E, Pasterkamp G. Intraplaque haemorrhages as the trigger of plaque vulnerability. *Eur Heart J*. 2011; 32(16): 1977-1985. doi: 10.1093/eurheartj/ehr054

15. Pasterkamp G, van der Steen AF. Intraplaque hemorrhage: An imaging marker for atherosclerotic plaque destabilization? *Thromb Vasc Biol.* 2012; 32(2): 167-168. doi: 10.1161/ATVBAHA.111.241414

16. Takaya N, Yuan C, Chu B, Saam T, Polissar NL, Jarvik GP., et al. Presence of intraplaque hemorrhage stimulates progression of carotid atherosclerotic plaques: A high-resolution magnetic resonance imaging study. *Circulation.* 2005; 111(21): 2768-2775. doi: 10.1161/circulationaha.104.504167

17. Tziakas DN, Chalikias GK, Boudoulas H. Significance of the cholesterol content of erythrocyte membranes in atherosclerosis. *Clinical Lipidology.* 2010; 5(4): 449-452. doi: 10.2217/clp.10.41

18. Wu M, Zhang J, Xu Y, Wang Y, Deng F, Chen X. Correlations of total cholesterol content of erythrocyte membranes with plasma cholesterol efflux capacity. *Biomed Res*. 2017; 28(10): 4305-4310.

19. Katz SS, Shipley GG, Small DM. Physical chemistry of the lipids of human atherosclerotic lesions. Demonstration of a lesion intermediate between fatty streaks and advanced plaques. *Clin Invest.* 1976; 58(1): 200-211. doi: 10.1172/JCI108450

20. Ivanova EA, Myasoedova VA, Melnichenko AA, Grechko AV, Orekhov AN. Small dense low-density lipoprotein as biomarker for atherosclerotic diseases. *Oxid Med Cell Longev.* 2017; 2017: 1273042. doi: 10.1155/2017/1273042

21. Hurtubise J, McLellan K, Durr K, Onasanya O, Nwabuko D, Ndisang JF. The different facets of dyslipidemia and hypertension in atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep*. 2016; 18(12): 82. doi: 10.1007/s11883-016-0632-z

22. Giannotti KC, Weinert S, Viana MN, Leiguez E, Araujo TLS, Laurindo FRM, et al. A secreted phospholipase A2 induces formation of smooth muscle foam cells which transdifferentiate to macrophage-like state. *Molecules.* 2019; 24(18): 3244. doi: 10.3390/molecules24183244

23. Chellan B, Reardon CA, Getz GS, Hofmann Bowman MA. Enzymatically modified low-density lipoprotein promotes foam cell formation in smooth muscle cells via macropinocytosis and enhances receptor-mediated uptake of oxidized low-density lipoprotein. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2016; 36(6): 1101-1113. doi: 10.1161/ATVBAHA.116.307306

24. Bennett MR, Sinha S, Owens GK. Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis. *Circ Res*. 2016; 118(4): 692-702. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306361

25. Pourcet B, Staels B. Alternative macrophages in atherosclerosis: Not always protective! *J Clin Invest.* 2018; 128(3): 910-912. doi: 10.1172/JCI120123

26. Klimov AN, Nikulcheva NG. *Lipids, lipoproteins, and atherosclerosis*. St. Petersburg: Piter Press; 1995. (In Russ.).

27. Vance DE, Vance JE. (eds.) *Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes*. Elsevier, 2008. doi: 10.1016/B978-0-444-53219-0.X5001-6

28. Hung KT, Berisha SZ, Ritchey BM, Santore J, Smith JD. Red blood cells play a role in reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012; 32(6): 1460-1465. doi: 10.1161/ATVBAHA.112.248971

29. Maximova AS, Bobrikova EE, Bukhovets IL, Plotnikov MP, Ussov WYu. The structure of atherosclerotic plaque as a defining factor of cerebrovascular reactivity in patients with carotid atherosclerosis. *The Siberian Medical Journal*. 2016; 31(2): 38-43. (In Russ.)

30. Gubareva EYu, Gubareva IV. Vascular endothelial growth factor as a potential marker of subclinical organ damage mediated by arterial hypertension. *The Siberian Medical Journal*. 2019; 34(3): 40-44. doi: 10.29001/2073-8552-2019-34-3-40-44. (In Russ.)

31. Celletti FL, Waugh JM, Amabile PG, Brendolan A, Hilfiker PR, Dake MD. Vascular endothelial growth factor enhances atherosclerotic plaque progression. *Nat Med.* 2001; 7(4): 425-429. doi: 10.1038/86490

32. Inoue M, Itoh H., Ueda M, Naruko T, Kojima A, Komatsu R, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in human coronary atherosclerotic lesions: Possible pathophysiological significance of VEGF in progression of atherosclerosis. *Circulation*. 1998; 98(20): 2108-2116. doi: 10.1161/01.cir.98.20.2108

33. Taratukhin EO. Atherosclerosis and fatty acids: Important association and new therapeutic approach. *Russian Journal of Cardiology*. 2011; 91(5): 77-80. (In Russ.)

34. Clair St. RW, Lofland HB, Clarkson TB. Composition and synthesis of fatty acids in atherosclerotic aortas of the pigeon. *J Lipid Res.* 1968; 9(6): 739-747.

35. Hamlat N, Forcheron F, Negazzi S, del Carmine P, Feugier P, Bricca G, et al. Lipogenesis in arterial wall and vascular smooth muscular cells: Regulation and abnormalities in insulin-resistance. *Cardiovasc Diabetol.* 2009; 8: 64. doi: 10.1186/1475-2840-8-64

36. Ménégaut L, Jalil A, Thomas C, Masson D. Macrophage fatty acid metabolism and atherosclerosis: The rise of PUFAs. *Atherosclerosis*. 2019; 291: 52-61. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.10.002

37. Ménégaut L, Masson D, Abello N, Denimal D, Truntzer C, Ducoroy P, et al. Specific enrichment of 2-arachidonoyl-lysophosphatidylcholine in carotid atheroma plaque from type 2 diabetic patients. *Atherosclerosis*. 2016; 251: 339-347. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.05.004

38. Osipenko AN. Fatty acid metabolism disorder as a factor in atherogenesis. *Rom J Diabetes Nutr Metab Dis.* 2018; 25(3): 243-252. doi: 10.2478/rjdnmd-2018-0028

39. Remmerie A, Scott CL. Macrophages and lipid metabolism. *Cellular immunology.* 2018; 330: 27-42. doi: 10.1016/j.cellimm.2018.01.020

40. Yvan-Charvet L, Ivanov S. Metabolic reprogramming of macrophages in atherosclerosis: Is it all about cholesterol? *J Lipid Atheroscler.* 2020; 9(2): 231-242. doi: 10.12997/jla.2020.9.2.231

41. Hellmuth C, Demmelmair H, Schmitt I, Peissner W, Blüher M, Koletzko B. Association between plasma nonesterified fatty acids species and adipose tissue fatty acid composition. *PLoS One.* 2013; 8(10): e74927. doi: 10.1371/journal.pone.0074927

42. Boden G. Obesity and free fatty acids (FFA). *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2008; 37(3): 635-646. doi: 10.1016/j.ecl.2008.06.007

43. Menendez JA, Vazquez-Martin A, Ortega FJ, Fernandez-Real JM. Fatty acid synthase: Association with insulin resistance, type 2 diabetes, and cancer. *Clin Chem.* 2009; 55(3): 425-438. doi: 10.1373/clinchem.2008.115352

44. Green CD, Ozguden-Akkoc CG, Wang Y, Jump DB, Olson LK. Role of fatty acid elongases in determination of de novo synthesized monounsaturated fatty acid species. *J Lipid Res.* 2010; 51(7): 1871-1877. doi: 10.1194/jlr.M004747

45. Kusakabe T, Maeda M, Hoshi N, Sugino T, Watanabe K, Fukuda T, et al. Fatty acid synthase is expressed mainly in adult hormone-sensitive cells or cells with high lipid metabolism and in proliferating fetal cells. *J Histochem Cytochem.* 2000; 48(5): 613-622. doi: 10.1177/002215540004800505

46. Yew Tan C, Virtue S, Murfitt S, Roberts LD, Phua YH, Dale M, et al. Adipose tissue fatty acid chain length and mono-unsaturation increases with obesity and insulin resistance. *Sci Rep.* 2015; 5: 18366. doi: 10.1038/srep18366

47. Bruning U, Morales-Rodriguez F, Kalucka J, Goveia J, Taverna F, Queiroz KCS, et al. Impairment of angiogenesis by fatty acid synthase inhibition involves mTOR malonylation. *Cell Metab.* 2018; 28(6): 866-880.e15. doi: 10.1016/j.cmet.2018.07.019

48. Ntambi JM, Miyazaki M, Stoehr JP, Lan H, Kendziorski C.M, Yandell BS, et al. Loss of stearoyl-CoA desaturase-1 function protects mice against adiposity. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99(17): 11482-11486. doi: 10.1073/pnas.132384699

49. Dobrzyn P, Dobrzyn A, Miyazaki M, Cohen P, Asilmaz E, Grahame Hardie D, et al. Stearoyl-CoA desaturase 1 deficiency

increases fatty acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase in liver. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101(17): 6409-6414. doi: 10.1073/pnas.0401627101

50. Osipenko AN. Antiatherogenic nature of fatty acid synthesis in rats is one of the possible reasons for their resistance to atherosclerosis. *The News of Mogilev State A. Kuleshov University. Series B, Natural sciences*. 2019; 54(2): 110-115. (In Russ.)

51. Kersten S. Effects of fatty acids on gene expression: role of peroxisome proliferator-activated receptor α, liver X receptor α and sterol regulatory element-binding protein-1c. *Proc Nutr Soc.* 2002; 61(3): 371-374. doi: 10.1079/PNS2002169

52. Teng Z, He J, Degnan AJ, Chen S, Sadat U, Bahaei NS, et al. Critical mechanical conditions around neovessels in carotid atherosclerotic plaque may promote intraplaque hemorrhage. *Atherosclerosis.* 2012; 223(2): 321-326. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.06.015

53. Saini-Chohan HK, Mitchell RW, Vaz FM, Zelinski T, Hatch GM. Delineating the role of alterations in lipid metabolism to the pathogenesis of inherited skeletal and cardiac muscle disorders: Thematic review series: Genetics of human lipid diseases. *J Lipid Res.* 2012; 53(1): 4-27. doi: 10.1194/jlr.R012120

54. Kuruma T, Tanigawa T, Uchida Y, Tetsuya O, Ueda H. Large cholesterol granuloma of the middle ear eroding into the middle cranial fossa. *Case Rep Otolaryngol.* 2017; 2017: 4793786. doi: 10.1155/2017/4793786

55. Sun Z, Cao Y, Zhai LZ. Java brucea and Chinese herbal medicine for the treatment of cholesterol granuloma in the suprasellar and sellar regions: A case report and literature review. *Medicine (Baltimore).* 2017; 96(5): e5930. doi: 10.1097/MD.0000000000005930

56. Chen M, Mason RP, Tulenko TN. Atherosclerosis alters the composition, structure and function of arterial smooth muscle cell plasma membranes. *Biochim Biophys Acta.* 1995; 1272(2): 101-112. doi: 10.1016/0925-4439(95)00073-d

57. Wang H, Harrison-Shostak DC, Wang XF, Nieminen AL, Lemasters JJ, Herman B. Role of phospholipid catabolism in hypoxic and ischemic injury. *Journal Advances in Lipobiology.* 1997; 2: 167-194. doi: 10.1016/S1874-5245(97)80009-2

58. Hamroun A, Pekar JD, Lionet A, Ghulam A, Maboudou P, Mercier A, et al. Ionized calcium: Analytical challenges and clinical relevance. *J Lab Precis Med.* 2020; 5: 22.

59. Damron DS, Dorman RV. Calcium-dependent phospholipid catabolism and arachidonic acid mobilization in cerebral minces. *Mol Chem Neuropathol.* 1990; 12(3): 177-190. doi: 10.1007/BF03159943

60. Goñi FM, Alonso A. Sphingomyelinases: Enzymology and membrane activity. *FEBS Lett.* 2002; 531(1): 38-46. doi: 10.1016/s0014-5793(02)03482-8

61. Mallat Z, Lambeau G, Tedgui A. Lipoprotein-associated and secreted phospholipases A2 in cardiovascular disease: Roles as biological effectors and biomarkers. *Circulation*. 2010; 122(21): 2183-2200. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.936393

62. Osipenko AN. Plasmalogens in intact and atherosclerotic arteries. *The News of Mogilev State A. Kuleshov University. Series B, Natural sciences*. 2020; 56(2): 70-78. (In Russ.)

63. Braverman NE, Moser AB. Functions of plasmalogen lipids in health and disease. *Biochim Biophys Acta.* 2012; 1822(9): 1442-1452. doi: 10.1016/j.bbadis.2012.05.008

64. Uydu HA, Bostan M, Atak M, Yılmaz A, Demir A, Akçan B, et al. Cholesterol forms and traditional lipid profile for projection of atherogenic dyslipidemia: lipoprotein subfractions and erythrocyte membrane cholesterol. *J Membr Biol.* 2014; 247(2): 127-134. doi: 10.1007/s00232-013-9611-2

Сведения об авторе

Осипенко Александр Николаевич – заведующий Центральной учебно-исследовательской лабораторией, УО «Могилёвский государственный университет имени А.А. Кулешова», e-mail: alosipenko@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-8836-8990

Information about the author

Alexander N. Osipenko – Head of the Central Educational and Research Laboratory, Mogilev State A. Kuleshov University, e-mail: alosipenko@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-8836-8990

Статья получена: 05.02.2021. Статья принята: 07.05.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 05.02.2021. Accepted: 07.05.2021. Published: 15.06.2021.

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.9

Факторы риска тромботических осложнений и антитромботическая терапия кардиохирургических пациентов детского возраста

Карахалис Н.Б. [1, 2], **Карахалис М.Н.** [1]

[1] ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России (350063, г. Краснодар, ул. Митрофана Седина, 4, Россия); [2] ГБУЗ «Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского» (350086, г. Иркутск, ул. 1 Мая, 167, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Карахалис Николай Борисович, e-mail: karakhalis@mail.ru

Резюме

Современное развитие кардиохирургической помощи пациентам детского и неонатального возраста претерпевает стремительный рост. Выполняемые сложные этапные реконструктивные вмешательства, частое использование инвазивного мониторинга сопряжены с высоким риском развития венозных и артериальных тромбозов.

Кардиохирургический пациент является по-своему уникальным, поскольку требует контролируемой антикоагуляции во время искусственного кровообращения. И конечно же большинство кардиохирургических пациентов предполагает антитромботическое сопровождение на протяжении всего периоперационного периода. Помимо медикаментозной поддержки оправданным считается реализация мер по управлению сосудистым доступом с целью минимизации рисков тромбоэмболических осложнений, которые могут оказывать влияние как на функциональный статус пациентов, так и на общую и межстадийную летальность.

Целью *настоящего обзора явилась систематизация имеющихся данных о факторах риска, способствующих развитию тромботических осложнений у пациентов с врождёнными пороками сердца.*

Информационный поиск проводился с использованием Интернет-ресурсов (PubMed, Web of Science, eLibrary.ru); в анализ были включены литературные источники за период 2015–2020 гг. По результатам проведённого анализа литературных данных были описаны возраст-ассоциированные особенности системы гемостаза у пациентов с врождёнными пороками сердца, и связанные с патофизиологией дефектов и выполняемых реконструктивных вмешательств. Освещены вопросы патофизиологии универтрикулярных врождённых пороков сердца и сопряжённые с ними факторы риска развития тромбоза. Кроме того, обсуждаются аспекты интраоперационного антитромботического сопровождения, а также меры по профилактике тромбоэмболических осложнений в данной популяции пациентов.

Координированные действия гематологов, кардиологов, анестезиологов и кардиохирургов позволят достичь тонкого баланса между рисками кровотечения и тромбоза в популяции пациентов детского возраста, подвергаемых сердечно-сосудистым вмешательствам.

***Ключевые слова*:** *врождённые пороки сердца; детская кардиохирургия; коагуляция; тромбоз*

Для цитирования: Карахалис Н.Б., Карахалис М.Н. Факторы риска тромботических осложнений и антитромботическая терапия кардиохирургических пациентов детского возраста. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 81-91. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.9.

Risk Factors of Thrombotic Complications and Antithrombotic Therapy in Paediatric Cardiosurgical Patients

Karakhalis N.B. [1, 2], **Karakhalis M.N.** [1]

[1] Kuban State Medical University (Mitrofana Sedina str. 4, Krasnodar 350063, Russian Federation); [2] Scientific Research Institute – Ochapovsky Regional Clinical Hospital N 1 (1 Maya str. 167, Krasnodar 350086, Russian Federation)

Corresponding author: Karakhalis N.B., e-mail: karakhalis@mail.ru

Abstract

The development of cardiosurgical care for paediatric and neonatal patients is undergoing the rapid growth. Complex, multi-stage reconstructive operations and the use of invasive monitoring are associated with high risk of venous and arterial thrombosis.

The cardiac surgery patient is inherently unique, since it requires controlled anticoagulation during cardiopulmonary bypass. Moreover, the most cardiovascular pediatric patients require antithrombotic measures over the perioperative period. In addition to medication support with the use of various groups of antithrombotic agents, vascular access management is justified in order to minimize the risk of thromboembolic complications, which can affect both the functional status, and common and inter-stage mortality.

The purpose *of this review was to systematize the available data on risk factors contributing to the development of thrombotic complications in patients with congenital heart disease.*

An information search was carried out using Internet resources (PubMed, Web of Science, eLibrary.ru); literature sources for period 2015–2020 were analysed. As a result of the analysis of the literature data age-dependent features of the haemostatic system, and associated with the defect pathophysiology, and undergone reconstructive interventions were described. The issues of pathophysiology of univentricular heart defects and risk factors associated with thrombosis were also covered.

Moreover, aspects of intraoperative anti-thrombotic support are discussed, as well as measures to prevent thromboembolic complications in this population.

Coordinated actions of haematologists, cardiologists, anaesthesiologists, intensivists, and cardiac surgeons will allow achieving a fine balance between risks of bleeding and thrombosis in the population of paediatric patients undergoing cardiovascular surgery.

Key words: *congenital heart disease; paediatric cardiac surgery; coagulation; thrombosis*

For citation: Karakhalis N.B., Karakhalis M.N. Risk Factors of Thrombotic Complications and Antithrombotic Therapy in Paediatric Cardiosurgical Patients. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 81-91. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.9.

ВВЕДЕНИЕ

Заболевания сердечно-сосудистой системы являются одной из ведущих причин заболеваемости и смертности как среди взрослых, так и пациентов детского и неонатального возраста. Согласно недавнему систематическому обзору и метаанализу [1], включавшему 260 исследований за период с 1970 по 2017 г., распространённость врождённых пороков сердца составляет 9,41 на 1000 живорождённых. Известно, что пациенты с врождёнными пороками сердца находятся в зоне высокого риска развития тромбоза. Современное развитие детской кардиохирургии и интервенционной кардиологии ассоциируется с частым использованием инвазивного мониторинга, применением различных внутрисосудистых устройств. Кроме того, установлено, что многие структурные аномалии могут приводить к изменениям реологии крови, снижению концентрации естественных антикоагулянтов как результат печёночной дисфункции на фоне сердечной недостаточности, что способствует формированию гиперкоагуляционного статуса. И, наконец, многочисленные реконструктивные операции, предполагают применение искусственного кровообращения, что требует управляемой антикоагуляции и частого использования компонентов крови. И конечно же у большинства сердечно-сосудистых пациентов оправдано антитромботическое сопровождение на протяжении всего периоперационного периода. При этом доля кардиохирургических вмешательств, выполненных в младенчестве, достаточно высока. Так, по данным S.M. Gilboa et al. (2016), только в США приблизительно 10 000 из 40 000 детей, рождённых с сердечными аномалиями, ежегодно подвергаются различным вмешательствам на первом году жизни [2].

Настоящий обзор идентифицирует факторы, способствующие риску развития тромбоза у пациентов с врождёнными пороками сердца, включая возраст-ассоциированные особенности системы гемостаза и сопряжённые как с патофизиологией порока, так и выполняемых реконструктивных операций. Кроме того, обсуждаются меры по профилактике тромбоэмболических осложнений в этой популяции пациентов.

ВОЗРАСТ-АССОЦИИРОВАННЫЕ ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОВ С ВРОЖДЁННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА

Система гемостаза у детей физиологически отлична от таковой у взрослых. Именно во младенчестве гемостазиологический профиль характеризуется функциональной незрелостью, что требует интегрального подхода в выборе антитромботической терапии, основанной на возраст-ассоциированных стандартах [3–5]. Новорождённые и младенцы имеют сниженные концентрации как прокоагулянтов, так и естественных антикоагулянтов. Известно, что для новорождённых характерны сниженная активность антитромбина и других прокоагулянтов (II, VII, IX и X факторов), равно как и компонентов контактной системы (XI, XII факторов, прекалликреина, а также высокомолекулярного кининогена) [5, 6] (табл. 1). При этом уровень факторов системы гемостаза достигает взрослых значений к возрасту 12 месяцев.

Нарушенная активность системы фибринолиза у новорождённых связывается с повышенной концентрацией ингибитора активатора плазминогена, что отчасти может объяснять высокую частоту тромбоэмболических событий, связанных с использованием катетеров в этой возрастной группе больных [7, 8].

ФАКТОРЫ РИСКА ВЕНОЗНОГО ТРОМБОЭМБОЛИЗМА У ПАЦИЕНТОВ С ВРОЖДЁННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА

Помимо кардиохирургических вмешательств как таковых, реализация которых сопряжена с управляемой антикоагуляцией на протяжении всего периоперационного периода и высоким риском развития тромбозов, пациенты с врождёнными аномалиями сердечно-сосудистой системы характеризуются дополнительными факторами риска. Наиболее распространённый из них – необходимость использования центрального венозного катетера и других внутрисосудистых устройств. Действительно, основным триггером тромбозов является травма сосудистой стенки. Около 90 % тромбозов ассоциировано с венозной и/или артериальной катетеризацией.

Так, при проведении зондирования полостей сердца и сосудов, широко используемом у пациентов с ВПС как для диагностических, так и для лечебных целей, доступом выбора являются бедренные сосуды. Частота венозных тромбозов, согласно опубликованным данным, варьирует от 0 до 27 %, а распространённость тромботической окклюзии бедренной артерии составляет 0,6–9,6 % [9, 10]. Факторы риска тромбозов сопряжены с малым весом и возрастом пациентов, несоответствием диаметра сосуда размеру устанавливаемого катетера, длительностью манипуляции, а также необходимостью повторных вмешательств.

Кроме того, к предрасполагающим факторам относятся недоношенность, перенесённая перинатальная асфиксия, а также гестационный сахарный диабет и наследственные нарушения системы гемостаза [11, 12]. При этом необходимо заметить, что пик тромбоэмболических событий приходится на возраст младше года с особенной клинической значимостью в отношении неонатальных пациентов [13–15].

Выполнение повторных катетеризаций, несомненно, повышает риск развития внутрисосудистого тромбоза в системе верхней и нижней полой вены. Недавним систематическим обзором было показано, что среднее время наступления тромбоэмболических событий составляет 9 дней. При этом кардио-торакальные вмешательства сопровождались самой высокой частотой тромбоэмболизма (0,72 % в популяции). Летальность в группе больных с тромбоэмболическими событиями была значительно выше – 1,2 % vs 0,2 % [16]. К другим

Таблица 1

Возраст-зависимые особенности системы гемостаза по M.D. Williams et al. с изменениями [6]

Table 1

Age-dependent features of the hemostasis system by M.D. Williams et al. with changes [6]

Показатель	1-й день	5-й день	30 дней	90 дней	180 дней	Взрослые
Факторы коагуляции						
FG, г/л	2,83 ± 0,58	3,12 ± 0,75	2,7 ± 0,54	2,43 ± 0,68	2,51 ± 0,68	2,78 ± 0,61
II, Ед./мл	0,48 ± 0,11	0,63 ± 0,15	0,68 ± 0,17	0,75 ± 0,15	0,88 ± 0,14	1,08 ± 0,19
V, Ед./мл	0,72 ± 0,18	0,95 ± 0,25	0,98 ± 0,18	0,90 ± 0,21	0,91 ± 0,18	1,06 ± 0,22
VII, Ед./мл	0,66 ± 0,19	0,89 ± 0,27	0,90 ± 0,24	0,91 ± 0,26	0,87 ± 0,20	1,05 ± 0,19
VIII, Ед./мл	1,00 ± 0,39	0,88 ± 0,33	0,91 ± 0,33	0,79 ± 0,23	0,73 ± 0,18	0,99 ± 0,25
VW, Ед./мл	1,53 ± 0,67	1,40 ± 0,57	1,28 ± 0,59	1,18 ± 0,44	1,07 ± 0,45	0,92 ± 0,33
IX, Ед./мл	0,53 ± 0,19	0,53 ± 0,19	0,51 ± 0,15	0,67 ± 0,23	0,86 ± 0,25	1,09 ± 0,27
X, Ед./мл	0,40 ± 0,14	0,49 ± 0,15	0,59 ± 0,14	0,71 ± 0,18	0,78 ± 0,20	1,06 ± 0,23
XI, Ед./мл	0,38 ± 0,14	0,55 ± 0,16	0,53 ± 0,13	0,69 ± 0,14	0,86 ± 0,24	0,97 ± 0,15
XII, Ед./мл	0,53 ± 0,20	0,47 ± 0,18	0,49 ± 0,16	0,67 ± 0,21	0,77 ± 0,19	1,08 ± 0,28
PK, Ед./мл	0,37 ± 0,16	0,48 ± 0,14	0,57 ± 0,17	0,73 ± 0,16	0,86 ± 0,15	1,12 ± 0,25
HMWK, Ед./мл	0,54 ± 0,24	0,74 ± 0,28	0,77 ± 0,22	0,82 ± 0,32	0,82 ± 0,23	0,92 ± 0,22
XIIIa, Ед./мл	0,79 ± 0,26	0,94 ± 0,25	0,93 ± 0,27	1,04 ± 0,34	1,04 ± 0,29	1,05 ± 0,25
XIIIb, Ед./мл	0,76 ± 0,23	1,06 ± 0,37	1,11 ± 0,35	1,16 ± 0,34	1,10 ± 0,30	0,97 ± 0,20
Физиологические коагулянты						
AT, г/л	0,63 ± 0,12	0,67 ± 0,13	0,78 ± 0,15	0,97 ± 0,12	1,04 ± 0,10	1,05 ± 0,13
α2-MG, г/л	1,39 ± 0,22	1,48 ± 0,25	1,50 ± 0,22	1,76 ± 0,25	1,91 ± 0,21	0,86 ± 0,17
α1-AT, г/л	0,93 ± 0,22	0,89 ± 0,20	0,62 ± 0,13	0,72 ± 0,15	0,77 ± 0,15	0,93 ± 0,19
Protein C	0,35 ± 0,09	0,42 ± 0,11	0,43 ± 0,11	0,54 ± 0,13	0,59 ± 0,11	0,96 ± 0,16
Protein S	0,36 ± 0,12	0,50 ± 0,14	0,63 ± 0,15	0,86 ± 0,16	0,87 ± 0,16	0,92 ± 0,16
Фибринолитическая система						
PG, Ед./мл	1,95 (1,25–2,65)	2,17 (1,41–2,93)	1,98 (1,26–2,70)	2,48 (1,74–3,22)	3,01 (2,21–3,81)	3,36 (2,48–4,24)
α2-AP, Ед./мл	0,85 (0,55–1,55)	1,0 (0,70–1,30)	1,0 (0,76–1,40)	1,08 (0,76–1,40)	1,11 (0,83–1,39	1,02 (0,63–1,3)
tPA, нг/мл	9,6 (5,0–18,9)	5,6 (4,0–10,0)	4,1 (1,0–6,0)	2,1 (1,0–5,0	2,8 (1,0–6,0)	4,9 (1,4–8,4)
PAI, Ед./мл	6,4 (2,0–15,1)	2,3 (0,0–8,1)	3,4 (0,0–8,8)	7,2 (1,0–15,3)	8,1 (6,0–13,0)	3,6 (0,0–11,0)

Примечание. FG – фибриноген; VW – фактор фон Виллебранда; PK – прекалликреин; HMWK – высокомолекулярный кининоген (high molecular weight kininogen); AT – антитромбин; α2-MG – α2-макроглобулин; α1-AT – α1-антитромбин; PG – плазминоген; α2-AP – α2-антиплазмин; PAI – ингибитор активатора плазминогена; tPA – тканевой активатор плазминогена.

факторам риска относят высокий функциональный класс по ASA (≥ 3), периоперационный сепсис, длительность респираторной поддержки, парентеральное питание, терапию стероидами, периоперационную трансфузионную терапию, гематологические нарушения, длительность хирургического вмешательства и возраст. Сниженный ответ на профилактическое назначение аспирина также рассматривается как независимый предиктор венозного тромбоэмболизма [17, 18].

Врождённые сердечные аномалии могут также сопровождаться тромбоцитопенией, которая зачастую носит многофакторный характер. Прежде всего, тромбоцитопения в популяции таких пациентов обусловлена хронической гипоксемией, подавляющей продукцию тромбоцитов, а также повышенной их деструкцией в условиях физиологии системно-лёгочного анастомоза и прочих паллиаций [19]. Есть сообщения о тромбоцитарных нарушениях при ВПС, сопровождающихся систолической дисфункцией [20]. И, наконец, некоторые врождённые пороки сердца могут сочетаться с другими генетическими нарушениями, ассоциированными с тромбоцитарными аномалиями. Так, например, пациенты с синдромом Нунан, делецией 22q11.2 (синдром Ди Джорджи), и делецией 11q24.1 (синдром Якобсена) имеют как количественные, так и качественные тромбоцитарные нарушения, что в значительной степени повышает риски кровотечения [21, 22].

УНИВЕНТРИКУЛЯРНЫЕ ВПС И ФАКТОРЫ РИСКА ТРОМБОЗА

Среди пациентов с физиологией единственного желудочка выделяют дополнительные факторы риска тромбоэмболических осложнений, к которым относят исходную сниженную контрактильность, длительность искусственного кровообращения, сниженный уровень антитромбина, а также повышенный уровень тканевого активатора плазминогена (tPA) [17]. Более того, возраст-ассоциированные особенности системы гемостаза, равно как и нарушенный гемодинамический профиль у пациентов высокого риска, особенно после универтрикулярных паллиаций, могут влиять на фармакокинетику и фармакодинамику антитромботических препаратов,

что предполагает особый подход к режиму дозирования этих средств [23–25].

Системно-лёгочный анастомоз (шунт Блэлока – Тауссига) – одна из наиболее распространённых операций у новорождённых с физиологией единственного желудочка, цель которой увеличить лёгочный кровоток. В то же время в зоне анастомоза формируются участки со сниженным/турбулентным кровотоком что в результате повышает риск развития тромбоза. Необходимо заметить, что полная обструкция шунта приводит к значительному снижению лёгочного кровотока и предполагает экстренную ревизию и тромбэктомию. Частота тромботической окклюзии шунта варьирует от 1 до 17 %. Основные факторы риска включают малый размер шунта, возраст младше 14 суток, а также выполнение анастомоза в условиях искусственного кровообращения [26, 27]. Функционирование модифицированного шунта Блэлока – Тауссига может приводить к снижению диастолического давления, что способствует диастолическому обкрадыванию коронарного кровотока. Другим источником лёгочного кровотока может быть шунт Сано, предложенный как альтернатива модифицированного шунта Блэлока – Тауссига в 2003 г. В недавнем систематическом обзоре (2016) сообщалось о более высоком риске тромботических осложнений при шунте Сано в сравнении с модифицированным шунтом Блэлока – Тауссига и гибридными операциями. Ведение пациентов с шунтом Сано сопряжено с более лёгким управлением и лучшими отдалёнными результатами [28, 29]. Безусловно, недостаток стандартов стратегии тромбопрофилактики вследствие слабой доказательной базы делает трудным ведение данных пациентов.

Вторым этапом в череде паллиативных вмешательств среди пациентов с физиологией единственного желудочка является двунаправленный анастомоз Глена. Это анастомоз между верхней полой веной и правой лёгочной артерией. Тромбоэмболические осложнения у этой категории больных чреваты повышением лёгочно-сосудистого сопротивления, что делает невозможным выполнение дальнейших реконструктивных вмешательств. Тромбоэмболические осложнения после операции Глена не частые [30]. Однако некоторыми исследователями сообщалось об относительно высокой распространённости таких осложнений от 0 до 12,5 % [31].

Заключительным этапом гемодинамической коррекции у пациентов с физиологией единственного желудочка является операция Фонтена. Цель этой операции – направить кровь из нижней полой вены в лёгочную артерию. Операция Фонтена претерпела множество модификаций, хотя анастомоз между нижней полой веной и лёгочной артерией остался неизменен. Пациенты, подвергнутые процедуре Фонтена, также находятся в зоне высокого риска тромбоэмболических событий, частота которых варьирует от 3 до 20 % с летальностью до 38 %. К факторам риска относят пассивный кровоток, хроническую венозную гипертензию и суправентрикулярные нарушения ритма сердца. Тромбоэмболические осложнения после операции Фонтена связаны с тромбозом кондуита, что может приводить к локальной обструкции или эмболии лёгочной артерии через фенестрацию. Более того, тромбы могут быть причиной эмболии системного кровотока, приводящей к инсульту и прочим ишемическим осложнениям [32, 33]. Для пациентов, подвергнутых операции Фонтена, характерен повышенный уровень фактора VIII в ответ на повышенное печёночное и системное венозное давление, что, несомненно, способствует повышенному риску венозного тромбоэмболизма [19]. Другим потенциальным фактором риска тромботических осложнений у пациентов с физиологией Фонтена являются активированные вследствие эндотелиальной дисфункции и турбулентного кровотока тромбоциты [34].

АНТИФИБРИНОЛИТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ

Группа антифибринолитических средств (апротинин, транексамовая кислота, ε-аминокапроновая кислота), рутинно назначаемых перед началом искусственного кровообращения, снижает риск кровотечений посредством подавления конверсии плазминогена. При этом необходимо отметить, что использование антифибринолитических средств сопряжено с большим количеством побочных эффектов. Так, наиболее эффективный антифибринолитический препарат апротинин характеризуется наибольшим количеством осложнений и повышенной летальностью. Некоторыми исследователями установлено, что использование апротинина в популяции взрослых кардиохирургических пациентов было ассоциировано с повышенным риском инфаркта миокарда, инсульта, почечной недостаточности и смертности по сравнению с другими антифибринолитиками [35, 36]. Несколькими ретроспективными исследованиями, оценивающими распространённость послеоперационной почечной недостаточности и смертности у новорождённых и детей, не было продемонстрировано достоверного повышения летальности или почечной дисфункции среди пациентов, подвергнутых кардиохирургической коррекции [37].

Согласно недавнему систематическому обзору D. Taroni et al. (2019) есть указания, что использование транексамовой кислоты сопровождалось регистрацией судорожной активности, что может являться ограничением её использования у детей в режиме высоких доз [38]. Применение ε-аминокапроновой кислоты (ε-АКК) сопровождается наименьшим числом побочных эффектов [39, 40]. Согласно опубликованным данным, оптимальная доза транексамовой кислоты может варьировать между 10–100 мг/кг с нагрузочной дозой 10–100 мг/кг [41]. Для пациентов с почечной дисфункцией рекомендованы более низкие дозы [42]. Так, по данным фармакокинетического исследования M.C. Wesley et al., для поддержания концентрации 60 мкг/мл для новорождённых и младенцев использовалась нагрузочная доза 50 мг/кг с последующей инфузией 7 мг/кг/ч, а для детей старше 12 месяцев нагрузочная доза составляла 13 мг/кг с последующей инфузией 5,5 мг/кг/ч [43].

Фармакокинетика другого фибринолитического препарата ε-АКК была оценена M.P. Eaton et al. Авторами рекомендовано использование нагрузочной дозы 40 мг/кг с последующей инфузией 30 мг/кг/ч [44].

ПРОФИЛАКТИКА ВЕНОЗНОГО ТРОМБОЭМБОЛИЗМА У ПАЦИЕНТОВ С ВРОЖДЁННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА

Пациенты с врождёнными пороками сердца находятся в зоне высокого риска развития тромбоза и тромбоэмболических осложнений. Среди мер по профилактике осложнений оправданным считается использование ультразвуковой навигации при обеспечении сосудистого до-

ступа [45]. Чрезвычайно важным условием является соответствие размера катетера диаметру сосуда. Несомненно, замедленный кровоток с зонами застоя в значительной мере повышают риск развития тромбоза. И наиболее важным аспектом является своевременное удаление неиспользуемых катетеров и линий мониторинга [14].

С целью первичной профилактики назначаются различные антитромботические средства, включающие низкомолекулярные гепарины, антагонисты витамина К, антитромбоцитарные препараты. Как правило, режим дозирования для этих препаратов заимствован из взрослых рекомендаций, либо подбирается эмпирически [15, 23, 46]. При этом использование антитромботических средств в популяции пациентов раннего детского и неонатального возраста сопровождается большим количеством особенностей. Высокая распространённость сопутствующих коагуляционных нарушений, равно как и различия в фармакокинетике антитромботических средств, влияют на клиническую эффективность антитромботических препаратов среди детей с ВПС [47]. Более того, отсутствие соответствующих детских лекарственных форм, как например антагонистов витамина К и низкомолекулярных гепаринов, представляет собой сложности в определении корректного дозирования этих препаратов.

АНТИТРОМБОЦИТАРНЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Аспирин является наиболее широко используемым антитромбоцитарным препаратом, назначаемым в качестве длительной терапии пациентам после наложения системно-лёгочного анастомоза. Кроме того, аспирин может рассматриваться как препарат первичной профилактики у пациентов после операции Фонтена [23]. Дозы назначаемого аспирина экстраполированы из взрослых рекомендаций и составляют обычно 1–5 мг/кг ежедневно; длительность терапии также варьирует. В ряде случаев, когда установлена непереносимость, либо резистентность к аспирину предполагается проведение детального анализа коагуляционного профиля и коррекции терапии [48, 49]. На сегодняшний день доступные методы оценки реактивности тромбоцитов (Multiplate®, VerifyNow®) позволяют установить адекватный ответ на назначаемый антитромбоцитарный препарат и определить соответствующий режим дозирования среди пациентов детского возраста с высоким риском развития тромбоза [18].

Согласно недавнему плацебо-контролируемому исследованию, клопидогрел, всё чаще и чаще используемый в педиатрической популяции, не продемонстрировал клинической эффективности в отношении снижения как шунт-ассоциированной, так и общей летальности среди пациентов высокого риска с ВПС [50, 51].

АНТИКОАГУЛЯНТНАЯ ТЕРАПИЯ

К антикоагулянтам, наиболее часто используемым у пациентов, подвергнутых кардиохирургической коррекции, относятся нефракционированный гепарин и антагонисты витамина К. Нефракционированный гепарин остаётся антикоагулянтом выбора в силу его эффективности, скорости наступления эффекта, возможности простой инактивации и низкой стоимости. Нефракционированный гепарин оказывает прямое антикоагулянтное действие, связываясь с антитромбином, тем самым вызывая подавление генерации тромбина и других сериновых протеаз (Xa и XIa) более чем в 100 раз [52].

Гепарин, как правило, рассматривается как препарат выбора при первичной тромбопрофилактике, особенно в случаях периоперационного ведения пациентов с системно-лёгочными анастомозами и повышенным риском развития тромбоза. В таких случаях оправдана комбинация системной гепаринизации и антитромбоцитарной терапии. Если необходима длительная антикоагулянтная терапия, нефракционированный гепарин может быть заменён на низкомолекулярные гепарины (НМГ) [53]. НМГ всё чаще используются в качестве стартовой терапии острого тромбоза в силу сниженной потребности в мониторинге, отсутствия взаимодействия с другими препаратами и низкой частоты гепарин-индуцированной тромбоцитопении [54]. Низкомолекулярные гепарины преимущественно вводятся подкожно дважды в сутки. Согласно современным рекомендациям, стартовая доза эноксапарина для детей составляет 1 мг/кг и 1,5 мг/кг для младенцев младше 2 месяцев [53].

Использование антагонистов витамина К у детей также сопряжено с рядом особенностей, связанных с необходимостью мониторинга на стадии подбора дозы, равно как и с отсутствием соответствующих лекарственных форм. Варфарин может быть использован в качестве стартовой терапии для пациентов после операции Фонтена с продолжительностью терапии от 3 до 12 месяцев. При наличии факторов риска развития тромбоза терапия может быть продолжена на более длительный срок. Режим дозирования экстраполирован из взрослых рекомендаций. Стартовая нагрузочная доза составляет 0,2 мг/кг с целевыми значениями МНО 2,0–3,0 [53].

Прямые оральные антикоагулянты пока не одобрены для клинического применения у детей, однако опубликованные результаты исследований демонстрируют клиническую эффективность этих препаратов [55–57].

Использование имплантируемых устройств, как краткосрочных (ЭКМО), так и долгосрочных (HeartMate™, HVAD™, EXCOR™), стало неотъемлемой частью терапии критических пациентов. Число выполненных ЭКМО неуклонно растёт год от года. Около 50 % детей, терапия которых сопровождалась использованием механической поддержки, были выписаны из клиники [58]. И если принципы антикоагулянтной стратегии при использовании экстракорпоральной механической поддержки для взрослых сформулированы в рекомендациях EuroELSO, то в отношении пациентов неонатального и раннего детского возраста принятых подходов не существует. Как правило, большинством центров используются протоколы, экстраполированные из взрослых рекомендаций. И, конечно же, поддерживающая терапия у неонатальных пациентов с ЭКМО-поддержкой требует детального анализа как с точки зрения возраст-специфических особенностей системы гемостаза, так и в отношении дальнейшего мониторинга [59]. Управление системой гемостаза у новорождённых с механической поддержкой требует постоянного мониторинга про- и антитромботических факторов. Рутинная антитромботическая терапия во время механической поддержки предполагает использование нефракционированного гепарина, доза которого может варьировать.

Прямые ингибиторы тромбина также используются при неонатальном ЭКМО. Прямые ингибиторы тромбина

(бивалирудин, аргатробан и лепирудин) являются АТ III независимыми антикоагулянтами и подавляют как свободный, так и связанный тромбин. Однако клиническое использование прямых ингибиторов тромбина у детей ограничивается лишь в случаях установленной аллергии к нефракционированному гепарину, гепарин-индуцированной тромбоцитопении и гепарино-резистентности [60]. В доступной литературе сообщается лишь о единичных случаях использования прямых ингибиторов тромбина. Согласно недавнему систематическому обзору, скорость инфузии бивалирудина варьировала от 0,05 до 0,15 мг/кг/ч без нагрузочной дозы или с минимальным болюсом 0,5 мг/кг [61]. Подходы к мониторингу также разнятся (от целевых 1,5–2 нормы АЧТВ, до АВС 180–220 с или ТЭГ).

Несмотря на проводимую системную гепаринизацию и прочие меры, формирование кровяных сгустков в различных участках контура регистрируется у 40 % неонатальных пациентов [62]. Помимо тромбоза, кровотечение является частым и грозным осложнением среди неонатальных пациентов с ЭКМО-поддержкой [58]. Потому оправдана вспомогательная терапия, направленная на контроль кровотечения (апротинин, транексамовая кислота, ε-АКК, рекомбинантный фактор VIIa) и/или коагуляции (антитромбоцитарные препараты: аспирин; антикоагулянты: варфарин).

Ежедневная детальная оценка активности АТ III, D-димеров, количества тромбоцитов, уровня продуктов деградации фибриногена должна быть частью любого локального протокола. Вопрос методов альтернативного мониторинга по-прежнему дискутабелен. Помимо рутинного определения активированного времени свёртывания (АВС), используются все доступные методы диагностики (ПВ, АЧТВ, анти-Ха активность, TEG/ROTEM) [63].

Согласно рекомендательному протоколу Extracorporeal Life Support Organization Anticoagulation Management Expert Consensus, используется нефракционированный гепарин в виде болюса от 50 до 100 Ед./кг с последующей постоянной инфузией 7,5–20 Ед./кг/ч для достижения целевых значений АВС 180–220 с. Оправданность использования исходного болюса гепарина остаётся предметом дискуссии.

Имплантируемые вспомогательные устройства у детей используются как мост к трансплантации, восстановлению миокардиальной производительности. Антитромботическая терапия при реализации длительной экстракорпоральной поддержки экстраполирована из взрослых рекомендаций и предполагает использование терапии антагонистами витамина К вместе и без антитромбоцитарных средств, согласно протоколу Edmonton [64] или его модифицированной версии Stanford [65, 66], отличающихся возрастом назначения терапии антагонистами витамина К и использования стероидов при повышенном уровне фибриногена.

Антагонисты витамина К являются стандартным протоколом антикоагулянтной терапии. Нефракционированный гепарин может быть рекомендован как мост к терапии антагонистами витамина К после имплантации вспомогательных устройств [67].

Периоперационное использование антитромботических средств предполагает строгое следование показаниям и противопоказаниям их применения с учётом возраст-ассоциированного дозирования и исходных параметров тестов системы гемостаза.

Недостаток доказательной базы и клинических рекомендаций, адаптированных к кардиохирургии в педиатрической популяции, создаёт некоторые сложности в реализации антитромботической терапии. Таблица 2 обобщает данные об использовании антитромботических средств при различных кардиохирургических сценариях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оценка клинического статуса и лабораторных данных в педиатрической популяции кардиохирургического профиля должна быть основана на возраст-ассоциированных нормативах. В отсутствие убедительной доказательной базы и строгих рекомендательных протоколов периоперационное управление системой гемостаза представляется значимой мультидисциплинарной проблемой. И потому лишь тесное взаимодействие гематологов, кардиологов, анестезиологов, кардиохирургов и генетиков позволит достичь деликатного баланса между рисками кровотечения и тромбоза у педиатрических и неонатальных пациентов.

Таблица 2

Антитромботическая терапия у педиатрических и неонатальных кардиохирургических пациентов

Table 2

Antithrombotic therapy in pediatric and neonatal cardiosurgical patients

Операция/диагноз	Препарат/режим дозирования	Комментарии	Мониторинг	Ссылки
mBT шунт	Гепарин, 7–10 Ед./кг/ч интраоперационно	Последующая терапия НМГ/ аспирин 1–5 мг/кг	АЧТВ (50–70 с), анти-Ха (0,3–0,7 Ед./мл)	[4, 26]
Операция Норвуда (mBT/Сано)	Гепарин, 7–10 Ед./кг/ч со 2-го послеоперационного дня	Последующая терапия НМГ/ аспирин 1–5 мг/кг	АЧТВ (50–70 с), анти-Ха (0,3–0,7 Ед./мл)	[68]
Первичная лёгочная гипертензия	Варфарин, 0,2 мг/кг ежедневно	Снижение ЛСС, контроль пролиферативных процессов	МНО (1,7–2,5)	[69, 70]
ДКМП	Варфарин, 0,2 мг/кг ежедневно	Длительное наблюдение; ЭХО-контроль тромбов в полостях сердца	МНО (2,0–3,0)	[71, 72]
Био/механический протез	Варфарин, 0,2 мг/кг ежедневно, длительно	Допускается стартовая терапия НФГ и антиагрегантами	МНО (2,0–3,0)	[4, 73, 74]
Неонатальный тромбоз почечных артерий	Гепарин, 7–10 Ед./кг/ч НМГ	Эноксапарин может вводиться в/в; в случае неэффективности – тромболизис	АЧТВ; анти-Ха;	[75]

Примечание. mBT шунт – модифицированный шунт Блэлока – Тауссига; АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время; НМГ – низкомолекулярный гепарин; ЛСС – лёгочно-сосудистое сопротивление; ДКМП – дилятационная кардиомиопатия; НФГ – нефракционированный гепарин; МНО – Международное нормализованное отношение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Liu Y, Chen S, Zühlke L, Black GC, Choy M-K, Li N, et al. Global birth prevalence of congenital heart defects 1970-2017: Updated systematic review and meta-analysis of 260 studies. *Int J Epidemiol*. 2019; 48(2): 455-463. doi: 10.1093/ije/dyz009

2. Gilboa SM, Devine OJ, Kucik JE, Oster ME, Riehle-Colarusso T, Nembhard WN, et al. Congenital heart defects in the United States: Estimating the magnitude of the affected population in 2010. *Circulation*. 2016; 134(2): 101-109. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.019307

3. Карахалис Н.Б., Ефимочкин Г.А., Шадрин А.К., Синьков С.В. Антитромботическая терапия у детей. *Анестезиология и реаниматология*. 2018; 63(1): 46-53. doi: 10.18821/0201-7563-2018-63-1-46-55

4. Young G, Male C, van Ommen CH. Anticoagulation in children: Making the most of little patients and little evidence. *Blood Cells Mol Dis*. 2017; 67: 48-53. doi: 10.1016/j.bcmd.2017.05.003

5. Romantsik O, Bruschetti M, Zappettini S, Ramenghi LA, Calevo MG. Heparin for the treatment of thrombosis in neonates. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016; 11(11): CD012185. doi: 10.1002/14651858.CD012185.pub2

6. Williams MD, Chalmers EA, Gibson BES. The investigation and management of neonatal haemostasis and thrombosis. *Br J Haematol*. 2002; 119(2): 295-309. doi: 10.1046/j.1365-2141.2002.03674.x

7. Chin VM, Holland M-LL, Parker MM, Holtby HM, O'Leary JD. Antithrombin activity and heparin response in neonates and infants undergoing congenital cardiac surgery: A retrospective cohort study. *Can J Anaesth*. 2016; 63(1): 38-45. doi: 10.1007/s12630-015-0500-2

8. Toulon P. Developmental hemostasis: laboratory and clinical implications. *Int J Lab Hem.* 2016; 38(1): 66-77. doi: 10.1111/ijlh.12531

9. Glatz AC, Keashen R, Chang J, Balsama L-A, Dori Y, Gillespie MJ, et al. Outcomes using a clinical practice pathway for the management of pulse loss following pediatric cardiac catheterization. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2015; 85(1): 111-117. doi: 10.1002/ccd.25686

10. Alexander J, Yohannan T, Abutineh I, Agrawal V, Lloyd H, Zurakowski D, et al. Ultrasound-guided femoral arterial access in pediatric cardiac catheterizations: A prospective evaluation of the prevalence, risk factors, and mechanism for acute loss of arterial pulse. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2016; 88(7): 1098-1107. doi: 10.1002/ccd.26702

11. Bacciedoni V, Attie M, Donato H, Comité Nacional de Hematología, Oncología y Medicina Transfusional. Thrombosis in newborn infants. *Arch Argent Pediatr*. 2016; 114(2): 159-166. doi: 10.5546/aap.2016.eng.159

12. Silvey M, Brandão LR. Risk factors, prophylaxis, and treatment of venous thromboembolism in congenital heart disease patients. *Front Pediatr*. 2017; 19(5): 146. doi: 10.3389/fped.2017.00146

13. Biss TT. Venous thromboembolism in children: is it preventable? *Semin Thromb Hemost*. 2016; 42(6): 603-611. doi: 10.1055/s-0036-1581100

14. Haley KM. Neonatal venous thromboembolism. *Front Pediatr*. 2017; 5: 136. doi: 10.3389/fped.2017.00136

15. Карахалис Н.Б., Каде А.Х., Братова А.В. Возраст-зависимые изменения параметров системы гемостаза у пациентов педиатрической популяции кардиохирургического профиля. Инновационная Медицина Кубани. 2020; 17(1): 23-29. doi: 10.35401/2500-0268-2020-17-1-23-29

16. Sherrod BA, McClugage SG, Mortellaro VE, Aban IB, Rocque BG. Venous thromboembolism following inpatient pediatric surgery: Analysis of 153,220 patients. *J Pediatr Surg*. 2019; 54(4): 631-639. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2018.09.017

17. Hehir DA, Easley RB, Byrnes J. Noncardiac challenges in the cardiac ICU: Feeding, growth, and gastrointestinal complications, anticoagulation, and analgesia. *World J Pediatr Congenit Heart Surg*. 2016; 7(2): 199-209. doi: 10.1177/2150135115615847

18. Emani S, Trainor R, Zurakowski D, Baird CW, Fynn-Thompson FE, Pigula FA, et al. Aspirin unresponsiveness predicts thrombosis in high-risk pediatric patients after cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2014; 148(3): 810-814. doi: 10.1016/j.jtcvs.2014.06.016

19. Callegari A, Christmann M, Albisetti M, Kretschmar O, Quandt D. Single ventricle physiology patients and coagulation abnormalities: Is there a relationship with hemodynamic data and postoperative course? A pilot study. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2019; 25: 1-8. doi: 10.1177/1076029619888695

20. Bailly D, Boskkov L, Zubair M, Rogers VJ, Lantz G, Armsby L, et al. Congenital cardiac lesions involving systolic flow abnormalities are associated with platelet dysfunction in children. *Ann Thorac Surg*. 2014; 98(4): 1419-1424. doi: 10.1016/j.athoracsur.2014.05.035

21. Loeffelbein F, Funk D, Nakamura L, Zieger B, Grohmann J, Siepe M, et al. Shear-stress induced acquired von Willebrand syndrome in children with congenital heart disease. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2014; 19: 926-932. doi: 10.1093/icvts/ivu.305

22. Romlin B, Söderlund F, Wåhlander H, Nilsson B, Baghaei F, Jeppsson A. Platelet count and function in paediatric cardiac surgery: A prospective observational study. *Br J Anaesth*. 2014; 113(5): 847-854. doi: 10.1093/bja/aeu194

23. Attard C, Huang J, Monagle P, Ignjatovic V. Pathophysiology of thrombosis and anticoagulation post Fontan surgery. *Thromb Res*. 2018; 172: 204-213. doi: 10.1016/j.thromres.2018.04.011

24. Bhatt MD, Paes BA, Chan AK. How to use unfractionated heparin to treat neonatal thrombosis in clinical practice. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2016; 27(6): 605-614. doi: 10.1097/MBC.0000000000000469

25. Massicotte MP, Bauman M. Developmental hemostasis and ventricular assist devices: A troubled relationship. *Prog Pediatr Cardiol.* 2017; 47: 14-20. doi: 10.1016/j.ppedcard.2017.08.006

26. Sasikumar N, Hermuzi A, Fan CS, Lee K-J, Chaturvedi R, Hickey E, et al. Outcomes of Blalock-Taussig shunts in current era: A single center experience. *Congenit Heart Dis*. 2017; 12(6): 808-814. doi: 10.1111/chd.12516

27. Bove T, Vandekerckhove K, Panzer J, De Groote K, De Wolf D, François K. Disease-specific outcome analysis of palliation with the modified Blalock-Taussig shunt. *World J Pediatr Congenit Heart Surg*. 2015; 6(1): 67-74. doi: 10.1177/2150135114558690

28. Perez ER, Riveros R. Mathematical analysis and physical profile of Blalock-Taussig shunt and Sano modification procedure in hypoplastic left heart syndrome: Review of the literature and implications for the anesthesiologist. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth*. 2017; 21(2): 152-164. doi: 10.1177/1089253216687857

29. Agarwal A, Firdouse M, Brar N, Yang A, Lambiris P, Chan AK, et al. Incidence and management of thrombotic and thromboembolic complications following the Norwood procedure: A literature review. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2017; 23(8): 911-921. doi: 10.1177/1076029616679506

30. Agarwal A, Firdouse M, Brar N, Yang A, Lambiris P, Chan AK, et al. Incidence and management of thrombotic and thromboembolic complications following the superior cavopulmonary anastomosis procedure: A literature review. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2018; 24(3): 405-415. doi: 10.1177/1076029617739702

31. Manlhiot C, Brandão LR, Schwartz SM, Sivarajan VB, Williams S, Collins TH, et al. Management and outcomes of patients with occlusive thrombosis after pediatric cardiac surgery. *J Pediatr*. 2016; 169: 146-153. doi: 10.1016/j.jpeds.2015.10.046

32. Firdouse M, Agarwal A, Chan AK, Mondal T. Thrombosis and thromboembolic complications in Fontan patients: A literature review. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2014; 20(5): 484-492. doi: 10.1177/1076029613520464

33. Idorn L, Jensen AS, Juul K, Reimers JI, Johansson PI, Sørensen KE, et al. Thromboembolic complications in Fotan patients: Population-based prevalence and exploration of the etiology. *Pediatr Cardiol*. 2013; 34(2): 262-272. doi: 10.1007/s00246-012-0431-4

34. McCrindle BW, Manlhiot C, Cochrane A, Roberts R, Hughes M, Szechtman B, Weintraub R, et al. Factors associated

with thrombotic complications after the Fontan procedure: A secondary analysis of a multicentre, randomized trial of primary thromboprophylaxis for 2 years after the Fontan procedure. *J Am Coll Cardiol.* 2013; 61(3): 346-353. doi: 10.1016/j.jacc.2012.08.1023

35. Schneeweiss S, Seeger JD, Landon J, Walker AM. Aprotinin during coronary-artery bypass grafting and risk of death. *N Engl J Med*. 2008; 358(8): 771-783. doi: 10.1056/NEJMoa0707571

36. Shaw AD, Stafford-Smith M, White WD, Phillips-Bute B, Swaminathan M, Milano C, et al. The effect of aprotinin on outcome after coronary-artery bypass grafting. *N Engl J Med*. 2008; 358(8): 784-793. doi: 10.1056/NEJMoa0707768

37. Pasquali SK, Li JS, He X, Jacobs ML, O'Brien SM, Hall M, et al. Comparative analysis of antifibrinolytic medications in pediatric heart surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2012; 143(3): 550-557. doi: 10.1016/j.jtcvs.2011.06.048

38. Taroni D, Rahe C, Cybulski KA. Use of antifibrinolytics in pediatric cardiac surgery: Where are we now? *Paediatr Anaesth*. 2019; 29(5): 435-440. doi: 10.1111/pan.13533

39. Dhir A. Antifibrinolytics in cardiac surgery. *Ann Card Anaesth*. 2013; 16(2): 117-125. doi: 10.4103/0971-9784-.109749

40. Nouraei SM. What are the optimal dose of administration and time of drainage for topical tranexamic acid in patients undergoing cardiac surgery? *Korean J Thorac Cardiovasc Surg*. 2017; 50(6): 477-478. doi: 10.5090/kjtcs.2017.50.6.477

41. Faraoni D, Goobie SM. New insights about the use of tranexamic acid in children undergoing cardiac surgery: From pharmacokinetics to pharmacodynamics. *Anesth Analg.* 2012; 117(4): 760-762. doi: 10.1213/ANE.0b013e3182a22278

42. Myles PS, Smith JA, Painter T. Tranexamic acid in patients undergoing coronary-artery surgery. *N Engl J Med*. 2017; 376(19): 1893. doi: 10.1056/NEJMc1703369

43. Wesley MC, Pereira LM, Scharp LA, Emani SM, McGowan FX Jr., DiNardo JA. Pharmacokinetics of tranexamic acid in neonates, infants, and children undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology*. 2015; 122(4): 746-758. doi: 10.1097/0000000000000570

44. Eaton MP, Alfieris GM, Sweeney DM, Angona RE, Cholette JM, Venuto C, et al. Pharmacokinetics of ε-aminocaproic acid in neonates undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology*. 2015; 122(5): 1002-1009. doi: 10.1097/ALN.0000000000000616

45. Rastogi A, Agarwal A, Goyal P, Priya V, Dhiraaj S, Haldar R. Ultrasound guided internal jugular vein cannulation in infants: Comparative evaluation of novel modified short axis out of plane approach with conventional short axis of plane approach. *Indian J Anaesth*. 2018; 62(3): 208-213. doi: 10.4103/ija.IJA_676_17

46. Kutty S, Jacobs ML, Thompson WR, Danford DA. Fontan circulation of the next generation: Why it's necessary, what it might look like. *J Am Heart Assoc*. 2020; 9(1): e013691. doi: 10.1161/JAHA.119.013691

47. Murphy LD, Benneyworth BD, Moser EAS, Hege KM, Valentine KM, Mastropietro CW. Analysis of patient characteristics and risk factors for thrombosis after surgery for congenital heart disease. *Pediatr Crit Care Med*. 2018; 19(12): 1146-1152. doi: 10.1097/PCC.0000000000001743

48. Mir A, Frank S, Journeycake J, Wolovitis J, Guleserian K, Heistein L, et al. Aspirin resistance in single-ventricle physiology: Aspirin prophylaxis is not adequate to inhibit platelets in the immediate postoperative period. *Ann Thorac Surg*. 2015; 99(6): 2158-2164. doi: 10.1016/j.athoracsur.2015.02.026

49. Saini A, Joshi AD, Cowan KM, et al. High acetylsalicylic acid dosing in infants after modified Blalock-Taussig shunt. *Cardiol Young*. 2019; 29(3): 389-397. doi: 10.1017/S1047951118002536

50. Hanke CA, Stiller B, Nakamura L, et al. Prophylactic use of clopidogrel in paediatric cardiac patients. *Klin Padiatr*. 2012; 224(3): 166-169. doi: 10.1055/s-0032-1306345

51. Wessel D, Berger F, Li J, Dähnert I, Rakhit A, Fontecave S, et al. Clopidogrel in infants with systemic-to-pulmonary shunts. *N Engl J Med*. 2013; 368(25): 2377-2384. doi: 10.1056/NEJMoa1114588

52. Lander H, Zammert M, FitzGerald D. Anticoagulation management during cross-clamping and bypass. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2016; 30(3): 359-370. doi: 10.1016/j.bpa.2016.07.002

53. Monagle P, Newall F. Management of thrombosis in children and neonates: Practical use of anticoagulants in children. *Hematol Educ Program*. 2018; 2018(1): 399-404. doi: 10.1182/asheducation-2018.1.399

54. Klaassen ILM, Sol JJ, Suijker MH, Fijnvandraat K, van de Wetering MD, van Ommen CH. Are Low-Molecular-Weight-Heparins safe and effective in children? A systematic review. *Blood Rev*. 2019; 33: 33-42. doi: 10.1016/j.blre.2018.06.003

55. Radulescu VC. Anticoagulation therapy in children. *Semin Thromb Hemost*. 2017; 43(8): 877-885. doi: 10.1055/s-0036-1598004

56. Payne RM, Burns KM, Glatz AC, Li D, Li X, Monagle P, et al. A multi-national trial of a direct oral anticoagulant in children with cardiac disease: Design and rationale of the Safety of ApiXaban on Pediatric Heart disease On the prevention of Embolism (SAXOPHONE) study. *Am Heart J*. 2019; 217: 52-63. doi: 10.1016/j.ahj.2019.08.002

57. Esch JJ, Hellinger A, Friedman KG, VanderPluym CJ. Apixaban for treatment of intracardiac thrombosis in children with congenital heart disease. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2020; 30(6): ivaa041. doi: 10.1093/icvts/ivaa041

58. Paden ML, Rycus PT, Thiagarajan RR, ELSO Registry. Update and outcomes in extracorporeal life support. *Semin Perinatol*. 2014; 38(2): 65-70. doi: 10.1053/j.semperi.2013.11.002

59. Stocker CF, Horton SB. Anticoagulation strategies and difficulties in neonatal and paediatric extracorporeal membrane oxygenation (ECMO). *Perfusion*. 2016; 31(2): 95-102. doi: 10.1177/0267659115590626

60. Saini A, Spinella PC. Management of anticoagulation and hemostasis for pediatric extracorporeal membrane oxygenation. *Clin Lab Med*. 2014; 34(3): 655-673. doi: 10.1016/j.cll.2014.06.014

61. Cashen K, Meert K, Dalton H. Anticoagulation in neonatal ECMO: An enigma despite a lot of effort! *Front Pediatr* 2019; 13(7): 366. doi: 10.3389/fped.2019.00366

62. Dalton HJ, Garcia-Filion P, Holubkov R, Moler FW, Shanley T, Heidemann S, et al. Association of bleeding and thrombosis with outcome in extracorporeal life support. *Pediatr Crit Care Med*. 2015; 16(2): 167-174. doi: 10.1097/PCC.0000000000000317

63. Barbaro RP, Paden ML, Guner YS, Raman L, Ryerson LM, Alexander P, et al. Pediatric Extracorporeal Life Support Organization Registry International Report 2016. *ASAIO J*. 2017; 63(4): 456-463. doi: 10.1097/MAT.0000000000000603

64. Fraser CD Jr., Jaquiss RDB, Rosenthal DN, Humpl T, Canter CE, Blackstone EH, et al. Prospective trial of a pediatric ventricular assist device. *N Engl J Med*. 2012; 367(6): 532-541. doi: 10.1056/NEJMoa1014164

65. Rosenthal DN, Lancaster CA, McElhinney DB, Chen S, Stein ML, Lin A, et al. Impact of a modified anti-thrombotic guideline on stroke in children supported with a pediatric ventricular assist device. *J Heart Lung Transplant*. 2017; 36(11): 1250-1257. doi: 10.1016/j.healun.2017.05.020

66. Steiner ME, Bomgaars LR, Massicotte MP, Berlin Heart EXCOR Pediatric VAD IDE study investigators. Antithrombotic therapy in a prospective trial of a pediatric ventricular assist device. *ASAIO J*. 2016; 62(6): 719-727. doi: 10.1097/MAT.0000000000000434

67. Maltais S, Kilic A, Nathan S, Keebler M, Emani S, Ransom J, et al. Prevention of HeartMate II pump thrombosis through clinical management: The PREVENT multi-center study. *J Heart Lung Transplant.* 2017; 36(1): 1-12. doi: 10.1016/j.healun.2016.10.001

68. Chang YM, Huang SC, Chen SJ, Wu E-T, Wang J-K, Wu M-H. An usual cause of chylothorax after Norwood stage one reconstruction. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2009; 57(2): 120-122. doi: 10.1055/s-2008-1038668

69. Galiè N, Humbert M, Vachiery J-L, Gibbs S, Torbicki A, Simonneau G, et al. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): endorsed by: Association for European Paediatric

and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J*. 2016; 37(1): 67-119. doi: 10.1093/eurheartj/ehv317

70. Hansmann G, Apitz C, Abdul-Khaliq H, Alastalo T-P, Beerbaum P, Bonnet D, et al. Executive Summary. Expert consensus statement on the diagnosis and treatment of paediatric pulmonary hypertension. European Paediatric Vascular Disease Network, endorsed by ISHLT and DGPK. *Heart*. 2016; 102(2): ii86-ii100. doi: 10.1136/heartjnl-2015-309132

71. Irdem A, Baspinar O, Kervancioglu M, Kilinç M. Intracardiac thrombus in children with dilated cardiomyopathy. *Turk Kardiol Dern Ars*. 2014; 42(2): 161-167. doi: 10.5543/tkda.2014.81593

72. Chen K, Williams S, Chan AKC, Mondal TK. Thrombosis and embolism in pediatric cardiomyopathy. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2013; 24(3): 221-230. doi: 10.1097/MBC.0b013e32835bfd85

73. Hepponstall M, Chan A, Monagle P. Anticoagulation therapy in neonates, children and adolescents. *Blood Cells Mol Dis.* 2017; 67: 41-47. doi: 10.1016/j.bcmd.2017.05.008

74. Moudgil A. Renal venous thrombosis in neonates. *Curr Pediatr Rev*. 2014; 10(2): 101-106. doi: 10.2174/15733963100214 0513101845

75. Bidadi B, Nageswara Rao AA, Kaur D, Khan SP, Rodriguez V. Neonatal renal vein thrombosis: Role of anticoagulation – an institutional review. *Pediatr Hematol Oncol*. 2016; 33(1): 59-66. doi: 10.3109/08880018.2015.1132801

REFERENCES

1. Liu Y, Chen S, Zühlke L, Black GC, Choy M-K, Li N, et al. Global birth prevalence of congenital heart defects 1970-2017: Updated systematic review and meta-analysis of 260 studies. *Int J Epidemiol*. 2019; 48(2): 455-463. doi: 10.1093/ije/dyz009

2. Gilboa SM, Devine OJ, Kucik JE, Oster ME, Riehle-Colarusso T, Nembhard WN, et al. Congenital heart defects in the United States: Estimating the magnitude of the affected population in 2010. *Circulation*. 2016; 134(2): 101-109. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.019307

3. Karakhalis NB, Efimochkin GA, Schadrin AK, Sinkov SV. Antithrombotic therapy in children. *Anesteziol Reanimatol*. 2018; 63(1): 46-55. (In Russ.). doi: 10.18821/0201-7563-2018-63-1-46-55

4. Young G, Male C, van Ommen CH. Anticoagulation in children: Making the most of little patients and little evidence. *Blood Cells Mol Dis*. 2017; 67: 48-53. doi: 10.1016/j.bcmd.2017.05.003

5. Romantsik O, Bruschetti M, Zappettini S, Ramenghi LA, Calevo MG. Heparin for the treatment of thrombosis in neonates. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016; 11(11): CD012185. doi: 10.1002/14651858.CD012185.pub2

6. Williams MD, Chalmers EA, Gibson BES. The investigation and management of neonatal haemostasis and thrombosis. *Br J Haematol*. 2002; 119(2): 295-309. doi: 10.1046/j.1365-2141.2002.03674.x

7. Chin VM, Holland M-LL, Parker MM, Holtby HM, O'Leary JD. Antithrombin activity and heparin response in neonates and infants undergoing congenital cardiac surgery: A retrospective cohort study. *Can J Anaesth*. 2016; 63(1): 38-45. doi: 10.1007/s12630-015-0500-2

8. Toulon P. Developmental hemostasis: laboratory and clinical implications. *Int J Lab Hem.* 2016; 38(1): 66-77. doi: 10.1111/ijlh.12531

9. Glatz AC, Keashen R, Chang J, Balsama L-A, Dori Y, Gillespie MJ, et al. Outcomes using a clinical practice pathway for the management of pulse loss following pediatric cardiac catheterization. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2015; 85(1): 111-117. doi: 10.1002/ccd.25686

10. Alexander J, Yohannan T, Abutineh I, Agrawal V, Lloyd H, Zurakowski D, et al. Ultrasound-guided femoral arterial access in pediatric cardiac catheterizations: A prospective evaluation of the prevalence, risk factors, and mechanism for acute loss of arterial pulse. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2016; 88(7): 1098-1107. doi: 10.1002/ccd.26702

11. Bacciedoni V, Attie M, Donato H, Comité Nacional de Hematología, Oncología y Medicina Transfusional. Thrombosis in newborn infants. *Arch Argent Pediatr*. 2016; 114(2): 159-166. doi: 10.5546/aap.2016.eng.159

12. Silvey M, Brandão LR. Risk factors, prophylaxis, and treatment of venous thromboembolism in congenital heart disease patients. *Front Pediatr*. 2017; 19(5): 146. doi: 10.3389/fped.2017.00146

13. Biss TT. Venous thromboembolism in children: is it preventable? *Semin Thromb Hemost*. 2016; 42(6): 603-611. doi: 10.1055/s-0036-1581100

14. Haley KM. Neonatal venous thromboembolism. *Front Pediatr*. 2017; 5: 136. doi: 10.3389/fped.2017.00136

15. Karakhalis NB, Kade AKh, Bratova AV. Age-dependent changes of coagulation system parameters in pediatric patients of cardiosurgical profile. *Innovatsionnaya Meditsina Kubani*. 2020; 17(1): 23-29. (In Russ.). doi: 10.35401/2500-0268-2020-17-1-23-29

16. Sherrod BA, McClugage SG, Mortellaro VE, Aban IB, Rocque BG. Venous thromboembolism following inpatient pediatric surgery: Analysis of 153,220 patients. *J Pediatr Surg*. 2019; 54(4): 631-639. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2018.09.017

17. Hehir DA, Easley RB, Byrnes J. Noncardiac challenges in the cardiac ICU: Feeding, growth, and gastrointestinal complications, anticoagulation, and analgesia. *World J Pediatr Congenit Heart Surg*. 2016; 7(2): 199-209. doi: 10.1177/2150135115615847

18. Emani S, Trainor R, Zurakowski D, Baird CW, Fynn-Thompson FE, Pigula FA, et al. Aspirin unresponsiveness predicts thrombosis in high-risk pediatric patients after cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2014; 148(3): 810-814. doi: 10.1016/j.jtcvs.2014.06.016

19. Callegari A, Christmann M, Albisetti M, Kretschmar O, Quandt D. Single ventricle physiology patients and coagulation abnormalities: Is there a relationship with hemodynamic data and postoperative course? A pilot study. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2019; 25: 1-8. doi: 10.1177/1076029619888695

20. Bailly D, Boskkov L, Zubair M, Rogers VJ, Lantz G, Armsby L, et al. Congenital cardiac lesions involving systolic flow abnormalities are associated with platelet dysfunction in children. *Ann Thorac Surg*. 2014; 98(4): 1419-1424. doi: 10.1016/j.athoracsur.2014.05.035

21. Loeffelbein F, Funk D, Nakamura L, Zieger B, Grohmann J, Siepe M, et al. Shear-stress induced acquired von Willebrand syndrome in children with congenital heart disease. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2014; 19: 926-932. doi: 10.1093/icvts/ivu.305

22. Romlin B, Söderlund F, Wåhlander H, Nilsson B, Baghaei F, Jeppsson A. Platelet count and function in paediatric cardiac surgery: A prospective observational study. *Br J Anaesth*. 2014; 113(5): 847-854. doi: 10.1093/bja/aeu194

23. Attard C, Huang J, Monagle P, Ignjatovic V. Pathophysiology of thrombosis and anticoagulation post Fontan surgery. *Thromb Res*. 2018; 172: 204-213. doi: 10.1016/j.thromres.2018.04.011

24. Bhatt MD, Paes BA, Chan AK. How to use unfractionated heparin to treat neonatal thrombosis in clinical practice. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2016; 27(6): 605-614. doi: 10.1097/MBC.0000000000000469

25. Massicotte MP, Bauman M. Developmental hemostasis and ventricular assist devices: A troubled relationship. *Prog Pediatr Cardiol.* 2017; 47: 14-20. doi: 10.1016/j.ppedcard.2017.08.006

26. Sasikumar N, Hermuzi A, Fan CS, Lee K-J, Chaturvedi R, Hickey E, et al. Outcomes of Blalock-Taussig shunts in current era: A single center experience. *Congenit Heart Dis*. 2017; 12(6): 808-814. doi: 10.1111/chd.12516

27. Bove T, Vandekerckhove K, Panzer J, De Groote K, De Wolf D, François K. Disease-specific outcome analysis of palliation with the modified Blalock-Taussig shunt. *World J Pediatr Congenit Heart Surg*. 2015; 6(1): 67-74. doi: 10.1177/2150135114558690

28. Perez ER, Riveros R. Mathematical analysis and physical profile of Blalock-Taussig shunt and Sano modification procedure in hypoplastic left heart syndrome: Review of the literature and implications for the anesthesiologist. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth*. 2017; 21(2): 152-164. doi: 10.1177/1089253216687857

29. Agarwal A, Firdouse M, Brar N, Yang A, Lambiris P, Chan AK, et al. Incidence and management of thrombotic and thromboembolic complications following the Norwood proce-

dure: A literature review. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2017; 23(8): 911-921. doi: 10.1177/1076029616679506

30. Agarwal A, Firdouse M, Brar N, Yang A, Lambiris P, Chan AK, et al. Incidence and management of thrombotic and thromboembolic complications following the superior cavopulmonary anastomosis procedure: A literature review. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2018; 24(3): 405-415. doi: 10.1177/1076029617739702

31. Manlhiot C, Brandão LR, Schwartz SM, Sivarajan VB, Williams S, Collins TH, et al. Management and outcomes of patients with occlusive thrombosis after pediatric cardiac surgery. *J Pediatr*. 2016; 169: 146-153. doi: 10.1016/j.jpeds.2015.10.046

32. Firdouse M, Agarwal A, Chan AK, Mondal T. Thrombosis and thromboembolic complications in Fontan patients: A literature review. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2014; 20(5): 484-492. doi: 10.1177/1076029613520464

33. Idorn L, Jensen AS, Juul K, Reimers JI, Johansson PI, Sørensen KE, et al. Thromboembolic complications in Fotan patients: Population-based prevalence and exploration of the etiology. *Pediatr Cardiol*. 2013; 34(2): 262-272. doi: 10.1007/s00246-012-0431-4

34. McCrindle BW, Manlhiot C, Cochrane A, Roberts R, Hughes M, Szechtman B, Weintraub R, et al. Factors associated with thrombotic complications after the Fontan procedure: A secondary analysis of a multicentre, randomized trial of primary thromboprophylaxis for 2 years after the Fontan procedure. *J Am Coll Cardiol*. 2013; 61(3): 346-353. doi: 10.1016/j.jacc.2012.08.1023

35. Schneeweiss S, Seeger JD, Landon J, Walker AM. Aprotinin during coronary-artery bypass grafting and risk of death. *N Engl J Med*. 2008; 358(8): 771-783. doi: 10.1056/NEJMoa0707571

36. Shaw AD, Stafford-Smith M, White WD, Phillips-Bute B, Swaminathan M, Milano C, et al. The effect of aprotinin on outcome after coronary-artery bypass grafting. *N Engl J Med*. 2008; 358(8): 784-793. doi: 10.1056/NEJMoa0707768

37. Pasquali SK, Li JS, He X, Jacobs ML, O'Brien SM, Hall M, et al. Comparative analysis of antifibrinolytic medications in pediatric heart surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2012; 143(3): 550-557. doi: 10.1016/j.jtcvs.2011.06.048

38. Taroni D, Rahe C, Cybulski KA. Use of antifibrinolytics in pediatric cardiac surgery: Where are we now? *Paediatr Anaesth*. 2019; 29(5): 435-440. doi: 10.1111/pan.13533

39. Dhir A. Antifibrinolytics in cardiac surgery. *Ann Card Anaesth*. 2013; 16(2): 117-125. doi: 10.4103/0971-9784-.109749

40. Nouraei SM. What are the optimal dose of administration and time of drainage for topical tranexamic acid in patients undergoing cardiac surgery? *Korean J Thorac Cardiovasc Surg*. 2017; 50(6): 477-478. doi: 10.5090/kjtcs.2017.50.6.477

41. Faraoni D, Goobie SM. New insights about the use of tranexamic acid in children undergoing cardiac surgery: From pharmacokinetics to pharmacodynamics. *Anesth Analg*. 2012; 117(4): 760-762. doi: 10.1213/ANE.0b013e3182a22278

42. Myles PS, Smith JA, Painter T. Tranexamic acid in patients undergoing coronary-artery surgery. *N Engl J Med*. 2017; 376(19): 1893. doi: 10.1056/NEJMc1703369

43. Wesley MC, Pereira LM, Scharp LA, Emani SM, McGowan FX Jr., DiNardo JA. Pharmacokinetics of tranexamic acid in neonates, infants, and children undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology*. 2015; 122(4): 746-758. doi: 10.1097/0000000000000570

44. Eaton MP, Alfieris GM, Sweeney DM, Angona RE, Cholette JM, Venuto C, et al. Pharmacokinetics of ε-aminocapronic acid in neonates undergoing cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Anesthesiology*. 2015; 122(5): 1002-1009. doi: 10.1097/ALN.0000000000000616

45. Rastogi A, Agarwal A, Goyal P, Priya V, Dhiraaj S, Haldar R. Ultrasound guided internal jugular vein cannulation in infants: Comparative evaluation of novel modified short axis out of plane approach with conventional short axis of plane approach. *Indian J Anaesth*. 2018; 62(3): 208-213. doi: 10.4103/ija.IJA_676_17

46. Kutty S, Jacobs ML, Thompson WR, Danford DA. Fontan circulation of the next generation: Why it's necessary, what it might look like. *J Am Heart Assoc*. 2020; 9(1): e013691. doi: 10.1161/JAHA.119.013691

47. Murphy LD, Benneyworth BD, Moser EAS, Hege KM, Valentine KM, Mastropietro CW. Analysis of patient characteristics and risk factors for thrombosis after surgery for congenital heart disease. *Pediatr Crit Care Med*. 2018; 19(12): 1146-1152. doi: 10.1097/PCC.0000000000001743

48. Mir A, Frank S, Journeycake J, Wolovitis J, Guleserian K, Heistein L, et al. Aspirin resistance in single-ventricle physiology: Aspirin prophylaxis is not adequate to inhibit platelets in the immediate postoperative period. *Ann Thorac Surg*. 2015; 99(6): 2158-2164. doi: 10.1016/j.athoracsur.2015.02.026

49. Saini A, Joshi AD, Cowan KM, et al. High acetylsalicylic acid dosing in infants after modified Blalock-Taussig shunt. *Cardiol Young*. 2019; 29(3): 389-397. doi: 10.1017/S1047951118002536

50. Hanke CA, Stiller B, Nakamura L, et al. Prophylactic use of clopidogrel in paediatric cardiac patients. *Klin Padiatr*. 2012; 224(3): 166-169. doi: 10.1055/s-0032-1306345

51. Wessel D, Berger F, Li J, Dähnert I, Rakhit A, Fontecave S, et al. Clopidogrel in infants with systemic-to-pulmonary shunts. *N Engl J Med*. 2013; 368(25): 2377-2384. doi: 10.1056/NEJMoa1114588

52. Lander H, Zammert M, FitzGerald D. Anticoagulation management during cross-clamping and bypass. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2016; 30(3): 359-370. doi: 10.1016/j.bpa.2016.07.002

53. Monagle P, Newall F. Management of thrombosis in children and neonates: Practical use of anticoagulants in children. *Hematol Educ Program*. 2018; 2018(1): 399-404. doi: 10.1182/asheducation-2018.1.399

54. Klaassen ILM, Sol JJ, Suijker MH, Fijnvandraat K, van de Wetering MD, van Ommen CH. Are Low-Molecular-Weight-Heparins safe and effective in children? A systematic review. *Blood Rev*. 2019; 33: 33-42. doi: 10.1016/j.blre.2018.06.003

55. Radulescu VC. Anticoagulation therapy in children. *Semin Thromb Hemost*. 2017; 43(8): 877-885. doi: 10.1055/s-0036-1598004

56. Payne RM, Burns KM, Glatz AC, Li D, Li X, Monagle P, et al. A multi-national trial of a direct oral anticoagulant in children with cardiac disease: Design and rationale of the Safety of ApiXaban on Pediatric Heart disease On the prevention of Embolism (SAXOPHONE) study. *Am Heart J*. 2019; 217: 52-63. doi: 10.1016/j.ahj.2019.08.002

57. Esch JJ, Hellinger A, Friedman KG, VanderPluym CJ. Apixaban for treatment of intracardiac thrombosis in children with congenital heart disease. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2020; 30(6): ivaa041. doi: 10.1093/icvts/ivaa041

58. Paden ML, Rycus PT, Thiagarajan RR, ELSO Registry. Update and outcomes in extracorporeal life support. *Semin Perinatol*. 2014; 38(2): 65-70. doi: 10.1053/j.semperi.2013.11.002

59. Stocker CF, Horton SB. Anticoagulation strategies and difficulties in neonatal and paediatric extracorporeal membrane oxygenation (ECMO). *Perfusion*. 2016; 31(2): 95-102. doi: 10.1177/0267659115590626

60. Saini A, Spinella PC. Management of anticoagulation and hemostasis for pediatric extracorporeal membrane oxygenation. *Clin Lab Med*. 2014; 34(3): 655-673. doi: 10.1016/j.cll.2014.06.014

61. Cashen K, Meert K, Dalton H. Anticoagulation in neonatal ECMO: An enigma despite a lot of effort! *Front Pediatr* 2019; 13(7): 366. doi: 10.3389/fped.2019.00366

62. Dalton HJ, Garcia-Filion P, Holubkov R, Moler FW, Shanley T, Heidemann S, et al. Association of bleeding and thrombosis with outcome in extracorporeal life support. *Pediatr Crit Care Med*. 2015; 16(2): 167-174. doi: 10.1097/PCC.0000000000000317

63. Barbaro RP, Paden ML, Guner YS, Raman L, Ryerson LM, Alexander P, et al. Pediatric Extracorporeal Life Support Organization Registry International Report 2016. *ASAIO J*. 2017; 63(4): 456-463. doi: 10.1097/MAT.0000000000000603

64. Fraser CD Jr., Jaquiss RDB, Rosenthal DN, Humpl T, Canter CE, Blackstone EH, et al. Prospective trial of a pediatric ventricular assist device. *N Engl J Med*. 2012; 367(6): 532-541. doi: 10.1056/NEJMoa1014164

65. Rosenthal DN, Lancaster CA, McElhinney DB, Chen S, Stein ML, Lin A, et al. Impact of a modified anti-thrombotic guideline on stroke in children supported with a pediatric ventricular assist device. *J Heart Lung Transplant*. 2017; 36(11): 1250-1257. doi: 10.1016/j.healun.2017.05.020

66. Steiner ME, Bomgaars LR, Massicotte MP, Berlin Heart EXCOR Pediatric VAD IDE study investigators. Antithrombotic therapy in a prospective trial of a pediatric ventricular assist device. *ASAIO J*. 2016; 62(6): 719-727. doi: 10.1097/MAT.0000000000000434

67. Maltais S, Kilic A, Nathan S, Keebler M, Emani S, Ransom J, et al. Prevention of HeartMate II pump thrombosis through clinical management: The PREVENT multi-center study. *J Heart Lung Transplant*. 2017; 36(1): 1-12. doi: 10.1016/j.healun.2016.10.001

68. Chang YM, Huang SC, Chen SJ, Wu E-T, Wang J-K, Wu M-H. An usual cause of chylothorax after Norwood stage one reconstruction. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2009; 57(2): 120-122. doi: 10.1055/s-2008-1038668

69. Galiè N, Humbert M, Vachiery J-L, Gibbs S, Torbicki A, Simonneau G, et al. 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J*. 2016; 37(1): 67-119. doi: 10.1093/eurheartj/ehv317

70. Hansmann G, Apitz C, Abdul-Khaliq H, Alastalo T-P, Beerbaum P, Bonnet D, et al. Executive Summary. Expert consensus statement on the diagnosis and treatment of paediatric pulmonary hypertension. European Paediatric Vascular Disease Network, endorsed by ISHLT and DGPK. *Heart*. 2016; 102(2): ii86-ii100. doi: 10.1136/heartjnl-2015-309132

71. Irdem A, Baspinar O, Kervancioglu M, Kilinç M. Intracardiac thrombus in children with dilated cardiomyopathy. *Turk Kardiol Dern Ars*. 2014; 42(2): 161-167. doi: 10.5543/tkda.2014.81593

72. Chen K, Williams S, Chan AKC, Mondal TK. Thrombosis and embolism in pediatric cardiomyopathy. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2013; 24(3): 221-230. doi: 10.1097/MBC.0b013e32835bfd85

73. Hepponstall M, Chan A, Monagle P. Anticoagulation therapy in neonates, children and adolescents. *Blood Cells Mol Dis.* 2017; 67: 41-47. doi: 10.1016/j.bcmd.2017.05.008

74. Moudgil A. Renal venous thrombosis in neonates. *Curr Pediatr Rev*. 2014; 10(2): 101-106. doi: 10.2174/15733963100214 0513101845

75. Bidadi B, Nageswara Rao AA, Kaur D, Khan SP, Rodriguez V. Neonatal renal vein thrombosis: Role of anticoagulation – an institutional review. *Pediatr Hematol Oncol*. 2016; 33(1): 59-66. doi: 10.3109/08880018.2015.1132801

Сведения об авторах

Карахалис Николай Борисович – кандидат медицинских наук, доцент кафедры анестезиологии, реаниматологии и трансфузиологии ФПК и ППС, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России; заведующий отделением реанимации и анестезиологии № 9, ГБУЗ «Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница № 1 им. проф. С.В. Очаповского», e-mail: karakhalis@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-6266-4799

Карахалис Марк Николаевич – клинический ординатор, кафедра лучевой диагностики, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: mark_karakhalis@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-0604-4744

Information about the authors

Nikolay B. Karakhalis – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Anesthesiology, Resuscitation and Transfusiology Department for Advanced Training, Kuban State Medical University; Head of Anesthesiology and Resuscitation Department N 9, Scientific Research Institute – Ochapovsky Regional Clinical Hospital N 1, e-mail: karakhalis@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-6266-4799

Mark N. Karakhalis – Resident, Radiodiagnostics Department, Kuban State Medical University, e-mail: mark_karakhalis@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-0604-4744

Статья получена: 04.03.2021. Статья принята: 11.05.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 04.03.2021. Accepted: 11.05.2021. Published: 15.06.2021.

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ
MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.10

Роль медиаторов воспаления в развитии эндотелиальной дисфункции сосудов пуповины при реактивации латентной цитомегаловирусной инфекции в третьем триместре беременности

Дорофиенко Н.Н., Андриевская И.А., Ишутина Н.А.

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

Автор, ответственный за переписку: Дорофиенко Николай Николаевич, e-mail: dorofienko-nn@mail.ru

Резюме

Обоснование*. Эндотелиальные клетки являются местом продуктивной репликации, гематогенного распространения и персистенции для множества вирусов, включая цитомегаловирус, которые играют решающую роль в развитии сосудистых осложнений, связанных с цитомегаловирусной инфекцией из-за развивающейся эндотелиальной дисфункции.*

Цель исследования: *выявить роль медиаторов воспаления (фактор некроза опухоли альфа, интерлекин-1β, интерлейкин-8) в формировании дисфункции эндотелия сосудов пуповины при реактивации латентной цитомегаловирусной инфекции в третьем триместре беременности.*

Методы. *Стандартным методом твердофазного («сэндвич»-вариант) иммуноферментного анализа проведено изучение провоспалительных цитокинов (фактор некроза опухоли альфа, интерлейкин-1β, -8), эндотелина-1, нитрит-аниона в крови пуповины новорождённых от матерей, перенёсших в третьем триместре реактивацию латентной цитомегаловирусной инфекции. В работу включены данные обследования 78 новорождённых, родившихся в срок 38–40 недель беременности. Из них 45 новорождённых от ЦМВ-серопозитивных женщин с реактивацией латентной инфекции в третьем триместре беременности (основная группа) и от 33 ЦМВ-серонегативных женщин (контрольная группа). Материалом для исследования была выбрана сыворотка крови вены пуповины.*

Результаты. *В крови пуповины новорождённых от матерей с реактивацией латентной цитомегаловирусной инфекции в третьем триместре беременности выявлялся высокий уровень провоспалительных цитокинов: фактора некроза опухолей альфа, интерлекина-1β, интерлейкина-8 ($p < 0,001$) при одновременном повышении содержания эндотелина-1 и нитрит-аниона ($p < 0,001$), по сравнению с аналогичными показателями здоровых новорождённых детей.*

Заключение*. Реактивация латентной цитомегаловирусной инфекции в третьем триместре беременности сопряжена с формированием системного фетального воспалительного ответа, определяемого высокой концентрацией медиаторов воспаления (фактор некроза опухоли альфа, интерлекин-1β, интерлейкин-8) и повышением вазоактивных соединений (эндотелин-1 и нитрит-анион), приводящих к формированию дисфункции эндотелия сосудов пуповины.*

Ключевые слова: *вторичная цитомегаловирусная инфекция, новорождённые дети, провоспалительные цитокины, эндотелин-1, оксид азота (нитрит-анион), пуповинная кровь*

Для цитирования: Дорофиенко Н.Н., Андриевская И.А., Ишутина Н.А. Роль медиаторов воспаления в развитии эндотелиальной дисфункции сосудов пуповины при реактивации латентной цитомегаловирусной инфекции в третьем триместре беременности. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 92-97. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.10.

Role of Inflammatory Mediators in Endothelial Dysfunction of Umbilical Cord Vessels in Pregnant Women after Third-Trimester Nonprimary Cytomegaloviral Infection

Dorofienko N.N., Andrievskaya I.A., Ishutina N.A.

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

Corresponding author: Nikolay N. Dorofienko, e-mail: dorofienko-nn@mail.ru

Abstract

Background. *Endothelial cells are the site of productive replication, hematogenous spread and persistence for a variety of viruses, including cytomegalovirus, which play a critical role in the development of vascular complications associated with cytomegalovirus infection due to developing endothelial dysfunction.*

Aim: *to reveal the role of inflammatory mediators (tumor necrosis factor alpha, interleukin-1β, interleukin-8) in the formation of umbilical cord vascular endothelial dysfunction in reactivation of latent cytomegalovirus infection in the third trimester of pregnancy.*

Material and methods. *The standard method of solid-phase ("sandwich" variant) enzyme immunoassay was carried out to study pro-inflammatory cytokines (tumor necrosis factor alpha, interleukin-1β, -8), endothelin-1, nitrite anion in the blood of the umbilical cord of newborns from mothers who come through reactivation of latent cytomegalovirus infection in the third trimester of pregnancy. The work includes examination data of 78 newborns born at 38–40 weeks of gestation. Among them: 45 newborns were born by CMV-seropositive women with reactivation of latent cytomegalovirus infection in the third trimester of pregnancy (main group) and 33 – by CMV-seronegative women (control group). Umbilical vein blood serum was chosen as the material for the study.*

Results. *In the blood of the umbilical vein of newborns from mothers with reactivation of latent cytomegalovirus infection in the third trimester of pregnancy, a high level of pro-inflammatory cytokines was detected: tumor necrosis factor alpha, interleukin-1β, interleukin-8 ($p < 0.001$) with a simultaneous increase in the content of endothelin-1 and nitrite anion ($p < 0.001$), compared with similar indicators for healthy newborns.*

Conclusion. *Reactivation of latent cytomegalovirus infection in the third trimester of pregnancy is associated with the formation of a systemic fetal inflammatory response determined by a high concentration of inflammatory mediators (tumor necrosis factor alpha, interleukin-1β, interleukin-8) and an increase in vasoactive compounds (endothelin-1 and nitrite-anion) leading to the formation of dysfunction of the vascular endothelium of the umbilical cord.*

Key words: *nonprimary cytomegalovirus infection, newborn children, pro-inflammatory cytokines, endothelin-1, nitric oxide (nitrite anion), umbilical cord blood*

For citation: Dorofienko N.N., Andrievskaya I.A., Ishutina N.A. Role of Inflammatory Mediators in Endothelial Dysfunction of Umbilical Cord Vessels in Pregnant Women after Third-Trimester Nonprimary Cytomegaloviral Infection. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 92-97. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.10.

ОБОСНОВАНИЕ

В настоящее время общепризнано, что цитомегаловирусная (ЦМВ) инфекция, как и другие оппортунистические заболевания, является одной из основных причин невынашивания беременности [1], врождённых дефектов [2], а также различных заболеваний новорождённых и детей раннего возраста [3–5]. При этом отмечается, что первичная ЦМВ инфекция во время гестации (т. е. когда серонегативная беременная впервые инфицируется ЦМВ и происходит сероконверсия), встречается достаточно редко – 0,7–4,1 % случаев. Однако данная ситуация наиболее опасна в плане внутриутробной передачи инфекции плоду. Ещё около 13–14 % серопозитивных женщин во время беременности подвержены вторичной инфекции, которая может представлять собой как активацию латентной инфекции (рецидив), так и реинфекцию новым штаммом вируса [6].

Большое количество научных работ позиционируют эндотелиальную дисфункцию как один из факторов, способствующих возникновению различных осложнений гестационного периода и перинатальной патологии [7, 8]. Нарушение функционального состояния эндотелия и поражение сосудов при вирусных инфекциях не являются новой проблемой, так как характерной чертой генерализованной инфекции является нарушение системы гемостаза [9].

По данным зарубежных авторов, эндотелиальные клетки являются местом продуктивной репликации, гематогенного распространения и персистенции для множества вирусов, включая ЦМВ [10], и играют решающую роль в развитии сосудистых осложнений, связанных с ЦМВ инфекцией, из-за развивающейся эндотелиальной дисфункции [11].

В настоящее время установлено, что различные осложнения периода гестации протекают на фоне функциональной активности иммунных клеток (моноциты, лимфоциты), избыточного синтеза медиаторов воспаления, способствуют повреждению протеинов клеточных мембран и, тем самым, являются потенциальными посредниками дисфункции сосудистого эндотелия [7].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявить роль медиаторов воспаления (фактор некроза опухолей альфа, интерлекин-1β, интерлейкин-8) в развитии дисфункции эндотелия сосудов пуповины при реактивации латентной цитомегаловирусной инфекции в третьем триместре беременности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Проспективное исследование по типу случай-контроль.

На базе Родильного дома ГАУЗ АО «Благовещенская ГКБ» и лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях лёгких ДНЦ ФПД проведено обследование 78 доношенных новорождённых, родившихся в сроке 38–40 недель гестации: 45 детей от ЦМВ-серопозитивных матерей с реактивацией латентной ЦМВ инфекции в третьем триместре беременности (основная группа). Группу контроля составили 33 новорождённых от ЦМВ-серонегативных матерей. Критерии включения в основную группу: наличие у матерей новорождённых антител Ig класса M к ЦМВ, высокоавидных антител класса G (индекс авидности > 65 %), а также ДНК ЦМВ в соскобах с буккального эпителия и в отделяемом цервикального канала, выявленные в третьем триместре беременности. Критерии исключения: наличие у матерей новорождённых маркеров первичной ЦМВ инфекции, которую диагностировали по наличию в крови беременных женщин антител Ig класса M, низкоавидных антител класса G (индекс авидности < 50 %), а также ДНК ЦМВ, выявляемой методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в моче или периферической крови. Для контрольной группы критерием включения был ЦМВ-серонегативный статус матери ребёнка.

Продолжительность исследования

Исследование проводилось в период с 2018 по 2020 г.

Описание медицинского вмешательства

Для исследования использовали:

- сыворотку крови вены пуповины, полученную в первые минуты после родов в стандартные вакуумные пробирки в количестве 5 мл;
- соскоб с буккального эпителия, содержимое цервикального канала, мочу.

Исходы исследования

Основной исход исследования

В результате обработки сыворотки крови вены пуповины новорождённых были получены результаты исследования содержания цитокинов и эндотелиальных факторов; после обработки сыворотки периферической крови матери – уровни антител Ig классов M и G к ЦМВ, низкоавидные антитела Ig класса G к ЦМВ (индекс авидности).

При обработке мочи, крови, соскобов с буккального эпителия и содержимого цервикального канала получены данные о наличие ДНК ЦМВ.

Дополнительных исходов исследования нет.

Методы регистрации исходов

Стандартным методом твердофазного («сэндвич»-вариант) иммуноферментного анализа (ИФА) определяли: 1) антитела Ig класса M и G к ЦМВ, низкоавидные антитела Ig класса G (индекс авидности), уровень интерлейкина-1β (IL-1β), интерлейкина-8 (IL-8) с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск); 2) уровень фактора некроза опухолей альфа (TNFα), используя наборы реактивов ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург); 3) содержание эндотелина-1 (ЭТ-1) (пмоль/л) с помощью стандартного набора реактивов «Biomedica» (Австрия); 4) содержание NO^{2-} (нитрит-аниона) с помощью набора реактивов «Bender MedSystems» (Австрия). Методом ПЦР анализа в режиме реального времени выявляли ДНК ЦМВ на аппарате ДТ-96 («НПО ДНК-технология», Россия).

Мононуклеарные клетки выделяли методом седиментации в одноступенчатом градиенте плотности фиколл-урографина (1,077 г/мл) из периферической крови согласно рекомендациям фирмы-производителя (ООО «НПО ДНК-технология», Россия). Полученные мононуклеары хранили в течение 30 суток при температуре –20 °C.

Сбор средней части утренней порции мочи осуществлялся в стерильный контейнер объёмом 60 мл. Образец буккального эпителия и содержимого цервикального канала забирали стерильным тупфером в стандартные пластиковые пробирки с физиологическим раствором объёмом 0,5 мл.

Забор сыворотки крови вены пуповины осуществлялся в первые минуты после родов в стандартные вакуумные пробирки в количестве 5 мл.

Этическая экспертиза

Исследование проводили с учётом требований Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, 2013 ред.) и Правил клинической практики в РФ, утверждённых приказом Министерства РФ № 200н от 01.04.2016 г. Проведённое исследование одобрено локальным этическим комитетом при ДНЦ ФПД (протокол № 136 от 02.10.2020 г.). Все пациентки подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Статистический анализ

Все вычисления и статистический анализ выполняли с помощью программы IBM SPSS Statistics 18.0 (Statistical Package for the Social Sciences, США). Полученные результаты оценивали методами статистического описания и проверки статистических гипотез. Проверку на соответствие нормальному закону распределения проводили при помощи критерия Колмогорова – Смирнова. Во всех группах распределение было нормальным, поэтому статистическая значимость различий между группами определялась с помощью параметрического *t*-критерия Стьюдента. Значения выражали как среднее арифметическое (*M*) ± ошибка среднего арифметического (*m*). Во всех случаях $p < 0,05$ считали статистически значимым.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Участники исследования

Объектом для исследования явились 78 новорождённых, родившихся в срок 38–40 недель беременности. Из них 45 новорождённых детей от ЦМВ-серопозитивных женщин с реактивацией латентной ЦМВ инфекции в третьем триместре беременности (основная группа) и от 33 ЦМВ-серонегативных женщин (контрольная группа).

Основные результаты исследования

Результаты полученных данных, представленные в таблице, свидетельствуют об общей тенденции повышения уровня провоспалительных цитокинов (TNFα, IL-1β, IL-8) в крови пуповины новорождённых основной группы. Так, в крови пуповины новорождённых основной группы концентрация TNFα увеличивалась в 2,6 раза ($p < 0,001$) по сравнению с данным показателем в контрольной группе (табл. 1). Одновременно наблюдалось повышение концентрации в крови пуповины новорождённых основной группы IL-1β более чем в 2,5 раза ($p < 0,001$) (табл. 1).

Таблица 1

Содержание провоспалительных цитокинов и вазоактивных соединений в пуповинной крови новорождённых от матерей с реактивацией латентной ЦМВ инфекции в третьем триместре беременности (M ± m)

Table 1

The content of pro-inflammatory cytokines and vasoactive compounds in the umbilical cord blood of newborns from mothers with reactivation of latent CMV infection in the third trimester of pregnancy (M ± m)

Показатель	Контрольная группа (*n* = 33)	Основная группа (*n* = 45)
TNFα, пг/мл	27,92 ± 2,4	73,83 ± 2,6* ($p < 0,001$)
IL-1β, пг/мл	22,86 ± 1,9	62,14 ± 2,18* ($p < 0,001$)
IL-8, пг/мл	37,9 ± 2,8	58,9 ± 2,6* ($p < 0,001$)
ЭТ-1, пмоль/л	0,81 ± 0,3	2,56 ± 0,4* ($p < 0,001$)
NO^{2-}, мкмоль/л	12,24 ± 1,0	18,7 ± 1,2* ($p < 0,001$)

Примечание. * – статистически значимые различия с группой контроля.

Аналогичная динамика изменений в крови пуповины новорождённых основной группы была выявлена и для другого медиатора воспаления IL-8, уровень которого превышал показатель нормальных значений в 1,6 раза ($p < 0,001$) (табл. 1). Высокие показатели содержания провоспалительных цитокинов свидетельствовали о выраженном воспалительном ответе у новорождённых от матерей с ЦМВ инфекцией.

Как известно одним из маркеров эндотелиальной дисфункции является ЭТ-1, поэтому следующим этапом нашей работы было изучение его концентрации в крови пуповины новорождённых детей. Согласно данным, представленным в таблице 1, у новорождённых основной группы в крови пуповины определялся более высокий уровень ЭТ-1 по отношению к показателю контрольной группы. При этом у новорождённых основной группы в крови пуповины также был повышен уровень нитрит-

аниона (NO^{2-}) по отношению к аналогичному показателю в контрольной группе (табл. 1).

Таким образом, при реактивации латентной ЦМВ инфекции в третьем триместре беременности в крови пуповины новорождённых определялся высокий уровень медиаторов воспаления и вазоактивных веществ, способствующих развитию дисфункции эндотелия.

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме основного результата исследования

Полученные данные свидетельствуют о роли медиаторов воспаления в формировании дисфункции эндотелия сосудов пуповины у новорождённых от матерей с реактивацией латентной ЦМВ инфекции в третьем триместре беременности.

Обсуждение основного результата исследования

В крови пуповины новорождённых от матерей, перенёсших в третьем триместре беременности реактивацию латентной ЦМВ инфекции, выявлялся достаточно высокий уровень провоспалительных цитокинов (TNFα, IL-1β, IL-8). Повышенный уровень циркулирующих TNFα, IL-1β и IL-8 негативно действует на эндотелиальные клетки сосудов [12], изменяет продукцию оксида азота (NO) [13], способствует развитию эндотелиальной дисфункции [14]. Высокое содержание медиаторов воспаления (TNFα, IL-1β) у новорождённых с внутриутробной инфекцией выявлено и другими исследователями [15–17], что ещё раз подтверждает их участие в повреждении сосудистого эндотелия.

TNFα играет важную роль в нарушении макро- и микрососудистого кровообращения [18]. Данный цитокин регулирует экспрессию эндотелиального гена ключевого фибринолитического фермента тканевого активатора плазминогена (t-PA), тем самым снижает фибринолитическую способность эндотелиальных клеток сосудов за счёт NF-kB и p38 MAPK-зависимого подавления t-PA [19].

IL8 высоко экспрессируется и высвобождается повреждённой сосудистой сетью и функционирует как хемоаттрактант для нейтрофилов, которые экспрессируют рецепторы IL-8 A и B (IL8RA/B) (также называемые CXCR1 и CXCR2 соответственно) на своих мембранах. Нейтрофилы взаимодействуют с повреждённым эндотелием в месте повреждения и инициируют провоспалительный каскад, вызывая рекрутирование моноцитов/макрофагов и Т-клеток в повреждённый сосуд [20]. По другим данным, IL-8 осуществляет регуляцию ангиогенных процессов и реэндотелизацию [21].

Важным соединением, обладающим вазоконстрикторным действием, является ЭТ-1 [8, 22], количественное содержание которого в крови пуповины, по данным литературы, отражает уровень эндотелиальной дисфункции [23]. Более высокий уровень ЭТ-1 у новорождённых младенцев в основной группе может свидетельствовать об изменении структуры или нарушении функциональной активности эндотелиоцитов, возникающей ещё до момента рождения, что в дальнейшем может сказаться на течении раннего неонатального периода.

Выраженные изменения функциональной активности сосудистого эндотелия наблюдаются при гипоксии и окислительном стрессе, развивающихся при патологическом течении гестационного периода [24]. При этом было показано, что окислительный стресс связан с изменениями как путей передачи сигналов ЭТ-1, так и NO [22]. Известно, что активные формы кислорода (АФК), образующиеся при окислительном стрессе, регулируют клеточный уровень ЭТ-1 и способствуют его секреции. Также показано, что окислительный стресс снижает биодоступность NO, способствуя усилению передачи сигналов ЭТ-1 [25].

Повышение уровня провоспалительных цитокинов (TNFα, IL-1β, IL-6, IFN-γ) происходит за счёт активации пути NF-κB, который вместе с IκK контролирует глобальный провоспалительный ответ в эндотелиальных клетках [26] и действует как эффективный «преобразователь для прямой активации» окислительного стресса и воспалительной передачи сигналов, что впоследствии приводит к эндотелиальной дисфункции за счёт увеличения активности АФК, опосредованной НАДФН-оксидазой, и активации провоспалительных цитокинов, таких как IL-6 и TNFα [27].

Нежелательные явления

В ходе проведения данного исследования какие-либо нежелательные явления отсутствовали.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исходя из вышеизложенного можно заключить, что реактивация латентной ЦМВ инфекции в третьем триместре беременности сопряжена с формированием системного фетального воспалительного ответа, определяемого высокой концентрацией медиаторов воспаления (TNFα, IL-1β, IL-8) и повышением вазоактивных соединений (ЭТ-1 и нитрит-анион), приводящих к формированию дисфункции эндотелия сосудов пуповины.

Источник финансирования

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Левкович А.Ю., Афонин А.А., Левкович М.А., Кравченко Л.В. Оценка состояния врождённого иммунного ответа у новорождённых с генерализованной герпетической инфекцией. *Медицинский вестник Юга России*. 2013; (4): 92-94. doi: 10.21886/2219-8075-2013-4-92-94

2. Bughio F, Umashankar M, Wilson J, Goodrum F. Human cytomegalovirus ul135 and ul136 genes are required for postentry tropism in endothelial cells. *J Virol.* 2015; 89(13): 6536-6550. doi: 10.1128/JVI.00284-15

3. Карпова А.Л., Нароган М.В., Карпов Н.Ю. Врождённая цитомегаловирусная инфекция: диагностика, лечение и профилактика. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2017; 62(1): 10-18. doi: 10.21508/1027-4065-2017-62-1-10-18

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

5. Schaefer MR, Holttum J, Olson M, Westenberg D, Rubin N, Schleiss MR, et al. Development and assessment of a prenatal cytomegalovirus (CMV) educational survey: Implementation and impact in a metropolitan university-based clinic. *Int J Womens Health*. 2020. 12: 1205-1214. doi: 10.2147/IJWH.S276214

6. Баранова И.П., Коннова О.А., Керимова Ж.Н., Лесина О.Н., Никольская М.В., Краснова Л.И. *Цитомегаловирусная инфекция*. Пенза; 2008.

7. Хлипунова Д.А., Панова И.А., Кудряшова А.В., Попова И.Г. Экспрессия молекул межклеточной адгезии и эндотелиальная

дисфункция у беременных женщин с гипертензивными нарушениями. *Мать и дитя в Кузбассе*. 2014; 2(57): 126-126.

8. Шатунова Е.П., Линева О.И. Роль показателей системы гемостаза и эндотелиальной дисфункции в оценке степени тяжести и прогнозирования развития ДВС-синдрома у беременных с гриппом А(H1N1). *Практическая медицина*. 2019; 17(4): 57-61. doi: 10.32000/2072-1757-2019-4-57-61

9. Greco E, Lupia E, Bosco O, Vizio B, Montrucchio G. Platelets and multi-organ failure in sepsis. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(10): 2200. doi: 10.3390/ijms18102200

10. Fiorentini S, Luganini A, Dell'Oste V, Lorusso B, Cervi E, Caccuri F, et al. Human cytomegalovirus productively infects lymphatic endothelial cells and induces a secretome that promotes angiogenesis and lymphangiogenesis through interleukin-6 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *J Gen Virol*. 2011; 92(Pt 3): 650-660. doi: 10.1099/vir.0.025395-0

11. Gombos RB, Wolan V, McDonald K, Hemmings DG. Impaired vascular function in mice with an active cytomegalovirus infection. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2009; 296(4): H937-945. doi: 10.1152/ajpheart.01027.2008

12. Дорофиенко Н.Н., Андриевская И.А., Ишутина Н.А. Провоспалительные цитокины и состояние эндотелия сосудов пуповины при цитомегаловирусной инфекции. *Сибирский медицинский журнал* (Иркутск). 2015; 1: 58-61.

13. Higashi Y, Noma K, Yoshizumi M, Kihara M. Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases. *Circulation J.* 2009; 1(16): 524-526. doi: 10.1253/circj.CJ-08-1102

14. Мороз В.В., Перепелица С.А., Голубев А.М., Голубев М.А. Цитокины – маркеры иммунореактивности у недоношенных новорождённых. *Общая реаниматология*. 2011; 7(5): 36-41.

15. Ешмолов С.Н., Ситников И.Г., Мельникова И.М. Цитокины ФНО-α, ИФН-γ, ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-8 и их роль в иммунном ответе при инфекционном поражении ЦНС у детей. *Детские инфекции*. 2018; 17(1): 17-22. doi: 10.22627/2072-8107-2018-17-1-17-22

16. Рагимова Н.Д., Гулиев Н.Д. Клинико-иммуногенетические особенности новорождённых с перинатальными инфекциями. *Казанский медицинский журнал*. 2017; 98(3): 362-369. doi: 10.17750/KMJ2017-362

17. Кравченко Л.В. Роль нарушений активации Т-лимфоцитов у новорождённых с цитомегаловирусной инфекцией в случаях позднего обнаружения ДНК цитомегаловируса. *Инфекция и иммунитет*. 2019; 9(2): 288-294. doi: 10.15789/2220-7619-2019-2-288-294

18. Liao Z, Cai H, Xu Z, Wang J, Qiu C, Xie J. et al. Protective role of antioxidant huskless barley extracts on TNF-α-induced endothelial dysfunction in human vascular endothelial cells. *Oxid Med Cell Longev.* 2018; 2018: 3846029. doi: 10.1155/2018/3846029

19. Ulfhammer E, Larsson P, Karlsson L, Hrafnkelsdóttir T, Bokarewa M, Tarkowski A., et al. TNF-alpha mediated suppression of tissue type plasminogen activator expression in vascular endothelial cells is NF-kB- and p38 MAPK-dependent. *J Thromb Haemost*. 2006; 4(8): 1781-1789. doi: 10.1111/j.1538-7836.2006.02035.x

20. Giordano S, Zhao X, Xing D, Hage F, Oparil S, Cooke JP, et al. Targeted delivery of human iPS-ECs overexpressing IL-8 receptors inhibits neointimal and inflammatory responses to vascular injury in the rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2016. 15; 310(6): H705-715. doi: 10.1152/ajpheart.00587.2015

21. Al-Khalaf HH, Al-Harbi B, Al-Sayed A, Arafah M, Tulbah A, Jarman A, et al. Interleukin-8 activates breast cancer-associated adipocytes and promotes their angiogenesis- and tumorigenesis-promoting effects. *Mol Cell Biol.* 2019; 39(2): e00332-18. doi: 10.1128/MCB.00332-18

22. Stefanov G, Briyal S, Pais G, Puppala B, Gulati A. Relationship between oxidative stress markers and endothelin-1 levels in newborns of different gestational ages. *Front Pediatr.* 2020; 8: 279. doi: 10.3389/fped.2020.00279

23. Левченко Л.А., Клименко Т.М., Хмелевская И.Г. Медиаторы эндотелиальной дисфункции у недоношенных новорождённых с респираторным дистрессом. *Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье*. 2015; 2: 38-42.

24. Possomato-Vieira JS, Khalil RA. Mechanisms of endothelial dysfunction in hypertensive pregnancy and preeclampsia. *Adv Pharmacol.* 2016; 77: 361-431. doi: 10.1016/bs.apha.2016.04.008

25. Cerrato R, Cunnington C, Crabtree MJ, Antoniades C, Pernow J, Channon KM. et al. Endothelin-1 increases superoxide production in human coronary artery bypass grafts. *Life Sci.* 2012; 91(13-14): 723-728. doi: 10.1016/j.lfs.2012.03.024

26. Mussbacher M, Salzmann M, Brostjan C, Hoesel B, Schoergenhofer C, Datler H, et al. Cell type-specific roles of NF-κB linking inflammation and thrombosis. *Front Immunol*. 2019; 10: 85. doi: 10.3389/fimmu.2019.00085

27. Donato AJ, Pierce GL, Lesniewski LA, Seals DR. Role of NFkappaB in age-related vascular endothelial dysfunction in humans. *Aging (Albany NY)*. 2009; 1(8): 678-680. doi: 10.18632/aging.100080

REFERENCES

1. Levkovich AYu, Afonin AA, Levkovich MA, Kravchenko LV. Assessment of the state of the innate immune response in newborns with generalized herpes infection. *Meditsinskiy vestnik Yuga Rossii.* 2013; (4): 92-94. (In Russ.). doi: 10.21886/2219-8075-2013-4-92-94

2. Bughio F, Umashankar M, Wilson J, Goodrum F. Human cytomegalovirus ul135 and ul136 genes are required for postentry tropism in endothelial cells. *J Virol.* 2015; 89(13): 6536-6550. doi: 10.1128/JVI.00284-15

3. Karpova AL, Narogan MV, Karpov NYu. Congenital cytomegalovirus infection: Diagnosis, treatment and prevention. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii*. 2017; 62(1): 10-18. (In Russ.). doi: 10.21508/1027-4065-2017-62-1-10-18

4. Petrova KK. Assessment of the relative risk of intrauterine fetal infection with cytomegalovirus infection in early pregnancy. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 44-51. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.6

5. Schaefer MR, Holttum J, Olson M, Westenberg D, Rubin N, Schleiss MR, et al. Development and assessment of a prenatal cytomegalovirus (CMV) educational survey: Implementation and impact in a metropolitan university-based clinic. *Int J Womens Health*. 2020. 12: 1205-1214. doi: 10.2147/IJWH.S276214

6. Baranova IP, Konnova OA, Kerimova ZhN, Lesina ON, Nikol'skaya MV, Krasnova LI. *Cytomegalovirus infection*. Penza; 2008. (In Russ.)

7. Khlipunova DA, Panova IA, Kudryashova AV, Popova IG. Expression of intercellular adhesion molecules and endothelial dysfunction in pregnant women with hypertensive disorders. *Mat' i ditya v Kuzbasse*. 2014; 2(57): 126-126. (In Russ.)

8. Shatunova EP, Lineva OI. The role of indicators of the hemostasis system and endothelial dysfunction in assessing the severity and predicting the development of disseminated intravascular coagulation in pregnant women with influenza A (H1N1) *Prakticheskaya meditsina.* 2019; 17(4): 57-61. (In Russ.). doi: 10.32000/2072-1757-2019-4-57-61

9. Greco E, Lupia E, Bosco O, Vizio B, Montrucchio G. Platelets and multi-organ failure in sepsis. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(10): 2200. doi: 10.3390/ijms18102200

10. Fiorentini S, Luganini A, Dell'Oste V, Lorusso B, Cervi E, Caccuri F, et al. Human cytomegalovirus productively infects lymphatic endothelial cells and induces a secretome that promotes angiogenesis and lymphangiogenesis through interleukin-6 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *J Gen Virol*. 2011; 92(Pt 3): 650-660. doi: 10.1099/vir.0.025395-0

11. Gombos RB, Wolan V, McDonald K, Hemmings DG. Impaired vascular function in mice with an active cytomegalovirus infection. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2009; 296(4): H937-945. doi: 10.1152/ajpheart.01027.2008

12. Dorofiyenko NN, Andriyevskaya IA, Ishchtina NA. Proinflammatory cytokines and the state of the umbilical cord vascular endothelium in cytomegalovirus infection. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk).* 2015; 1: 58-61. (In Russ.)

13. Higashi Y, Noma K, Yoshizumi M, Kihara M. Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases. *Circulation J.* 2009; 1(16): 524-526. doi: 10.1253/circj.CJ-08-1102.

14. Moroz VV, Perepelitsa SA, Golubev AM, Golubev MA. Cytokines – markers of immunoreactivity in premature newborns. *Obshchaya reanimatologiya.* 2011; 7(5): 36-41. (In Russ.)

15. Eshmolov SN, Sitnikov IG, Mel'nikova IM. Cytokines TNF-α, IFN-γ, IL-1, IL-4, IL-8 and their role in the immune response in infectious CNS lesions in children. *Detskiye infektsii*. 2018; 17(1): 17-22. (In Russ.). doi: 10.22627/2072-8107-2018-17-1-17-22

16. Ragimova ND, Guliyev ND. Clinical and immunogenetic features of newborns with perinatal infections. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal.* 2017; 98(3): 362-369. (In Russ.). doi: 10.17750/KMJ2017-362

17. Kravchenko LV. The role of violations of T-lymphocyte activation in newborns with cytomegalovirus infection in cases of late detection of cytomegalovirus DNA. *Infektsiya i immunitet.* 2019; 9(2): 288-294. (In Russ.). doi: 10.15789/2220-7619-2019-2-288-294

18. Liao Z, Cai H, Xu Z, Wang J, Qiu C, Xie J, et al. Protective role of antioxidant huskless barley extracts on TNF-α-induced endothelial dysfunction in human vascular endothelial cells. *Oxid Med Cell Longev.* 2018; 2018: 3846029. doi: 10.1155/2018/3846029

19. Ulfhammer E, Larsson P, Karlsson L, Hrafnkelsdóttir T, Bokarewa M, Tarkowski A, et al. TNF-alpha mediated suppression of tissue type plasminogen activator expression in vascular endothelial cells is NF-kB- and p38 MAPK-dependent. *J Thromb Haemost*. 2006; 4(8): 1781-1789. doi: 10.1111/j.1538-7836.2006.02035.x

20. Giordano S, Zhao X, Xing D, Hage F, Oparil S, Cooke JP. et al. Targeted delivery of human iPS-ECs overexpressing IL-8 receptors inhibits neointimal and inflammatory responses to vascular injury in the rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2016. 15; 310(6): H705-715. doi: 10.1152/ajpheart.00587.2015

21. Al-Khalaf HH, Al-Harbi B, Al-Sayed A, Arafah M, Tulbah A, Jarman A, et al. Interleukin-8 activates breast cancer-associated adipocytes and promotes their angiogenesis- and tumorigenesis-promoting effects. *Mol Cell Biol.* 2019; 39(2): e00332-18. doi: 10.1128/MCB.00332-18

22. Stefanov G, Briyal S, Pais G, Puppala B, Gulati A. Relationship between oxidative stress markers and endothelin-1 levels in newborns of different gestational ages. *Front Pediatr.* 2020; 8: 279. doi: 10.3389/fped.2020.00279

23. Levchenko LA, Klimenko TM, Khmelevskaya IG. Mediators of endothelial dysfunction in premature infants with respiratory distress. *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik Chelovek i ego zdorov'ye.* 2015; 2: 38-42. (In Russ.)

24. Possomato-Vieira JS, Khalil RA. Mechanisms of endothelial dysfunction in hypertensive pregnancy and preeclampsia. *Adv Pharmacol.* 2016; 77: 361-431. doi: 10.1016/bs.apha.2016.04.008

25. Cerrato R, Cunnington C, Crabtree MJ, Antoniades C, Pernow J, Channon KM, et al. Endothelin-1 increases superoxide production in human coronary artery bypass grafts. *Life Sci.* 2012; 91(13-14): 723-728. doi: 10.1016/j.lfs.2012.03.024

26. Mussbacher M, Salzmann M, Brostjan C, Hoesel B, Schoergenhofer C, Datler H, et al. Cell type-specific roles of NF-κB linking inflammation and thrombosis. *Front Immunol*. 2019; 10: 85. doi: 10.3389/fimmu.2019.00085

27. Donato AJ, Pierce GL, Lesniewski LA, Seals DR. Role of NFkappaB in age-related vascular endothelial dysfunction in humans. *Aging (Albany NY).* 2009; 1(8): 678-680. doi: 10.18632/aging.100080

Сведения об авторах

Николай Николаевич Дорофиенко – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях лёгких, ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», e-mail: dorofienko-nn@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7467-4652

Андриевская Ирина Анатольевна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях лёгких, ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru, https://orcid.org/0000-0003-0212-0201

Ишутина Наталия Александровна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях лёгких, ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», e-mail: ishutina-na@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-1024-1532

Information about the authors

Nikolay N. Dorofienko – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Etiopathogenesis of Mechanisms and Recovery Processes of the Respiratory System in Non-specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, e-mail: dorofienko-nn@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7467-4652

Irina A. Andrievskaya – Dr. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System in Non-specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, e-mail: irina-andrievskaja@rambler.ru, https://orcid.org/0000-0003-0212-0201

Nataliya A. Ishutina – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery Processes of the Respiratory System in Non-specific Lung Diseases, Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, e-mail: ishutina-na@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-1024-1532

Статья получена: 25.02.2021. Статья принята: 22.04.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 25.02.2021. Accepted: 22.04.2021. Published: 15.06.2021.

ОНКОЛОГИЯ
ONCOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.11

Перспективные диагностические маркёры рака толстой кишки

Волков С.В., Лобанов С.Л.

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

Автор, ответственный за переписку: Волков Степан Владимирович, e-mail: vsv_19@mail.ru

Резюме

Обоснование. *Заболеваемость раком толстой кишки (РТК) за последнее десятилетие заметно растёт в Российской Федерации, при этом около 50 % случаев выявляется на III–IV стадии болезни, когда появляется отчётливая клиническая картина заболевания. В связи с этим поиск новых методов дополнительной диагностики РТК, несомненно, является актуальным.*

***Цель исследования*:** *определить стандартный состав аэробной пристеночной толстокишечной микробиоты и уровень цитокинов (хемокинов и факторов роста) у больных раком левой половины толстой кишки и оценить возможность использования этих данных в диагностике опухолевого процесса.*

Методы. *Исследование крови осуществлялось в день исследования с помощью двух тест-систем (BioLegend): мультиплексного набора для определения факторов роста и мультиплексного набора для определения хемокинов. Состав кишечной микробиоты определялся в биоптатах толстой кишки бактериологическим методом с использованием стандартных тест-систем StaphyTest, StreptoTest и EnteroTest.*

Результаты. *Прослеживается рост количества Clostridium spp. и снижение Bifidobacterium spp., E. coli в толстой кишке в процессе трансформации слизистой здорового человека в злокачественную опухоль ($p < 0,05$); выявлена чёткая тенденция как увеличения (EGF, HGF, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, IP-10), так и уменьшения (MCP-1, RANTES) уровня хемокинов и факторов роста в условиях РТК. Кроме общих количественных изменений кишечной микробиоты, уровня исследуемых веществ, установлена статистически значимая зависимость от пола, возраста пациента, а также степени дифференцировки и формы роста опухоли.*

Заключение. *Установлено, что изменения количественного состава кишечной микробиоты, уровня некоторых биологически активных веществ, возникающие именно в условиях РТК, могут быть взаимосвязаны и взаимозависимы, а также служить дополнительным диагностическим маркёром при выявлении злокачественной опухоли.*

Ключевые слова: *рак толстой кишки, хемокины, факторы роста, диагностические маркеры, кишечная микробиота, биоптат толстой кишки, опухолевая ткань*

Для цитирования: Волков С.В., Лобанов С.Л. Перспективные диагностические маркёры рака толстой кишки. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 98-104. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.11.

Promising Diagnostic Markers of Colon Cancer

Volkov S.V., Lobanov S.L.

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

Corresponding author: Stepan V. Volkov, e-mail: vsv_19@mail.ru

Abstract

Background. *The incidence of colon cancer over the past decade has been growing markedly in the Russian Federation, with about 50 % cases detected at stages III–IV of the disease, when a clear clinical picture of the disease appears. In this regard, the search for new methods for early diagnosis of RTK is undoubtedly relevant.*

Objective. *To determine the standard composition of the aerobic parietal colon microbiota and the level of cytokines (chemokines and growth factors) in patients with cancer of the left half of the colon and to assess the possibility of using these data in the diagnosis of the tumor process.*

Materials and methods. *Blood tests were performed on the day of the study using two test systems (BioLegend): multiplex kit for determining growth factors, chemokine multiplex kit. The composition of the intestinal microbiota was determined in colon biopsy specimens by the bacteriological method using the standard test systems StaphyTest, StreptoTest, and EnteroTest.*

Results. *There is an increase in the number of Clostridium spp. and a decrease in Bifidobacterium spp., E. coli in the colon during the transformation of a healthy person's mucosa into a malignant tumor ($p < 0.05$); a clear tendency was revealed for both an increase (EGF, HGF, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, IP-10) and a decrease (MCP-1, RANTES) of the level of chemokines and growth factors under colon cancer conditions. In addition to general quantitative changes in the in-*

testinal microbiota, the level of the investigated substances, a statistically significant dependence was established on the sex, age of the patient, as well as the degree of differentiation and form of tumor growth.
***Conclusion**. It was established that changes in the quantitative composition of the intestinal microbiota, the level of some biologically active substances that occur precisely in the conditions of colon cancer, can be interconnected and interdependent, and also serve as an additional diagnostic marker in the detection of a malignant tumor.*

***Key words:** colon cancer, chemokines, growth factors, diagnostic markers, intestinal microbiota, colon biopsy specimen, tumor tissue*

For citation: Volkov S.V., Lobanov S.L. Promising Diagnostic Markers of Colon Cancer. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 98-104. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.11.

ВВЕДЕНИЕ

Ранняя диагностика рака толстой кишки (РТК) представляет сложную проблему, связанную с длительным бессимптомным течением. Заболеваемость РТК в Российской Федерации за последнее десятилетие заметно растёт, при этом около 50 % случаев РТК выявляется на III–IV стадии болезни, когда появляется отчётливая клиническая картина заболевания (Ассоциация онкологов России, 2019 г.). В связи с этим, поиск новых методов ранней диагностики РТК, несомненно, является актуальным.

Обнаружено, что бактерии *Salmonella enterica* могут модулировать иммунный ответ хозяина, способствуя канцерогенезу за счёт повреждения ДНК, *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* проявляет антиканцерогенную активность, а ETBF – токсин, выделяемый *Bacteroides fragilis*, уже ассоциирован с раком толстой кишки [1, 2]. Так, в ряде исследований установлено, что уровень некоторых хемокинов (CXCL2, CXCL3, CXCL4, CXCL5, CXCL9, CXCL10, CXCL11) [3–5] и факторов роста (EGF, HGF, TGF-β, VEGF, PDGF, IP-10, FGF-2, G-CSF, GM-CSF, MCP-1, MIP-1α и β, RANTES TNFα и VEGF-A) [5–8] значительно отличается при РТК относительно контрольной группы. Указанные данные могут свидетельствовать о возможной взаимосвязи этих показателей, а также перспективе использования их в качестве вероятных маркёров опухолевого процесса.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определить стандартный состав аэробной пристеночной толстокишечной микробиоты и уровень цитокинов (хемокинов и факторов роста) у больных раком левой половины толстой кишки (РТК) и оценить возможность использования этих данных в диагностике опухолевого процесса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Основная группа включала 63 пациента, оперированных по поводу рака (аденокарциномы) левой половины ободочной кишки (нисходящий, сигмовидный, ректосигмоидный отделы) с I $T_{1-2}N_0M_0$, II $T_{3-4a}N_0M_0$, III $T_{1-2}N_1M_0$ стадиями опухолевого процесса без признаков кишечной непроходимости. Только у пяти пациентов был выявлен метастаз в одном регионарном лимфоузле. Остальные пациенты были без регионарного метастазирования. У всех пациентов до госпитализации опухоль была подтверждена посредством колоноскопии с последующим гистологическим исследованием. Среди них 31 мужчина и 32 женщины в возрасте от 20 до 75 лет. Средний возраст пациентов составил 57,7 ± 3,8 года. Группу клинического сравнения в количестве 25 человек составили пациенты с хроническим геморроем вне обострения, которым проводилась колоноскопия со взятием биопсии в левой половине толстой кишки. Пациенты основной и группы клинического сравнения дали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Разрешение локального этического комитета получено.

Забор крови у пациентов основной группы осуществлялся в день операции до её начала. У пациентов группы клинического сравнения кровь брали после подтверждения отсутствия патологии толстой кишки (после колоноскопии). Исследование крови осуществлялось с помощью двух тест-систем (BioLegend): мультиплексного набора для определения факторов роста (Angiopoietin-2, (Ang-2), EGF, EPO, FGF-basic, G-CSF, GM-CSF, HGF, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, SCF, TGF-α, VEGF), мультиплексного набора для определения хемокинов (MCP-1 (CCL2), RANTES (CCL5), IP-10 (CXCL10), Eotaxin (CCL11), TARC (CCL17), MIP-1α (CCL3), MIP-1β (CCL4), MIG (CXCL9), MIP-3α (CCL20), ENA-78 (CXCL5), GROα (CXCL1), I-TAC (CXCL11) и IL-8 (CXCL8)).

Забор материала основной группы, биоптаты опухолевой ткани и визуально неизменённой слизистой толстой кишки, осуществлялся интраоперационно во время удаления опухоли: первый биоптат был представлен опухолевой тканью, второй – визуально неизменённой слизистой толстой кишки проксимальнее опухоли на 10 см. У пациентов группы клинического сравнения забор материала осуществлялся в процессе колоноскопии. Выявление хеликобактерной инфекции в биоптате слизистой осуществлялось с помощью определения уреазной активности тест-системой ХЕЛПИЛ, а также методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с детекцией результатов в режиме реального времени (PCR-RT). Состав кишечной микробиоты определялся бактериологическим методом с использованием стандартных тест-систем StaphyTest, StreptoTest и EnteroTest (LaChema, Чехия).

СТАТИСТИКА

Статистическая обработка полученных данных выполнялась при помощи программы Statistica, версия 10.0., с поправками на множественные сравнения.

Проверка нормальности распределения значений переменных в группах наблюдения проводилась с использованием критерия Шапиро – Уилка, распределение принималось нормальным, если $p > 0,05$. Для оценки значимости статистических различий между исследуемыми группами при отсутствии нормального распределения переменных использовали непараметрический ранговый критерий Вилкоксона.

Сила корреляции оценивалась как статистически значимая при $p < 0,05$. Для анализа корреляционной связи между исследуемыми признаками применялся коэффициент корреляции Пирсона (для нормально распределённых переменных) и коэффициент корреляции Спирмена (если распределение переменных отличалось от нормального). Сила корреляционной связи между признаками оценивалась по коэффициенту *r*.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате сравнения картины крови онкологических больных и группы клинического сравнения выявлены отличия количественного состава некоторых хемокинов и факторов роста (табл. 1, 2).

Наряду с этим, выявлена чёткая тенденция как увеличения (EGF, HGF, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, IP-10), так и уменьшения (MCP-1, RANTES) уровня хемокинов и факторов роста в условиях рака толстой кишки (РТК). В среднем у онкологических пациентов уровень таких сравниваемых веществ, как EGF, HGF, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, IP-10, был выше, а MCP-1, RANTES – ниже, чем в контрольной группе в несколько раз, что является статистически значимым ($p < 0,05$). Самое большое отличие (более чем в 10 раз) установлено по уровню PDGF-AA и RANTES.

В нашей работе изучен уровень исследуемых веществ в зависимости от пола (табл. 3, 4), возраста пациентов (табл. 5), а также степени дифференцировки (табл. 6) и формы роста опухоли (табл. 7). Установлено, что в основной группе у мужчин уровень I-TAC выше, а VEGF ниже, чем у женщин. В контрольной группе у мужчин уровень ENA-78, IP-10, IL-8 выше, чем у женщин. Указанные гендерные отличия являются статистически значимыми.

Таблица 1

Факторы роста (средние значения, пг/мл)

Table 1

Growth factors (average values, pg/ml)

Факторы роста	Пациенты		*p*
	Группа клинического сравнения* (*n* = 25)	Основная группа* (*n* = 63)	
Angioprotein-2	9,82 [7,59–13,5]	9,05 [5,66–13,9]	0,76
EGF	178 [77,4–312]	299 [186–741]	0,006
EPO	147 [103–344]	409 [308–496]	< 0,0001
FGF-basic	8,66 [8,24–9,64]	9,51 [9,04–10,3]	0,0005
G-CSF	15,5 [10,6–26]	23,1 [11–38,6]	0,12
GM-CSF	3,06 [2,71–3,45]	3,04 [2,82–3,51]	0,59
HGF	70,4 [46,3–104]	306 [166–529]	< 0,0001
M-CSF	56,5 [44,6–98,7]	113 [65,9–204]	0,0002
PDGF-AA	1250 [672–5750]	12000 [2320–22000]	0,003
PDGF-BB	4340 [3530–17000]	14300 [6670–22500]	0,022
CSF	36,8 [22,4–76,7]	59,8 [21,5–120]	0,20
TGF-α	7,63 [6,98–8,25]	7,39 [6,58–8,56]	0,73
VEGF	290 [224–723]	600 [410–852]	0,044

Примечание. * – *Me* [P25–P75]; сравнение групп по критерию Уилкоксона.

Таблица 2

Хемокины (средние значения средние значения, пг/мл)

Table 2

Chemokines (average values, pg/ml)

Хемокины	Пациенты		*p*
	Группа клинического сравнения* (*n* = 25)	Основная группа* (*n* = 63)	
IL-8	18 [16,4–19,3]	17,4 [16,4–18,9]	0,52
IP-10	33,3 [20,8–52,4]	35 [25,6–51,6]	0,60
Eotaxin	53,7 [43,1–74]	59,7 [48,5–70,2]	0,84
TARC	112 [60,2–239]	73,1 [53,2–101]	0,022
MCP-1	50,3 [30,5–91,1]	28,2 [20,5–51,4]	0,023
RANTES	33,9 [15,6–53]	62,3 [40,5–95,9]	0,0003
MIP-1a	10500 [1760–11100]	870 [610–1630]	0,0005
MIG	3,1 [2,78–19,3]	14,3 [2,92–32,6]	0,15
ENA-78	6,21 [5,33–6,64]	6,13 [5,54–7,51]	0,72
MIP-3a	53,3 [28,5–92,9]	12,2 [4,58–46,2]	0,005
GROa	79,9 [74,1–85,1]	78,6 [73,4–89,5]	0,74
I-TAC	18,5 [10,8–31,2]	24 [9,94–50,1]	0,40
MIP-1b	42,9 [40,3–46,8]	42,9 [41,2–45,5]	0,88

Примечание. * – *Me* [P25–P75]; сравнение групп по критерию Уилкоксона.

Таблица 3

Уровень исследуемых веществ у мужчин и женщин с РТК (пг/мл)

Table 3

The level of test substances in men and women with colon cancer (pg/ml)

Исследуемые вещества	Женщины* (*n* = 32)	Мужчины* (*n* = 31)	*p*
I-TAC	12,1 [11,33–30,15]	37,4 [18,2–47,12]	0,013
VEGF	733 [406–866]	414 [209–697]	0,011

Примечание. * – *Me* [P25–P75]; сравнение групп по критерию Уилкоксона.

Таблица 4

Уровень исследуемых веществ у мужчин и женщин контрольной группы (пг/мл)

Table 4

The level of test substances in men and women of the control group (pg/ml)

Исследуемые вещества	Женщины* (*n* = 12)	Мужчины* (*n* = 13)	*p*
I-TAC	14,4 [9,02–38,5]	33,2 [14–51,3]	0,017
ENA-78	6,04 [5,33–6,52]	6,3 [5,81–8,01]	0,048
IP-10	31,1 [22–47,7]	44,4 [28,2–55,1]	0,046
IL-8	17,3 [16,3–18,2]	18,5 [16,9–20]	0,027

Примечание. * – *Me* [P25–P75]; сравнение групп по критерию Уилкоксона.

Таблица 5

Уровень исследуемых веществ у пациентов разных возрастных групп (пг/мл)

Table 5

The level of test substances in patients of different age groups (pg/ml)

Пациенты	Факторы роста	Возрастная группа*		*p*
		20–49 лет	50–75 лет	
Основная группа (*n* = 63)	Ang-2	3,8 [2,8–10,3]	12,7 [6,6–13,68]	0,022
	G-CSF	10,7 [4,5–19,6]	26,4 [13,5–76]	0,04
Группа клинического сравнения (*n* = 25)	EPO	104,54 [56,12–148,2]	245,6 [177,3–853,43]	0,037
	M-CSF	43,3 [40,6–81,8]	95,2 [59,1–697,2]	0,013
	PDGF-AA	661,7 [140,1–956,8]	4222,8 [908,22–10583,76]	0,037
	PDGF-BB	3310,72 [2702,6–5031,3]	12074,8 [1332,2–15353,58]	0,022
	VEGF	234,52 [122,9–541,2]	536 [342,14–879,99]	0,051

Примечание. * – *Me* [P25–P75]; сравнение групп по критерию Уилкоксона.

Таблица 6

Уровень исследуемых веществ у пациентов с разной степенью дифференцировки (пг/мл)

Table 6

The level of test substances in patients with different degrees of differentiation (pg/ml)

Исследуемые вещества	Высокодифференцированная опухоль* (*n* = 14)	Умеренно дифференцированная опухоль* (*n* = 46)	*p*
TGF-α	8,57 [7,44–9,57]	7,32 [6,56–8,15]	0,015
HGF	427 [309–785]	238 [151–511]	0,014
Eotaxin	64,4 [55,1–73,4]	53,7 [47,8–65,9]	0,026
MIP-1β	41,6 [38,4–42,3]	43,2 [41,4–46,1]	0,024
GROα	74,6 [40,3–78,7]	79,7 [75,1–90,3]	0,043

Примечание. * – *Me* [P25–P75]; сравнение групп по критерию Уилкоксона.

Таблица 7

Уровень исследуемых веществ у пациентов с разной формой роста опухоли (пг/мл)

Table 7

The level of test substances in patients with different forms of tumor growth (pg/ml)

Факторы роста	Инфильтративно-язвенная форма* (*n* = 48)	Экзофитная форма* (*n* = 14)	*p*
G-CSF	18,8 [10,9–28,7]	46,1 [18,5–91,5]	0,039
HGF	261 [164–453]	533 [308–715]	0,038
TGF-α	7,28 [6,52–8,16]	8,32 [7,35–12,7]	0,021

Примечание. * – *Me* [P25–P75]; сравнение групп по критерию Уилкоксона.

Пациенты основной и контрольной группы были условно разделены на две возрастные группы (20–49 и 50–75 лет). Именно данный возрастной диапазон наиболее ярко показывает разницу между основной и контрольной группами по уровню исследуемых веществ. У пациентов с РТК после 50 лет увеличивался уровень Ang-2, G-CSF, а у представителей контрольной группы – EPO, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB и VEGF. Таким образом, установлены статистически значимые возрастные и гендерные отличия пациентов с РТК от практически здоровых лиц.

По результатам анализа степени дифференцировки и форм роста опухоли представлены только высоко- и умеренно дифференцированные опухоли с инфильтративно-язвенной и экзофитной формами роста. Низкая дифференцировка и смешанная форма роста не имела статистической значимости ввиду малого количества. Выявлено, что TGF-α, HGF и Eotaxin выше у пациентов при высокодифференцированной опухоли, а MIP-1β, GROα – при умеренно дифференцированной. В свою очередь G-CSF, HGF и TGF-α были выше при экзофитной форме, чем при инфильтративно-язвенной.

По локализации сравнение не проводилось, так как в исследовании участвовали опухоли только левой половины толстой кишки, где состав кишечной микробиоты кардинально не отличается между собой.

В результате сравнения микробиоты толстой кишки онкологических больных и группы клинического сравнения выявлены статистически значимые отличия количественного состава *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp., *Enterococcus* spp., *E. coli* (типичные), *E. coli* (*лактозонегативные*), *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp. (CNS) и *Candida* spp. У пациентов с раком толстой кишки в неизменённой слизистой толстой кишки *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *E. coli* (типичные) оказалось больше, а *E. coli* (гемолитические), *E. coli* (*лактозонегативные*), *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. – меньше, чем в опухолевой ткани (табл. 8–10).

Выявлены закономерности изменения количественного состава кишечной микробиоты толстой кишки, а также колебаний уровня исследуемых веществ в плазме крови при РТК.

Дополнительно исследован уровень HP в слизистой толстой кишки основной и контрольной групп.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проблемы поиска дополнительных способов диагностики РТК являются чрезвычайно актуальными и требуют усилий учёных разных специальностей. В ряде работ установлено, что при исследовании биопсийного материала у пациентов с раком толстой кишки выявлено, что представители некоторых родов микроорганизмов

Таблица 8

Состав кишечной микробиоты больных раком толстой кишки

Table 8

The composition of the intestinal microbiota of patients with colon cancer

Микроорганизмы	Количество микроорганизмов*		*p*
	Неизменённая слизистая	Опухолевая ткань	
Lactobacillus spp.	6,6 [6–8]	5,5 [5–6]	0,003
Bifidobacterium spp.	6,9 [6–8]	5,6 [5–7]	0,001
Clostridium spp.	2,9 [2–3]	3,7 [2–5]	0,004
E. coli (*типичные*)	5,4 [5–6]	4,6 [3–6]	0,001
E. coli (*гемолитические*)	3,1 [3–4]	5,3 [3–6]	0,003
E. coli (*лактозонегативные*)	3,3 [3–4]	3,7 [3–4]	0,004
Enterobacteriaceae	3,4 [4–5]	3,8 [3–5]	0,001
Pseudomonas spp.	3,0 [3–4]	3,2 [3–4]	0,008

Примечание. * – количество микроорганизма в 1 г биоптата (lg = 10^1 КОЕ/г)

Таблица 9

Состав кишечной микробиоты больных раком толстой кишки и группы клинического сравнения

Table 9

The composition of the intestinal microbiota of patients with colon cancer and the clinical comparison group

Микроорганизмы	Количество микроорганизмов*		*p*
	Неизменённая слизистая пациентов с раком толстой кишки	Группа клинического сравнения	
Bifidobacterium spp.	6,9 [6–8]	7,6 [7–9]	0,026
Bacteroides spp.	5,5 [5–7]	6,3 [6–7]	0,043
Clostridium spp.	2,9 [2–3]	2,2 [2–3]	0,001
Enterococcus spp.	4,3 [4–5]	5,4 [5–6]	< 0,0001
E. coli (*типичные*)	5,4 [5–6]	6,1 [6–7]	0,049
Staphylococcus spp. (CNS)	3,0 [3–4]	3,1 [3–4]	0,002
Candida spp.	3,0 [3–4]	3,2 [3–4]	< 0,0001

Примечание. * – количество микроорганизма в 1 г биоптата (lg = 10^1 КОЕ/г).

Таблица 10

Состав кишечной микробиоты больных раком толстой кишки и группы клинического сравнения

Table 10

The composition of the intestinal microbiota of patients with colon cancer and the clinical comparison group

Микроорганизмы	Количество микроорганизмов*		*p*
	Опухолевая ткань пациентов с раком толстой кишки	Группа клинического сравнения	
Lactobacillus spp.	5,5 [5–6]	6,5 [6–9]	0,002
Bifidobacterium spp.	5,6 [5–7]	7,6 [6–8]	0,001
Clostridium spp.	3,7 [2–5]	2,2 [2–3]	0,001
Enterococcus spp.	4,5 [4–5]	5,4 [5–6]	0,0002
E. coli (типичные)	4,6 [3–6]	6,1 [6–7]	0,009
E. coli (лактозонегативные)	3,7 [3–4]	3,1 [3–4]	0,002
Enterobacteriaceae	3,8 [3–5]	5,3 [5–6]	0,029
Staphylococcus spp. (CNS)	3,0 [3–4]	3,3 [3–4]	< 0,0001
Candida spp.	3,0 [3–4]	3,2 [3–4]	0,002

Примечание. * – количество микроорганизма в 1 г биоптата (lg = 10^1 КОЕ/г)

Таблица 11

Уровень HP в слизистой толстой кишки основной и контрольной групп

Table 11

HP level in the colon mucosa of the study and control groups

Исследуемый материал	Количество пациентов				Всего пациентов
	Тест-система ХЕЛПИЛ		ПЦР		
	с HP	без HP	с HP	без HP	
Опухолевая ткань	48	15	2	61	63
Неизменённая слизистая пациентов с РТК	48	15	5	58	
Слизистая кишки пациентов контрольной группы	0	25	0	25	25

(*Escherichia*/*Shigella*, *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Prevotella*, *Oribacterium*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, *Neisseria*, *Porphyromonas* и *Akkermansia*) значительно различались между опухолью и визуально неизменённой слизистой толстой кишки ($p < 0,05$) [9, 10]. В нашем исследовании прослеживается рост количества *Clostridium* spp. и снижение *Bifidobacterium* spp. и *E. coli* в толстой кишке в условиях рака в сравнении со слизистой здорового человека ($p < 0,05$); выявлена чёткая тенденция как увеличения (EGF, HGF, M-CSF, PDGF-AA, PDGF-BB, IP-10), так и уменьшения (MCP-1, RANTES) уровня хемокинов и факторов роста в условиях РТК. Поскольку невозможно проследить трансформацию слизистой от здоровой до опухоли в условиях одного человека, в качестве оптимальной основы нами взята кишечная микробиота здоровых лиц.

Научной новизной нашего исследования является оценка зависимости уровня микроорганизмов, хемокинов и факторов роста от пола пациента и формы роста опухоли. Дополнительным диагностическим маркёром злокачественной опухоли у мужчин является наличие более высокого уровня *Lactobacillus* spp., *Bacteroides* spp., *Bifidobacterium* spp., *E. coli* (типичные) ($p < 0,05$), чем у женщин. Обнаружено, что у мужчин с раком толстой кишки уровень VEGF ниже, а I-TAC выше в несколько раз в сравнении с женщинами. В свою очередь в контрольной группе у здоровых мужчин значительно выше уровень I-TAC, ENA-78, IP-10, IL-8, чем у женщин ($p < 0,05$), что может служить доказательством взаимного влияния опухолевого процесса на уровень определённых веществ в плазме крови.

В отличие от имеющихся в литературе сведений о клинико-морфологических характеристиках опухоли [11, 12], нами обнаружена чёткая корреляционная связь (коэффициент корреляции Спирмена) между дифференцировкой опухолевых клеток и уровнем TGF-α, HGF, Eotaxin, GROa и MIP-1a. При сравнении форм роста опухоли в настоящем исследовании статистически значимо подтверждено повышение уровня G-CSF, HGF, TGF-α именно при экзофитной форме роста опухоли. В свою очередь *E. coli* (гемолитические) чаще ассоциирована с экзофитной опухолью, *a Enterobacteriaceae* – с эндофитной. Наряду с этим выявлено, что у больных РТК в возрасте 50–75 лет уровень Angio protein-2 и G-CSF более высокий, чем в возрасте 20–49 лет ($p < 0,05$).

В настоящем исследовании выявлено малое количество случаев HP-положительных пациентов (7 человек), поэтому в статистической обработке эти данные не использовались.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Состав стандартной пристеночной аэробной кишечной микробиоты, более устойчивой по составу чем фекальной, и уровень цитокинов в крови онкологических пациентов может использоваться в качестве дополнительных критериев в диагностике рака толстой кишки. Биологические механизмы, объясняющие выявленные закономерности, пока недостаточно изучены. Можно предположить, что имеется взаимосвязь между синтезом ряда биологически активных веществ и характером

кишечной микробиоты в результате злокачественной трансформации слизистой толстой кишки. Детализация механизмов указанных взаимосвязей требует дальнейшего изучения.

Вместе с тем установленные в данной работе статистически значимые связи между изменением количественного состава кишечной микробиоты, уровнем определённых биологически активных веществ (факторов роста, хемокинов) в условиях РТК с такими параметрами, как возраст, пол пациента, форма роста и степень дифференцировки опухоли, могут иметь диагностическое значение.

ВЫВОДЫ

1. Уровень содержания некоторых биологически активных веществ в плазме крови и количественный состав стандартной пристеночной кишечной микробиоты больных РТК, с учётом гендерных и возрастных особенностей, заметно отличается от таковых в группе людей с неопухолевой патологией, что может быть использовано в диагностике РТК.

2. Среди пациентов с РТК установлено статистически значимое отличие показателей количественного состава кишечной микробиоты, а также отдельных хемокинов и факторов роста в зависимости от макроскопического типа и степени дифференцировки опухоли.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Hernández-Luna MA, López-Briones S, Luria-Pérez R. The four horsemen in colon cancer. *J Oncol*. 2019; doi: 10.1155/2019/5636272

2. Bahmani S, Azarpira N, Moazamian E. Anti-colon cancer activity of Bifidobacterium metabolites on colon cancer cell line SW742. *Turk J Gastroenterol.* 2019; 30(9): 835-842. doi: 10.5152/tjg.2019.18451

3. Kistner L, Doll D, Holtorf A, Nitsche U, Janssen KP. Interferon-inducible CXC-chemokines are crucial immune modulators and survival predictors in colorectal cancer. *Oncotarget*. 2017; 8(52): 89998-90012. doi: 10.18632/oncotarget.21286

4. De la Fuente López M, Landskron G, Parada D, Dubois-Camacho K, Simian D, Martinez M, et al. The relationship between chemokines CCL2, CCL3, and CCL4 with the tumor microenvironment and tumor-associated macrophage markers in colorectal cancer. *Tumour Biol.* 2018; 40(11): 1010428318810059. doi: 10.1177/1010428318810059

5. Üçüncü M, Serilmez M, Sarı M, Bademler S, Karabulut S. The diagnostic significance of PDGF, EphA7, CCR5, and CCL5 levels in colorectal cancer. *Biomolecules.* 2019; 9(9): 464. doi: 10.3390/biom9090464

6. Krzystek-Korpacka M, Zawadzki M, Kapturkiewicz B, Lewandowska P, Bednarz-Misa I, Gorska S, et al. Subsite heterogeneity in the profiles of circulating cytokines in colorectal cancer. *Cytokine.* 2018; 110: 435-441. doi: 10.1016/j.cyto.2018.05.015

7. Lian G, Chen S, Ouyang M, Li F, Chen L, Yang J. Colon cancer cell secretes EGF to promote M2 polarization of TAM through EGFR/PI3K/AKT/mTOR pathway. *Technol Cancer Res Treat*. 2019; 18: 1533033819849068. doi: 10.1177/1533033819849068

8. Herrera A, Herrera M, Guerra-Perez N, Galindo-Pumariño C, Larriba MJ, García-Barberán V, et al. Endothelial cell activation on 3D-matrices derived from PDGF-BB-stimulated fibroblasts is mediated by Snail1. *Oncogenesis.* 2018; 7(9): 76. doi: 10.1038/s41389-018-0085-z

9. Sheng QS, He KX, Li JJ, Zhong ZF, Wang FX, Pan LL, et al. Comparison of gut microbiome in human colorectal cancer in paired tumor and adjacent normal tissues. *Onco Targets Ther.* 2020; 13: 635-646. doi: 10.2147/OTT.S218004

10. Zorron Cheng Tao Pu L, Yamamoto K, Honda T, Nakamura M, Yamamura T, Hattori S, et al. Microbiota profile is different for early and invasive colorectal cancer and is consistent throughout the colon. *J Gastroenterol Hepatol.* 2020; 35(3): 433-437. doi: 10.1111/jgh.14868

11. Sinha A, Kumar S. Prognostic value of Epidermal growth factor receptor in colorectal carcinoma. *J Clin Diagn Res*. 2018; 12(3): 1-4. doi: 10.7860/JCDR/2018/34864.11234

12. Mouzakiti A, Nastos C, Vlachodimitropoulos D, Gennatas C, Kondi-Pafiti A, Voros D. Prognostic significance of EGFR and COX-2 expression in colorectal cancer and their association. A study in Greek population. *J BUON*. 2018; 23(1): 23-28.

Сведения об авторах

Волков Степан Владимирович – ассистент кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: vsv_19@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-8696-9562

Лобанов Сергей Леонидович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской хирургии с курсом урологии, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: slobanov15@mail.ru, http://orcid.org/0000-0003-1665-3754

Information about the authors

Stepan V. Volkov – Teaching Assistant at the Department of Oncology, Chita State Medical Academy, e-mail: vsv_19@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-8696-9562

Sergey L. Lobanov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Faculty Surgery with a Course of Urology, Chita State Medical Academy, e-mail: slobanov15@mail.ru, http://orcid.org/0000-0003-1665-3754

Статья поступила: 01.02.2021. Статья принята: 07.04.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 01.02.2021. Accepted: 07.04.2021. Published: 15.06.2021.

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ
OPHTALMOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.12

Биомаркеры миопической хориоидальной неоваскуляризации у женщин, определяющие особенности клинического течения и ответ на анти-VEGF терапию

Григорьева А.В. [1], Юрьева Т.Н. [1, 2, 3], Курсакова Ю.В. [1], Иванова Е.И. [3], Самсонов Д.Ю. [1, 3], Михалевич И.М. [2]

[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)

Автор, ответственный за переписку: Григорьева Алина Валерьевна; e-mail: alinka68@mail.ru

Резюме

Цель: *выявить клинические и лабораторные биомаркеры, определяющие характер течения миопической хориоидальной неоваскуляризации (мХНВ) и ответ на антиангиогенную терапию у женщин.*

Материалы и методы исследования. *Проведено проспективное нерандомизированное исследование 52 пациенток (52 глаза) с активной формой мХНВ, которые с лечебной целью получали ранибизумаб интравитреально, 0,5 мг. Через 12 месяцев учитывалось подавление активности ХНВ, количество инъекций и включение в патологический процесс парного глаза. Было выделено две группы: с благоприятным клиническим течением (n = 31, возраст – 33,0 ± 5,1 года, с переднезадней осью глаза (ПЗО) по данным оптической биометрии (LenStar, Haag-Streit Diagnostics, Швейцария) 28,5 ± 0,3 мм) и неблагоприятным клиническим течением (n = 21, возраст – 34,0 ± 4,1 года, ПЗО – 29,01 ± 0,1 мм).*

Структурные изменения сетчатки, толщину хориоидеи, ретинальный кровоток неоваскулярных мембран оценивали по протоколам оптической когерентной томографии (ОКТ) и ОКТ-ангиографии (ОКТА) (Optovue XR Avanti, США). Исследования проводились до начала терапии и далее 1 раз в месяц.

Однократно изучалась концентрация половых и гипофизарных гормонов (иммуноферментный анализ, микропланшетный фотометр «Immunohet-2100»), липопротеина (а), аполипопротеина В, аполипопротеина А1, концентрации высокочувствительного С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови до начала антиангиогенной терапии (автоматический биохимический анализатор Accent 200 Cormay, Польша), данных коагулограммы (полуавтоматический коагулометр Helena C-2, Великобритания).

Результаты. *В первой группе для подавления активности ХНВ проведено 1,4 ± 0,7 инъекции ранибизумаба. В оппозитной группе – 3,5 ± 2,1 инъекции, в 73,7 % случаев диагностированы рецидивы, в 3 случаях – первичная мХНВ на парном глазу. Выявлены клинические и лабораторные биомаркеры неблагоприятного клинического течения мХНВ: экстремальное истончение хориоидеи, высокоорганизованные мембраны большой площади, куполообразная деформация заднего полюса, превышение референтных значений липопротеина (а), фибриногена и высокочувствительного СРБ в 2 и более раза, дисбаланс половых и гипофизарных гормонов (превышение референтных значений пролактина, фолликулостимулирующего гормона, кортизола, снижение концентрации прогестерона), преимущественное изменение менструально-овариального цикла по типу аменореи и опсоменореи.*

Заключение. *Биомаркеры мХНВ у женщин позволяют прогнозировать ответ на антиангиогенную терапию, формирование рецидивов и включение в патологический процесс парного глаза.*

Ключевые слова: *биомаркеры, миопическая хориоидальная неоваскуляризация, гормональные нарушения*

Для цитирования: Григорьева А.В., Юрьева Т.Н., Курсакова Ю.В., Иванова Е.И., Самсонов Д.Ю., Михалевич И.М. Биомаркеры миопической хориоидальной неоваскуляризации у женщин, определяющие особенности клинического течения и ответ на анти-VEGF терапию. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 105-113. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.12.

Biomarkers of Myopic Choroidal Neovascularization in Women, Determining the Clinical Course and Response to Anti-VEGF Therapy

Grigorieva A.V. [1], Iureva T.N. [1, 2, 3], Kursakova Ju.V. [1], Ivanova E.I. [3], Samsonov D.Yu. [1], Mikhalevich I.M. [2]

[1] Irkutsk Branch of S.N. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution (Lermontov 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 Vosstania str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Grigorieva Alina; e-mail: alinka68@mail.ru

Abstract

Aim: *to identify clinical and laboratory biomarkers that determine the nature of the course of myopic choroidal neovascularization (mCNV) and the response to anti-VEGF therapy in women.*

Material and methods. *A prospective non-randomized study was conducted in 52 patients (52 eyes) with active mCNV, treated with ranibizumab intravitreally, 0.5 mg. After 12 months, the suppression of CNV activity, the number of injections and the fellow eye inclusion in the pathological process were taken into account. There were 2 groups: with a favorable clinical course (n = 31, age – 33,0 ± 5,1 years, anterior-posterior axis (APA) 28,5 ± 0,3 mm) and an unfavorable clinical course (n = 21, age – 34,0 ± 4,1 years, APA – 29,01 ± 0,1 mm).*

Structural retinal changes, choroid thickness, retinal blood flow, and heart rate were evaluated using OCT and OCTA protocols (Optovue XR Avanti, USA). Studies were conducted before the start of therapy and then one time per month. The concentration of sex and pituitary hormones (ELISA analyzer "Immunohem-2100"), lipoprotein A, Apo B/Apo A (Accent 200 Cormay, Poland), coagulogram data (Helena C-2, UK), and the concentration of highly sensitive C-reactive protein in blood serum before the start of antiangiogenic therapy were studied once.

Results. *In the first group, 1.4 ± 0.7 ranibizumab injections were administered to suppress the CNV activity. In the opposite group – 3.5 ± 2.1 injections, in 73.7 % of cases, relapses were diagnosed, in 3 cases – primary CNV in the fellow eye. Clinical and laboratory biomarkers of the unfavorable clinical course of mCNV were identified: extreme choroidal thinning, highly organized membranes of a large area, dome-shaped deformation of the posterior pole, excess of the reference values of lipoprotein A, fibrinogen and highly sensitive C-reactive protein by two or more times, an imbalance of sex and pituitary hormones (excess of the reference values of prolactin, follicle stimulating hormone, cortisol, progesterone concentration decrease), a predominant change in the menstrual-ovarian cycle according to the type of amenorrhea and opsomenorrhea.*

Conclusion. *Myopic CNV biomarkers in women allow predicting the response to anti-VEGF therapy, the formation of relapses and the inclusion of the fellow eye in the pathological process.*

Key words: *biomarkers, myopic choroidal neovascularization, hormone disorders*

For citation: Grigorieva A.V., Iureva T.N., Kursakova Ju.V., Ivanova E.I., Samsonov D.Yu., Mikhalevich I.M. Biomarkers of Myopic Choroidal Neovascularization in Women, Determining the Clinical Course and Response to Anti-VEGF Therapy. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 105-113. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.12.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из актуальных проблем современной офтальмологии является прогрессирующее увеличение больных миопией [1, 2]. С ростом заболеваемости миопией в целом увеличивается доля пациентов с миопией высокой степени, что в свою очередь повышает риск развития патологической миопии (ПМ), характеризующейся чрезмерным прогрессирующим удлинением глаза и дегенеративными изменениями заднего полюса [3]. При этом некорригированная миопия создаёт трудности при выполнении зрительной работы, снижает профессиональную адаптацию и ухудшает качество жизни. Патологическая же миопия является причиной необратимого снижения зрения [4].

Хориоидальная неоваскуляризация встречается у 5–10 % больных с ПМ [5, 6], в 62 % случаев выявляется у лиц моложе 50 лет, у трети пациентов развивается на обоих глазах [5] и является основной причиной необратимой слепоты у лиц молодого и среднего возраста [7].

Несмотря на то, что в настоящее время сложились достаточно стройные представления о механизмах формирования ангиогенеза в целом, регуляция этого процесса при мХНВ до сих пор остаётся мало изученной. У пациентов с миопией высокой степени концентрация фактора роста эндотелия сосудов (Vascular endothelial growth factor, VEGF) во влаге передней камеры значительно ниже, чем при диабетической ретинопатии, возрастной макулярной дегенерации, неоваскулярной глаукоме и других заболеваниях [8, 9]. Однако, несмотря на низкий уровень VEGF, у пациентов с мХНВ он был выше, чем у пациентов с миопией без неоваскуляризации. В связи с чем, терапией выбора мХНВ на современном этапе является интравитреальное введение ингибиторов ангиогенеза, подтверждённое рядом проспективных и ретроспективных исследований [10, 11, 12]. При этом количество инъекций в течение года варьирует в достаточно широких пределах (от 1,5 до 4,6) [11]. В связи с чем продолжается активный поиск причин, влияющих на терапевтическую эффективность антиангиогенной терапии.

Интересным и не до конца объяснимым является тот факт, что миопическая ХНВ преимущественно поражает женщин [13, 14]. Гендерное распределение больных мХНВ демонстрирует преобладание данного заболевания у женщин (соотношение с мужчинами – 6:1) [15]. Установлено наличие рецепторов эстрогена, гена экспрессии эстрогена и воспринимающего его рецептора в субретинальной неоваскулярной мембране (СНМ) у больных с миопией [16]. Всё это позволило предположить, что в патогенетических механизмах формирования и клинического течения мХНВ играют роль не только местные изменения на уровне хориоидеи и сетчатки, но и системные сосудистые и гормональные нарушения. В целом это определило актуальность и цель проводимого исследования.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявить клинические и лабораторные биомаркеры, определяющие характер течения миопической хориоидальной неоваскуляризации и ответ на анти-VEGF терапию у женщин.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» (1964 г., с поправками 2000 г.) и «Правилами клинической практики в Российской Федерации» (Приказ Минздравсоцразвития РФ от 19.06.2003 г. № 266), Федеральным законом Российской Федерации от 21 ноября 2011 г. № 323 ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации», одобрено Локальным этическим комитетом Иркутского филиала «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова». Информированное согласие на проведение операции, а также использование

данных исследования в научных целях было получено от каждого пациента.

Проведено проспективное нерандомизированное исследование офтальмологического и соматического статуса 52 пациенток в возрасте от 25 до 40 лет (средний возраст пациенток на начало исследования – 33,5 ± 5,1 года) с осевой миопией (переднезадний отрезок (ПЗО) глазного яблока – 27,8 ± 2,3 мм), осложнённой хориоидальной неоваскуляризацией.

В исследование включены глаза с первичными активными неоваскулярными мембранами (52 глаза), на парном глазу учитывались случаи рецидивов активности и формирование первичной неоваскуляризации в период проводимого исследования.

Критерии включения: женский пол, возраст – 25–40 лет, ПЗО – более 26,5 мм (оптический биометр LenStar, Haag-Streit Diagnostics, Швейцария), впервые выявленная активная мХНВ макулярной локализации на одном или обоих глазах, добровольное согласие на участие в клиническом исследовании.

Критерии исключения: предшествующее лечение мХНВ (лазерное, фотодинамическая терапия, интравитреальное введение лекарственных препаратов), предшествующие хирургические вмешательства (за исключением профилактической периферической лазеркоагуляции, выполненной по поводу периферической витреохориоретинальной дистрофии не ранее 3 месяцев до начала исследования), эпиретинальный фиброз, витреоретинальные тракции с деформацией фовеолярного профиля, наличие других офтальмологических заболеваний, невозможность адекватно оценить результаты обследования (низкая прозрачность оптических сред, отсутствие центральной фиксации).

Проведено стандартное офтальмологическое обследование, включающее оптическую когерентную томографию (ОКТ) (Optovue XR Avanti, США).

При офтальмоскопии в 72 % случаев выявлены характерные для ПМ изменения пигментного эпителия и слоя хориокапилляров разной степени выраженности, мозаичный или паркетный тип глазного дна, «лаковые трещины», происхождение которых связано с механическим повреждением комплекса «пигментный эпителий – стекловидная пластинка – хориокапилляры».

Структурные изменения сетчатки оценивали по протоколам стандартного трёхмерного сканирования макулярной области (протокол Retina Map). Для характеристики ретинального кровотока использовался показатель плотности капилляров на уровне поверхностного и глубокого сосудистого сплетения, полученные при сканировании в режиме ОКТ-ангиографии (ОКТА) [17], (протокол Angio Retina 6×6 мм).

Толщина хориоидеи измерялась на ортогональных сканах (протокол Cross Line), выполненных через центр фовеа от ретинального пигментного эпителия (РПЭ) до склеро-хориоидального сочленения в проекции фовеа, парафовеолярно и перифовеолярно (в 3 мм от центра фовеа) в четырёх квадрантах (верх, низ, нос, висок), рассчитывался средний показатель.

Для характеристики неоваскулярных мембран использовали ОКТА (протокол Angio Retina 3×3 мм). Одновременно визуализировали как структурные (b-сканы, анфас-изображения), так и гемодинамические (сосудистые карты) изменения. Мембраны локализовали относительно фовеа и слоёв сетчатки с учётом её сегментации. Границы мембран обрисовывали мануально и рассчитывали с использованием встроенного алгоритма сканирующей системы.

Активность мХНВ определяли на основании: характерных жалоб; выявления ретинальных геморрагий вокруг очагов неоваскуляризации при офтальмоскопии; наличия отёка и элевации сетчатки вокруг очага неоваскуляризации, скопления субретинальной и интраретинальной жидкости, увеличения центральной толщины сетчатки по данным структурной ОКТ [18]; визуализации сети мелких ветвящихся новообразованных сосудов на уровне наружной сетчатки и хориокапилляров, окаймляющего гипоинтенсивного свечения хориокапилляров [19] по данным ОКТА.

У всех пациенток диагностирована классическая субретинальная неоваскулярная мембрана субфовеолярной (5 %) и юкстафовеолярной (95 %) локализации. Билатеральное поражение выявлено в 25 % случаев, при этом в исследование включали один глаз с активной формой ХНВ.

Решение о начале терапии и её возобновлении принималось при выявлении признаков активности мембран.

Во всех случаях с лечебной целью проводилось интравитреальное введение ранибизумаба (Lucentis, «Novartis Pharmaceuticals Corporation») в дозе 0,5 мг.

Оценка зрительных функций, состояния сетчатки и степени активности мХНВ проводилась до начала терапии и далее 1 раз в месяц. Через 12 месяцев от начала терапии учитывалось количество инъекций и включение в патологический процесс парного глаза.

Критериями благоприятного клинического течения заболевания были: подавление активности неоваскулярной мембраны в результате проведения не более 3 интравитреальных инъекций анти-VEGF препарата, отсутствие рецидивов и первичной неоваскуляризации на парном глазу.

При выявлении рецидивов и необходимости проведения более 3 инъекций анти-VEGF препарата для подавления активности ХНВ, формировании ХНВ на парном глазу течение патологического процесса расценивалось как неблагоприятное.

На основании полученных данных пациентки были разделены на 2 группы: с благоприятным клиническим течением (n = 31 (31 глаз), возраст – 33,0 ± 5,1 года, ПЗО – 28,5 ± 0,3 мм) и неблагоприятным клиническим течением (n = 21 (21 глаз), возраст – 34,0 ± 4,1 года, ПЗО – 29,01 ± 0,1 мм). Все пациентки с билатеральной ХНВ включены во вторую группу исследования.

Для определения системных факторов риска проводился сбор анамнеза, изучалась концентрация гормонов, описывающих изменения репродуктивной функции и стрессорных реакций: тиреоидных гомонов (ТТГ, Т4), кортизола, соматотропного гормона (СТГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ), тестостерона, фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), пролактина, прогестерона и эстрадиола (микропланшетный фотометр «Immunohem-2100») Также проводилось изучение липидограммы второго уровня с определением липопротеина (а), аполипопротеина В (Апо В), аполипопротеина А1 (Апо А1), концентрации высокочувствительного С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови до начала антиангиогенной терапии

(автоматический биохимический анализатор Accent 200 Cormay, Польша), данных коагулограммы (полуавтоматический коагулометр Helena C-2, Великобритания).

Забор крови для исследования проводился из локтевой вены у женщин с сохранённым и частично сохранённым менструальным циклом с 5-го по 9-й день до начала антиангиогенной терапии однократно.

Статистический анализ результатов исследования был проведён с помощью пакета современных статистических компьютерных программ Microsoft Office Excel 2010, Statistica 6.0 и MedCalc ver. 18.2.1. Так как проверка на нормальность распределения с помощью критерия Шапиро – Уилка ($n < 50$), а также оценка асимметрии и эксцесса показали, что часть признаков имеет нормальное распределение, а часть – отличное от нормального, то в работе были применены методы как параметрического, так и непараметрического анализа, который включал следующие этапы: дескриптивный анализ, для нормально распределенных признаков рассчитывались среднее значение (M) и стандартное отклонение (*SD*), для ненормально распределенных признаков вариационные ряды сравнивались с применением критерия Манна – Уитни с расчётом медианы (Me) и интерквартильного размаха (IQR). Выбранный критический уровень значимости равнялся $p < 0{,}0125$. Анализ классификаций осуществлялся с применением ROC-кривых для выявления наиболее специфичного признака, характеризующего изменение основных показателей. Количественную интерпретацию ROC даёт показатель AUC (англ. *area under curve – площадь под кривой*) – площадь, ограниченная ROC-кривой и осью доли ложных положительных классификаций. Чем выше показатель AUC, тем качественнее классификатор, при этом значения от 0,5 до 0,7 демонстрируют непригодность выбранного метода классификации либо низкое качество полученной модели. Апостериорный анализ проведён с поправкой на множественные сравнения.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведён сравнительный анализ исходных данных и результатов лечения пациенток двух групп, которые, как было описано выше, сформированы в зависимости от характера клинического течения мХНВ и ответа на терапию.

Установлено, что пациенткам в группе с благоприятным течением заболевания для подавления патологической неоваскуляризации потребовалось проведение

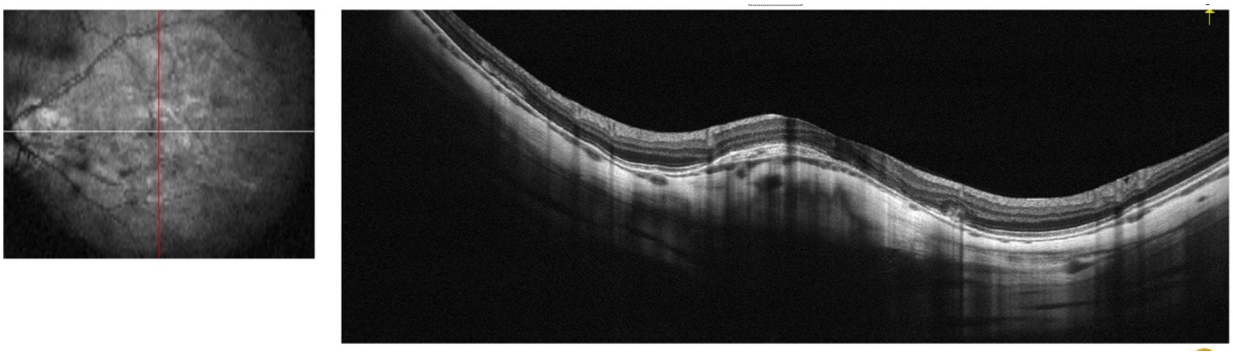
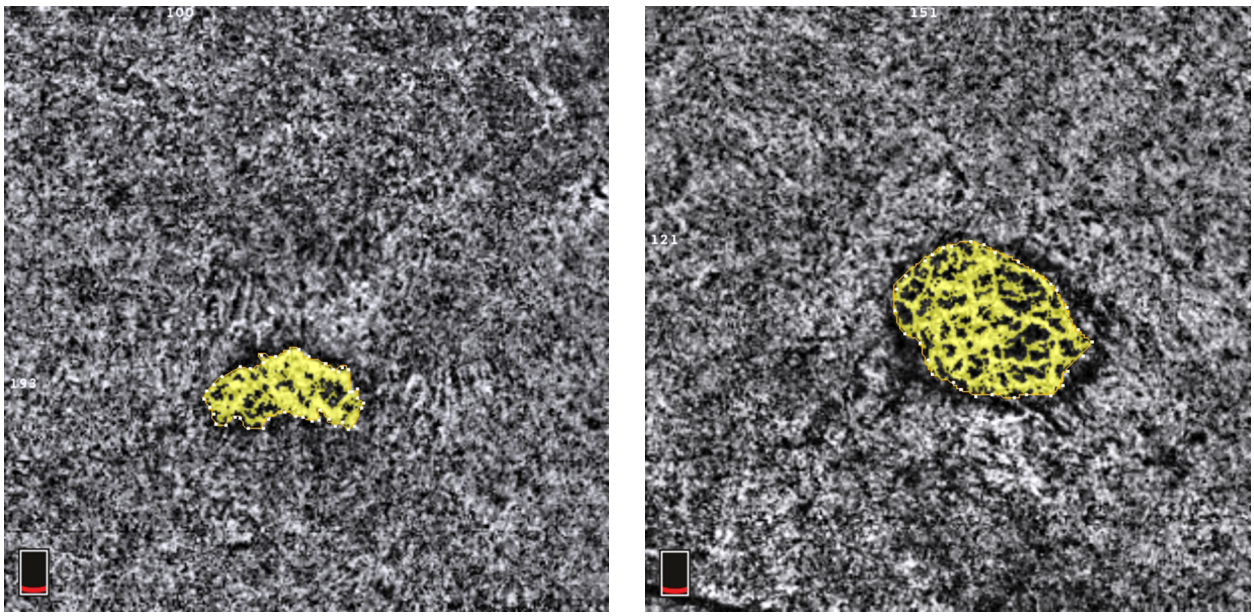


Рис. 1. Деформация заднего полюса глаза в виде куполообразной макулы
Fig. 1. Deformation of the posterior pole of the eye in the form of dome-shaped macula



а **б**

Рис. 2. ОКТА, уровень хориокапилляров. Примеры оценки структуры и площади мХНВ (**а** – паттерн 2, **б** – паттерн 3)
Fig. 2. OCTA, choriocapillary level. Examples of the structural and areal assessment of the myopic CNV (**а** – pattern 2; **б** – pattern 3)

в среднем 1,4 ± 0,7 инъекции ранибизумаба. В 75 % случаев стойкая стабилизация достигнута после однократной инъекции анти-VEGF препарата.

В оппозитной группе полное подавление активности ХНВ произошло лишь в 9,5 % случаев. В 73,7 % случаев диагностировались рецидивы активности, что позволило обосновать возобновление терапии. Количество инъекций варьировало от 3 до 6 и составило в среднем 3,5 ± 2,1. У 3 пациенток была диагностирована первичная мХНВ на парном глазу.

Сравнительный анализ исходных данных биометрии (28,7 ± 0,1 мм, 29,01 ± 0,1 мм, $p = 0,051$) и максимальной корригированной остроты зрения – (Me(IQR) – 0,45 (0,2–0,6) и 0,4 (0,2–0,55), $p = 0,05$) не выявил достоверных различий в двух исследуемых группах.

В группе с неблагоприятным клиническим течением заболевания специфическая деформация заднего полюса в виде куполообразной макулы (рис. 1) выявлена в 19 % случаев, тогда как в первой группе только в 3,2 %.

У пациенток первой группы во всех случаях ХНВ формировалась по второму типу паттерна, согласно классификации E. Bruyère et al., 2017 [20], для которого характерно наличие фидерного сосуда и хорошо визуализирующихся сосудистых петель, окаймлённых гипорефлективным ореолом, соответствующим зонам ишемии хориокапилляров.

У пациенток второй группы выявлены мембраны с плотной сосудистой сетью без чёткой визуализации фидерного сосуда (3-й тип паттерна) (рис. 2, табл. 1, 2). Площадь мембран превышала соответствующее значение в первой группе практически в 5 раз (табл. 1).

Толщина хориоидеи в группе с благоприятным клиническим течением варьировала от 170 до 90 мкм, в оппозитной группе имела критические значения, не превышая в среднем 50,15 мкм.

На следующем этапе для выявления системных факторов риска, которые, как было предположено, могли бы определённым образом влиять на характер течения мХНВ, был проведён тщательный сбор анамнеза, исследование концентрации гормонов и биохимических показателей крови.

У всех пациенток с мХНВ установлены нарушения менструально-овариального цикла, причём изменения по типу опсо-, олиго- и аменореи превалировали у женщин с неблагоприятным течением заболевания.

У них же установлен значимый дисбаланс и в концентрации исследуемых гормонов. Так, медианное значение кортизола, пролактина и ФСГ превышали значения группы с благоприятным течением заболевания в 1,5, 1,6 и 1,3 раза соответственно ($p = 0,01$). Концентрация прогестерона была снижена в 2,2 раза ($p = 0,01$). У пациенток с благоприятным и неблагоприятным клиническим течением эстрадиол был значимо ниже референтных значений ($p = 0,001$), однако при межгрупповом сравнении достоверной разницы выявлено не было ($p = 0,9$). Медианное значение липопротеина (а) в группе с неблагоприятным течением было выше в 2 раза по сравнению с группой сравнения ($p = 0,0001$). У пациенток с мХНВ установлено увеличение уровня острофазовых белков в плазме крови, значительно превышающего референсные значения ($p = 0,001$) без значимых различий в двух группах ($p = 0,6$) (табл. 2).

Таблица 1

Оценка площади ХНВ и толщины хориоидеи по данным оптической когерентной томографии

Table 1

CNV area and choroid thickness assessment according to optical coherence tomography

Показатели	1-я группа ($n = 31$), Me (IQR)	2-я группа ($n = 21$), Me (IQR)	p (Манна – Уитни)
Выделенная область, мм^2	0,098 (0,08–0,11)	0,53 (0,48–0,57)	p = 0,002
Выделенный сосуд, мм^2	0,07 (0,06–0,08)	0,33 (0,3–0,04)	$p = 0,0001$
Толщина хориоидеи, мкм	122,51 (100,04–160,01)	50,15 (45,05–53,85)	$p = 0,0001$

Таблица 2

Клиническая характеристика исходного состояния пациенток с мХНВ с благоприятным и неблагоприятным течением патологического процесса. Критерии прогнозирования эффективности анти-VEGF-терапии

Table 2

Clinical characteristics of the initial state of patients with myopic CNV with a favorable and unfavorable course of the pathological process. Criteria for predicting the effectiveness of anti-VEGF therapy

Показатели	Благоприятное течение заболевания ($n = 31$), Me (IQR)	Неблагоприятное течение заболевания ($n = 21$), Me (IQR)	p (Манна – Уитни)
Типы паттернов ХНВ	II паттерн (Sea-fan)	III паттерн (Tree-in-bud)	–
Площадь выделенной области, мм^2	0,098 (0,08–0,11)	0,53 (0,48–0,57)	p = 0,001
Толщина хориоидеи, мкм	122,51 (100,04–160,01)	50,15 (45,05–53,85)	p = 0,001
Пролактин, мМЕ/мл	869,01 (307,04–943,02)	1320,03 (496,01–1420,03)	p = 0,01
ФСГ, мМЕ/мл	12,60 (5,01–14,31)	16,13 (5,51–25,01)	p = 0,01
Прогестерон, нмоль/л	4,16 (1,91–6,10)	1,01 (0,85–3,05)	p = 0,0001
Кортизол, нмоль/л	1479,05 (1245,01–1700,08)	2176,03 (1800,04–2285,06)	p = 0,01
Эстрадиол, нмоль/л	35,42 (28,01–37,02)	31,81 (0,22–35,01)	p = 0,09
Липопротеин (а), г/л	21,5 (21–26)	43 (10,5–88)	p = 0,001
Фибриноген, г/л	3,56 (3,44–3,90)	3,82 (3,51–4,20)	p = 0,06
hs-CRP, мг/л	2,14 (1,67–2,14)	2,62(2,11–3,08)	p = 0,06

Примечание. hs-CRP мг/л – высокочувствительный С-реактивный белок.

На следующем этапе был проведён ROC-анализ. Определялась связь предикторов, включающих характеристику офтальмологического состояния пациентки и изменений гомеостаза с совокупным критерием, характеризующим благоприятное и неблагоприятное течение мХНВ. Численный показатель представлен в виде значения площади под ROC-кривой AUC, границ доверительного интервала и вероятности отличия AUC от площади под диагональной линией. Значение на ROC с наибольшей суммой чувствительности и специфичности определялось как порог отсечения параметра. Качество полученной модели оценивалось согласно общепринятой традиционной экспертной шкале. Исходная выборка при оценке местных биомаркеров заболевания показала, что наиболее специфическими и чувствительными показателями в определении благоприятного и неблагоприятного клинического течения, и ответа на антиангиогенную терапию были толщина хориоидеи и относительная плотность хориокапилляров субфовеолярно. Площадь AUC показателя относительной плотности глубокого сосудистого сплетения сетчатки парафовеолярно была меньше 0,7, что ставило под сомнение информативность данного показателя в ROC модели мХНВ. С максимальной чувствительностью и специфичностью на клиническое течение мХНВ из общего числа характеристик соматического состояния пациентов влияли показатели гормонального статуса. Наиболее информативными были половые гормоны (ФСГ, прогестерон, пролактин). Кроме того, с хорошим качеством в построении модели участвовал кортизол, описывающий уровень стрессорных реакций, а также показатели лютеинизирующего гормона и Т4 (рис. 3, 4).

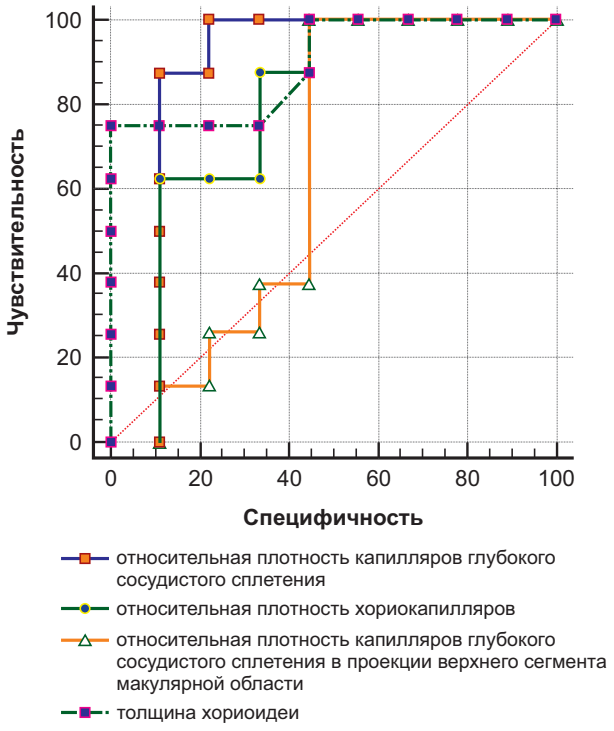


Рис. 3. Характеристическая кривая зависимости клинического течения мХНВ (благоприятного и неблагоприятного) от местных факторов риска.

Fig. 3. The characteristic curve of the dependence of the clinical course of myopic CNV (favorable and unfavorable) on local risk factors

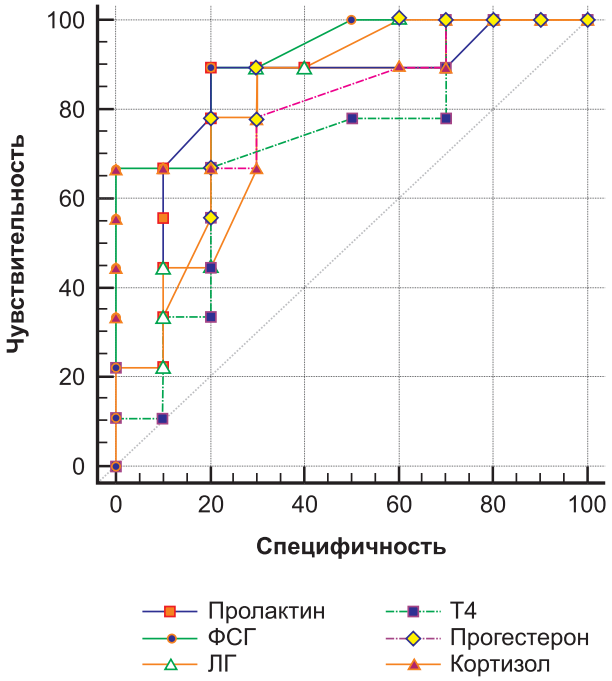


Рис. 4. Характеристическая кривая зависимости клинического течения мХНВ (благоприятного и неблагоприятного) от системных факторов риска

Fig. 4. The characteristic curve of the dependence of the clinical course of myopic CNV (favorable and unfavorable) from systemic risk factors

Таким образом, исходя из данных сравнительного анализа и ROC-модели, биомаркерами неблагоприятного клинического течения мХНВ можно считать следующие параметры:

1) экстремальное истончение хориоидеи;

2) высокоорганизованные мембраны большой площади;

3) куполообразная деформация заднего полюса;

4) превышение референтных значений липопротеина (а), фибриногена и высокочувствительного СРБ в два и более раза;

5) дисбаланс половых и гипофизарных гормонов (превышение референтных значений пролактина, ФСГ, кортизола, снижение концентрации прогестерона);

6) преимущественное изменение менструально-овариального цикла по типу аменореи и опсоменореи.

ОБСУЖДЕНИЕ

Миопическая ХНВ преимущественно формируется у женщин, имеющих специфические дегенеративные изменения заднего полюса глаза. Исходные структурные изменения на уровне склеры (куполообразная деформация), сетчатки (снижение плотности капилляров глубокого сосудистого сплетения, дезорганизация наружной сетчатки), пигментного эпителия и хориоидеи (экстремальное истончение) определяют степень ишемии, синтез VEGF, инициируя формирование субретинальных неоваскулярных мембран (табл. 3).

Предикторами к формированию данных нарушений может являться дисбаланс половых гормонов и, в большей степени, гипоэстрогенемия, что согласуется с данными зарубежных и отечественных исследований. По данным G.M. Rubanyi (2002) [23], M.A. Maturana (2007) [21], Л.Д. Белоцерковцева (2010) [24], эстроген снижает

Таблица 3

Прогностические критерии клинического течения мХНВ

Table 3

Prognostic criteria for the clinical course of myopic CNV

Благоприятное клиническое течение мХНВ	Неблагоприятное клиническое течение мХНВ
Умеренное уменьшение толщины хориоидеи в среднем до 122,5 мкм	Критическое уменьшение толщины хориоидеи в среднем до 50,15 мкм
Субретинальная неоваскулярная мембрана по 2-му типу паттерна	Субретинальная неоваскулярная мембрана по 3-му типу паттерна
Умеренное повышение липопротеина (а)	Повышение концентрации липопротеина (а) выше референтных значений в 2 раза
Дисбаланс половых и гипофизарных гормонов (↑Пролактина, ↑ФСГ, ↑Кортизола, ↓Прогестерона)	Значительный дисбаланс концентрации половых и гипофизарных гормонов (↑↑Пролактина, ↑↑ ФСГ, ↑↑Кортизола, ↓↓Прогестерона)
Изменение менструально-овариального цикла по типу опсоменореи	Преимущественное изменение менструально-овариального цикла по типу аменореи и опсоменореи

уровень воспалительных процессов в сосудистой стенке, стимулирует релаксацию сосудов путём активации и высвобождения оксида азота и воздействует непосредственно на гладкую мускулатуру сосудистой стенки [21, 22]. Гипоэстрогенемия может являться причиной, с одной стороны, формирования эндотелиальной дисфункции, а с другой – длительного вазоспазма. Наличие рецепторов эстрогена, гена экспрессии эстрогена и воспринимающего его рецептора в СНМ у больных с миопией подтверждает клиническую значимость выявленных гормональных нарушений [21, 15].

Кроме того, установлено, что у пациенток с мХНВ, особенно в группе с неблагоприятным течением клинического процесса в сыворотке крови значительно повышен уровень острофазовых белков фибриногена и высокочувствительного С-реактивного белка (hs-CRP), являющихся лабораторными маркерами воспаления и тканевого повреждения. Ещё одним высокочувствительным маркёром и предиктором наследственной предрасположенности к сердечно-сосудистым и микрососудистым заболеваниям является липопротеин (а) и аполипопротеины. В случаях отсутствия стабилизации патологического процесса, формирования рецидивов и образования СНМ на парном глазу было выявлено значительное превышение референтных значений липопротеина (а) и умеренное повышение соотношения Апо В/Апо А, что характеризует высокий риск развития генетически-детерминированных нарушений обмена липидов, даже при низких уровнях ЛПНП и холестерина крови [15, 22].

В целом, выявленный дисбаланс половых гормонов, липидного обмена, повышение белков острой фазы являются серьёзными предрасполагающими факторами формирования васкулярных осложнений, в которых у больных с патологической миопией органом-мишенью выступает хориоидея.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании комплексной оценки офтальмологических, гормональных и метаболических нарушений были выявлены биомаркеры, которые на этапе первичной диагностики позволяют прогнозировать характер клинического течения мХНВ, возможность формирования рецидивов и включение в патологический процесс парного глаза.

Алгоритм диагностики и лечения пациенток с мХНВ должен включать комплексные междисциплинарные подходы с оценкой и своевременной коррекцией гормональных и метаболических нарушений, что позволит повысить эффективность лечения данной категории пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Holden BA, Fricke TR, Wilson DA, Jong M, Naidoo KS, Sankaridurg P, et al. Global Prevalence of myopia and high myopia and temporal trends from 2000 through 2050. *Ophthalmology*. 2016; 123(5): 1036-1042. doi: 10.1016/j.ophtha.2016.01.006

2. Wong Y-L, Saw S-M. Epidemiology of pathologic myopia in Asia and worldwide. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*. 2016; 5(6): 394-402. doi: 10.1097/APO.0000000000000234

3. Wong Y-L, Sabanayagam Ch, Ding Y, Wong Ch-W, Yeo ACh-H, Cheung Y-B, et al. Prevalence, risk factors, and impact of myopic macular degeneration on visual impairment and functioning among adults in Singapore. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018; 59(11): 4603-4613. doi: 10.1167/iovs.18-24032

4. Fang Y, Yokoi T, Nagaoka N, Shinohara K, Onishi Y, Ishida T, et al. Progression of myopic maculopathy during 18-year follow-up. *Ophthalmology*. 2018; 125(6): 863-877. doi: 10.1016/j.ophtha.2017.12.005

5. Wong TY, Ferreira A, Hughes R, Carter G, Mitchell P. Epidemiology and disease burden of pathologic myopia and myopic choroidal neovascularization: An evidence-based systematic review. *Am J Ophthalmol*. 2014; 157(1): 9-25.e12. doi: 10.1016/j.ajo.2013.08.010

6. Wong Y-L, Sabanayagam Ch, Wong Ch-W, Cheung Y-B, Man REK, Yeo AC-H, et al. Six-year changes in myopic macular degeneration in adults of the Singapore epidemiology of eye diseases study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2020; 61(4): 14. doi: 10.1167/iovs.61.4.14

7. Yoshida T, Ohno-Matsui K, Yasuzumi K, Kojima A, Shimada N, Futagami S, et al. Myopic choroidal neovascularization: A 10-year follow-up. *Ophthalmology*. 2003; 110(7): 1297-1305. doi: 10.1016/S0161-6420(03)00461-5

8. Wakabayashi T, Ikuno Y, Oshima Y, Hamasaki T, Nishida K. Aqueous concentrations of vascular endothelial growth factor in eyes with high myopia with and without choroidal neovascularization. *J Ophthalmol*. 2013; 2013: 257381. doi: 10.1155/2013/257381

9. Щуко А.Г., Зайцева Н.В., Юрьева Т.Н., Черных Е.Р., Михалевич И.М., Григорьева А.В. Влияние иммунологических факторов на механизмы формирования миопической хориоидальной неоваскуляризации. *Вестник офтальмологии*. 2016; 132(5): 5-14. doi: 10.17116/oftalma201613255-14

10. Wolf S, Balciuniene VJ, Laganovska G, Menchini U, Ohno-Matsui K, Sharma T, et al. RADIANCE: A randomized controlled study of ranibizumab in patients with choroidal neovascularization secondary to pathologic myopia. *Ophthalmology*. 2014; 121(3): 682-92.e2. doi: 10.1016/j.ophtha.2013.10.023

11. Wong TY, Ohno-Matsui K, Leveziel N, Holz FG, Lai TY, Yu HG, et al. Myopic choroidal neovascularisation: Current concepts and update on clinical management. *Br J Ophthalmol*. 2015; 99(3): 289-296. doi: 10.1136/bjophthalmol-2014-305131

12. Sayanagi K, Uematsu S, Hara C, Wakabayashi T, Fukushima Y, Sato S, et al. Effect of intravitreal injection of aflibercept or ranibizumab on chorioretinal atrophy in myopic choroidal neovascularization. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2019; 257: 749-757. doi: 10.1007/s00417-018-04214-w

13. Silva R. Myopic maculopathy: A review. *Ophthalmologica*. 2012; 228(4): 197-213. doi: 10.1159/000339893

14. Ruiz-Moreno JM, Roura M. Cost of myopic patients with and without myopic choroidal neovascularization. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2016; 91(6): 265-272. doi: 10.1016/j.oftal.2016.01.013

15. Григорьева А.В., Юрьева Т.Н., Курсакова Ю.В., Иванова Е.И. Роль изменения гормонального статуса в формировании миопической хориоретинальной неоваскуляризации. *Современные технологии в офтальмологии*. 2017; 4: 61-64.

16. Tanemura M, Miyamoto N, Mandai M, Kamizuru H, Ooto S, Yasukawa T, et al. The role of estrogen and estrogen receptorbeta in choroidal neovascularization. *Mol Vis*. 2004; 10: 923-932.

17. Hormel TT, Jia Y, Jian Y, Hwang ThS, Bailey ST, Pennesi ME, et al. Plexus-specific retinal vascular anatomy and pathologies as seen by projection-resolved optical coherence tomographic angiography. *Prog Retin Eye Res*. 2021; 80: 100878. doi: 10.1016/j.preteyeres.2020.100878

18. Von der Burchard C, Treumer F, Ehlken Ch, Koinzer S, Purtskhvanidze K, Tode J, et al. Retinal volume change is a reliable OCT biomarker for disease activity in neovascular AMD. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2018; 256(9): 1623-1629. doi: 10.1007/s00417-018-4040-7

19. Coscas GJ, Lupidi M, Coscas F, Cagini C, Souied EH. Optical coherence tomography angiography versus traditional multimodal imaging in assessing the activity of exudative age-related macular degeneration: A new diagnostic challenge. *Retina*. 2015; 35(11): 2219-2228. doi: 10.1097/IAE.0000000000000766

20. Bruyère E, Miere A, Cohen SY, Martiano D, Sikorav A, Popeanga A, et al. Neovascularization secondary to high myopia imaged by optical coherence tomography angiography. *Retina*. 2017; 37(11): 2095-2101. doi: 10.1097/IAE.0000000000001456

21. Maturana MA, Irigoyen MC, Spritzer PM. Menopause, estrogens, and endothelial dysfunction: Current concepts. *Clinics (Sao Paulo)*. 2007; 62(1): 77-86. doi: 10.1590/s1807-59322007000100012

22. Григорьева А.В., Щуко А.Г., Курсакова Ю.В., Иванова Е.И, Самсонов Д.Ю. Гормональный и липидный дисбаланс в формировании миопической хориоретинальной неоваскуляризации у женщин. Саратовский научно-медицинский журнал. 2019; 15(2): 447-451.

23. Rubanyi GM, Kauser K, Johns A. Role of estrogen receptors in the vascular system. *Vascular Pharmacology*. 2002; 38: 81-88.

24. Белоцерковцева Л.Д., Коваленко Л.В., Корнеева Е.В., Шишанок О.Ю. Дисфункция эндотелия как предиктор развития метаболического синдрома у женщин в периоде перименопаузы. Вестник новых медицинских технологий. 2010; 17(1): 91-93.

REFERENCES

1. Holden BA, Fricke TR, Wilson DA, Jong M, Naidoo KS, Sankaridurg P, et al. Global Prevalence of myopia and high myopia and temporal trends from 2000 through 2050. *Ophthalmology*. 2016; 123(5): 1036-1042. doi: 10.1016/j.ophtha.2016.01.006

2. Wong Y-L, Saw S-M. Epidemiology of pathologic myopia in Asia and worldwide. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*. 2016; 5(6): 394-402. doi: 10.1097/APO.0000000000000234

3. Wong Y-L, Sabanayagam Ch, Ding Y, Wong Ch-W, Yeo ACh-H, Cheung Y-B, et al. Prevalence, risk factors, and impact of myopic macular degeneration on visual impairment and functioning among adults in Singapore. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018; 59(11): 4603-4613. doi: 10.1167/iovs.18-24032

4. Fang Y, Yokoi T, Nagaoka N, Shinohara K, Onishi Y, Ishida T, et al. Progression of myopic maculopathy during 18-year follow-up. *Ophthalmology*. 2018; 125(6): 863-877. doi: 10.1016/j.ophtha.2017.12.005

5. Wong TY, Ferreira A, Hughes R, Carter G, Mitchell P. Epidemiology and disease burden of pathologic myopia and myopic choroidal neovascularization: An evidence-based systematic review. *Am J Ophthalmol*. 2014; 157(1): 9-25.e12. doi: 10.1016/j.ajo.2013.08.010

6. Wong Y-L, Sabanayagam Ch, Wong Ch-W, Cheung Y-B, Man REK, Yeo AC-H, et al. Six-year changes in myopic macular degeneration in adults of the Singapore epidemiology of eye diseases study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2020; 61(4): 14. doi: 10.1167/iovs.61.4.14

7. Yoshida T, Ohno-Matsui K, Yasuzumi K, Kojima A, Shimada N, Futagami S, et al. Myopic choroidal neovascularization: A 10-year follow-up. *Ophthalmology*. 2003; 110(7): 1297-1305. doi: 10.1016/S0161-6420(03)00461-5

8. Wakabayashi T, Ikuno Y, Oshima Y, Hamasaki T, Nishida K. Aqueous concentrations of vascular endothelial growth factor in eyes with high myopia with and without choroidal neovascularization. *J Ophthalmol*. 2013; 2013: 257381. doi: 10.1155/2013/257381

9. Shchuko AG, Zaitseva NV, Iureva TN, Chernykh ER, Mikhalevich IM, Grigorieva AV. Role of immunological factors in the development of myopic choroidal neovascularization. *The Russian Annals of Ophthalmology*. 2016; 132(5): 5-14. doi: 10.17116/oftalma201613255-14. (In Russ.)

10. Wolf S, Balciuniene VJ, Laganovska G, Menchini U, Ohno-Matsui K, Sharma T, et al. RADIANCE: A randomized controlled study of ranibizumab in patients with choroidal neovascularization secondary to pathologic myopia. *Ophthalmology*. 2014; 121(3): 682-92.e2. doi: 10.1016/j.ophtha.2013.10.023

11. Wong TY, Ohno-Matsui K, Leveziel N, Holz FG, Lai TY, Yu HG, et al. Myopic choroidal neovascularisation: Current concepts and update on clinical management. *Br J Ophthalmol*. 2015; 99(3): 289-296. doi: 10.1136/bjophthalmol-2014-305131

12. Sayanagi K, Uematsu S, Hara C, Wakabayashi T, Fukushima Y, Sato S, et al. Effect of intravitreal injection of aflibercept or ranibizumab on chorioretinal atrophy in myopic choroidal neovascularization. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2019; 257: 749-757. doi: 10.1007/s00417-018-04214-w

13. Silva R. Myopic maculopathy: A review. *Ophthalmologica*. 2012; 228(4): 197-213. doi: 10.1159/000339893

14. Ruiz-Moreno JM, Roura M. Cost of myopic patients with and without myopic choroidal neovascularization. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2016; 91(6): 265-272. doi: 10.1016/j.oftal.2016.01.013

15. Grigorieva AV, Iureva TN, Kursakova JuV, Ivanova EI. The role of changes in hormonal status in the formation of myopic chorioretinal neovascularization. *Sovremennye tekhnologii v oftal'mologii*. 2017; 4: 61-64. (In Russ.)

16. Tanemura M, Miyamoto N, Mandai M, Kamizuru H, Ooto S, Yasukawa T, et al. The role of estrogen and estrogen receptorbeta in choroidal neovascularization. *Mol Vis*. 2004; 10: 923-932.

17. Hormel TT, Jia Y, Jian Y, Hwang ThS, Bailey ST, Pennesi ME, et al. Plexus-specific retinal vascular anatomy and pathologies as seen by projection-resolved optical coherence tomographic angiography. *Prog Retin Eye Res*. 2021; 80: 100878. doi: 10.1016/j.preteyeres.2020.100878

18. Von der Burchard C, Treumer F, Ehlken Ch, Koinzer S, Purtskhvanidze K, Tode J, et al. Retinal volume change is a reliable OCT biomarker for disease activity in neovascular AMD. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2018; 256(9): 1623-1629. doi: 10.1007/s00417-018-4040-7

19. Coscas GJ, Lupidi M, Coscas F, Cagini C, Souied EH. Optical coherence tomography angiography versus traditional multimodal imaging in assessing the activity of exudative age-related macular degeneration: A new diagnostic challenge. *Retina*. 2015; 35(11): 2219-2228. doi: 10.1097/IAE.0000000000000766

20. Bruyère E, Miere A, Cohen SY, Martiano D, Sikorav A, Popeanga A, et al. Neovascularization secondary to high myopia imaged by optical coherence tomography angiography. *Retina*. 2017; 37(11): 2095-2101. doi: 10.1097/IAE.0000000000001456

21. Maturana MA, Irigoyen MC, Spritzer PM. Menopause, estrogens, and endothelial dysfunction: Current concepts. *Clinics (Sao Paulo)*. 2007; 62(1): 77-86. doi: 10.1590/s1807-59322007000100012

22. Grigorieva AV, Shchuko AG, Kursakova YuV, Ivanova EI, Samsonov DYu. Hormonal and lipid imbalances in the formation of myopic chorioretinal neovascularization in women. *Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2019; 15(2): 447-451. (In Russ.)

23. Rubanyi GM, Kauser K, Johns A. Role of estrogen receptors in the vascular system. *Vascular Pharmacology*. 2002; 38: 81-88.

24. Belotserkovtseva LD, Kovalenko LV, Korneeva EV, Shishanok OYu. Endothelial dysfunction as a predictor of the development of metabolic syndrome in perimenopausal women. *Journal of New Medical Technologies.* 2010; 17(1): 91-93. (In Russ.)

Сведения об авторах

Григорьева Алина Валерьевна – кандидат медицинских наук, врач-офтальмолог высшей категории, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: alinka68@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-0286-8412

Юрьева Татьяна Николаевна – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России; профессор кафедры офтальмологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; профессор кафедры глазных болезней, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: tnyurieva@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-0547-7521

Курсакова Юлия Владимировна – заведующая клинико-диагностической лабораторией, врач клинической лабораторной диагностики высшей категории, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России, https://orcid.org/0000-0002-3857-6844

Иванова Елена Ивановна – ассистент кафедры акушерства и гинекологии с курсом гинекологии детей и подростков, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: e.ivanova@ismu.baikal.ru

Самсонов Дмитрий Юрьевич – кандидат медицинских наук, врач-офтальмолог высшей категории, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: dsamsonoff@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7971-4521

Михалевич Исай Моисеевич – кандидат геолого-минералогических наук, доцент, заведующий кафедрой информатики, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России

Information about the authors

Alina V. Grigorieva – Cand. Sc. (Med.), Ophthalmologist, Irkutsk Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: alinka68@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-0286-8412

Tatiana N. Iureva – Dr. Sc. (Med.), Professor, Deputy Director for Science, Irkutsk Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; Professor at the Department of Ophthalmology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Professor at the Department of Eye Diseases, Irkutsk State Medical University, e-mail: tnyurieva@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-0547-7521

Julia V. Kursakova – Head of the Laboratory, Irkutsk Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, https://orcid.org/0000-0002-3857-6844

Elena I. Ivanova – Teaching Assistant at the Department of Obstetrics and Gynecology with the Course of Gynecology of Children and Adolescents, Irkutsk State Medical University, e-mail: e.ivanova@ismu.baikal.ru

Dmitry Yu. Samsonov – Cand. Sc. (Med.), Ophthalmologist, Irkutsk Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: dsamsonoff@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-7971-4521

Isai M. Mikhalevich – Cand. Sc. (Geolog.-Mineral.), Associate professor, Head of the Department of Informatics, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education

Статья получена: 11.03.2021. Статья принята: 12.05.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 11.03.2021. Accepted: 12.05.2021. Published: 15.06.2021.

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.13

Основы диабетического катарактогенеза и перспективные пути его фармакологической коррекции

Спасов А.А., Науменко Л.В., Говорова Ю.А.

ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Говорова Юлия Александровна, e-mail: j.govorova@yandex.ru

Резюме

Среди поздних осложнений сахарного диабета отдельно выделяется катаракта, приводящая к снижению зрительных функций и в дальнейшем – к слепоте. Несмотря на превалирование в настоящее время хирургии катаракты, которая при сахарном диабете сопровождается рядом ограничений и осложнений, продолжаются поиски эффективных средств консервативной терапии. В настоящем обзоре, выполненном на основе анализа данных научных источников преимущественно за 2015–2020 гг. с использованием Интернет-ресурсов (PubMed, Web of Science, Medline, eLibrary.ru, Cyberleninka), диабетический катарактогенез представлен как совокупность параллельных, но связанных и взаимовлияющих патобиохимических процессов, основными из которых являются избыточно интенсифицированные при сахарном диабете полиоловый путь превращения глюкозы, неферментативное гликирование и окислительная модификация хрусталиковых белков. Учитывая тот факт, что в хрусталике имеется высокое содержание белка, особое значение в появлении зон светорассеяния и снижения прозрачности хрусталика имеет формирование белковых агрегатов с высокой молекулярной массой. В обзоре подробно изложены данные о наиболее перспективных в эксперименте антикатарактальных соединениях, влияющих на посттрансляционную модификацию кристаллинов, препятствующих осмотическому и оксидативному стрессу в хрусталике и проявляющих антигликирующие свойства в отношении хрусталиковых белков. Эти данные наглядно подтверждают точку зрения о том, что поиск средств фармакологической коррекции катарактогенеза должен проводится, в первую очередь, среди соединений, обладающих антиоксидантной и антигликирующей активностью.

Ключевые слова: *сахарный диабет, катаракта, неферментативное гликирование, кристаллины, оксидативный стресс, конечные продукты гликирования, активные кислородные метаболиты, антигликирующее соединение*

Для цитирования: Спасов А.А., Науменко Л.В., Говорова Ю.А. Основы диабетического катарактогенеза и перспективные пути его фармакологической коррекции. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 114-125. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.13.

Fundamentals of Diabetic Cataractogenesis and Promising Ways of its Pharmacological Correction

Spassov A.A., Naumenko L.V., Govorova Yu.A.

Volgograd State Medical University (Pavshikh Bortsov square 1a, Volgograd 4001311, Russian Federation)

Corresponding author: Govorova Yulia, e-mail: j.govorova@yandex.ru

Abstract

Cataracts in diabetes mellitus lead to decreased visual function and blindness. Cataract surgery for diabetes mellitus has limitations and complications. The search for effective means of conservative cataract therapy continues. The review presents the analysis of data from scientific sources, mainly for 2015–2020 using Internet resources (PubMed, Web of Science, Medline, eLibrary.Ru, Cyberleninka). In the work, diabetic cataractogenesis is presented as a sum of interrelated pathobiochemical processes. The main ones are the polyol pathway of glucose conversion, non-enzymatic glycation and oxidative modification of lens proteins, which are enhanced in diabetes mellitus. The lens has a high protein content. The formation of high molecular weight protein aggregates is of particular importance for the appearance of light scattering zones and a decrease in lens transparency. This review presents data on anti-cataract compounds that affect post-translational crystallin modification, prevent osmotic and oxidative stress in the lens, and exhibit antiglycation properties. This information shows that the search for means of pharmacological correction of cataractogenesis should be carried out among compounds with antioxidant and antiglycation activity.

Key words: *diabetes mellitus; cataract; non-enzymatic glycation, crystallins, oxidative stress, glycation end products; active oxygen metabolites; antiglycation compound*

For citation: Spassov A.A., Naumenko L.V., Govorova Yu.A. Fundamentals of Diabetic Cataractogenesis and Promising Ways of its Pharmacological Correction. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 114-125. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.13.

ДИАБЕТИЧЕСКИЙ КАТАРАКТОГЕНЕЗ

Катаракта является одной из основных причин снижения остроты и качества зрения у пациентов с сахарным диабетом (СД) [1]. Согласно современным представлениям, окислительный стресс, активация полиолового пути превращения глюкозы и неферментативное гликирование в хрусталике приводят к образованию катаракты при СД [2] (рис. 1). Ведущим фактором, запускающим каскад патобиохимических процессов, составляющих суть диабетического катарактогенеза, является гипергликемия

[3], при которой происходит повышение концентрации глюкозы как во внутриглазной жидкости, так и в хрусталике. Хрусталик является инсулиннезависимой тканью, поэтому глюкоза из внутриглазной жидкости через капсулу поступает в хрусталик по градиенту концентрации. Основным транспортёром глюкозы в хрусталике является белок ГЛЮТ-1 [4], включая эпителиальные клетки хрусталика (ЭКХ) и хрусталиковые волокна. ЭКХ имеют митохондрии, что обеспечивает активный клеточный метаболизм. У хрусталиковых волокон же весьма ограниченные возможности для поддержания гомеостаза и противодействия внешним повреждающим факторам, так как в процессе дифференцировки они теряют клеточные органеллы и полностью зависят от функционирования ЭКХ и состава внутриглазной жидкости [5].

В норме поступающая в хрусталик глюкоза в основном фосфорилируется и метаболизируется по одному из путей: гликолиза или пентозофосфатного цикла. Однако 5–10 % нефосфорилированной глюкозы превращается в сорбитол альдозоредуктазой (АР), эпителиальным ферментом, который использует восстановленный никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФН) в качестве кофактора. При повышении концентрации глюкозы в хрусталике полиоловый путь становится более интенсивным, поскольку избыток глюкозы стимулирует АР. Вскоре после полной активации АР более 30 % глюкозы подвергается полиоловому пути превращения [6]. Перепроизводство сорбитола – гидрофильного многоатомного спирта – у пациентов с СД происходит быстрее, чем он может быть превращён во фруктозу с помощью фермента сорбитолдегидрогеназы, преобразующей кофактор окисленный никотинамидадениндинуклеотид ($НАД^+$) в восстановленный никотинамидадениндинуклеотид (НАДН).

Диффузия сорбитола через клеточную мембрану невозможна из-за его полярного характера. Гиперосмотический эффект создаётся, когда накопление сорбита приводит к повышенному поступлению жидкости в хрусталик, в результате чего хрусталиковые волокна разжижаются, дегенерируют и образуют помутнения [7]. Для уменьшения рассеивания света межклеточное пространство в хрусталике должно быть меньше длины световой волны. В условиях осмотического стресса межклеточное пространство расширяется, что ведёт к снижению оптических свойств хрусталика [5].

Более того, сообщалось об отрицательной корреляции между уровнем АР в эритроцитах и плотностью ЭКХ, которая, как известно, ниже у диабетиков, чем у недиабетиков [8]. Роль АР в диабетическом катарактогенезе подтверждается работой, в которой было показано, что хрусталики крыс, имеющие низкую экспрессию АР или не имеющие её вовсе, при инкубировании в среде с глюкозой устойчивы к развитию диабетической катаракты [9].

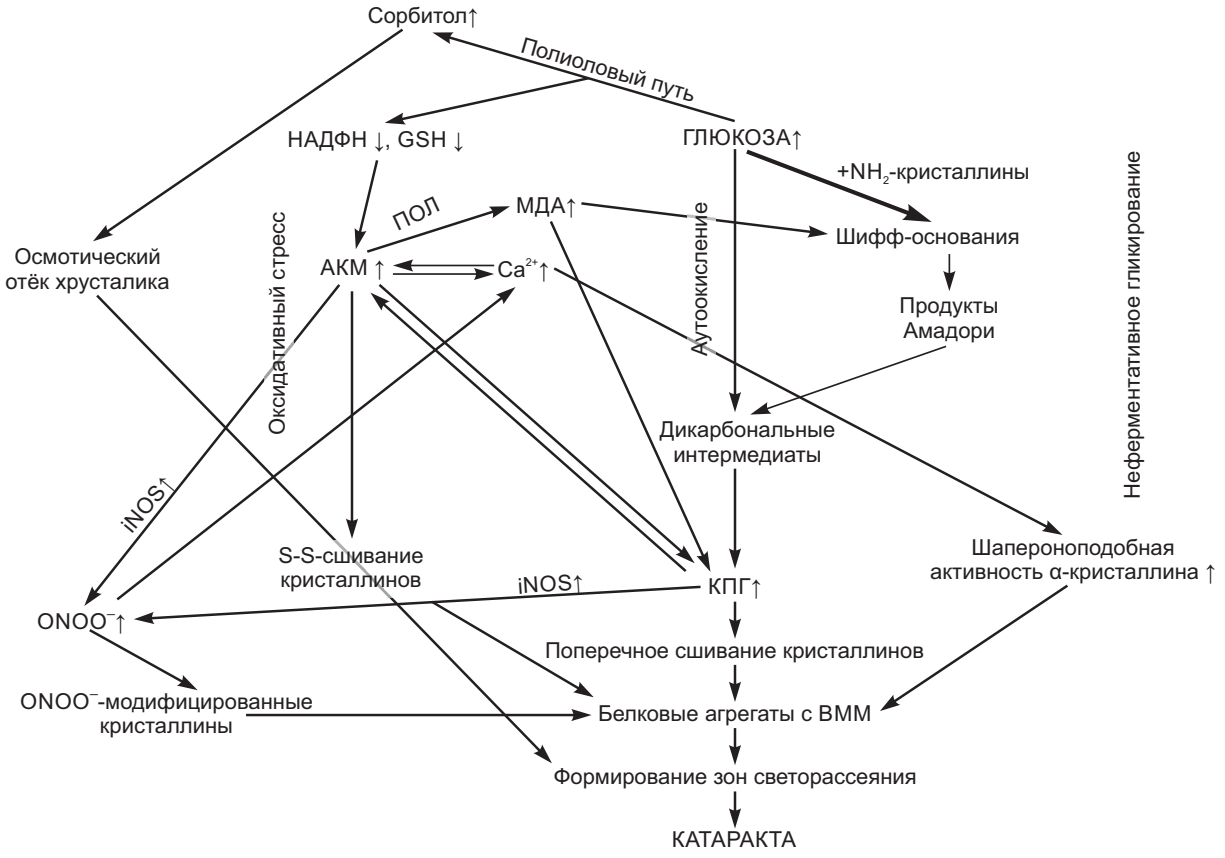


Рис. 1. Принципиальная схема патобиохимических процессов в хрусталике, приводящих к диабетическому катарактогенезу: ПОЛ – перекисное окисление липидов; МДА – малоновый диальдегид; АКМ – активные кислородные метаболиты; НАДФН – никотинамидадениндинуклеотидфосфат; GSH – восстановленный глутатион; белковые агрегаты с ВММ – белковые агрегаты с высокомолекулярной массой; iNOS – индуцибельная синтаза оксида азота; ONOO– – пероксинитрит

Fig. 1. Schematic diagram of pathobiochemical processes in the lens leading to diabetic cataractogenesis: ПОЛ – lipid peroxidation; МДА – malondialdehyde; АКМ – active oxygen metabolites; НАДФН – nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; GSH – reduced glutathione; белковые агрегаты с ВММ – protein aggregates with high molecular weight; iNOS – inducible synthase of nitric oxide; $ONOO^-$ – peroxynitrite

Параллельно с осмотическим стрессом хрусталика интенсивный полиоловый путь превращения глюкозы истощает запасы НАДФН, что ведёт к снижению концентрации восстановленного глутатиона (GSH) и меняет соотношение НАДФН/НАД$^+$, которые являются необходимыми коферментами для окислительно-восстановительных реакций [10, 11]. Глутатион является одним из основных эндогенных антиоксидантов и имеет среди них самую высокую концентрацию в хрусталике, особенно в ЭКХ, что делает хрусталик резервуаром GSH для внутриглазной жидкости [12]. В хрусталике глутатион играет важную роль в сохранении тиолдисульфидного равновесия (SH/S-S) и обеспечивает ион водорода в реакции, катализируемой глутатионпероксидазой. Следовательно, как ключевой фермент в полиоловом пути обмена глюкозы, АР способствует образованию активных кислородных метаболитов (АКМ) из-за истощения запасов таких антиоксидантных молекул, как НАДФН и GSH, поэтому ингибирование АР подавляет выработку АКМ в глазах [13].

В условиях длительной гипергликемии, приводящей к митохондриальной дисфункции ЭКХ [14], дыхательная цепь митохондрий способствует одноэлектронному восстановлению кислорода до супероксидного радикала (O^{2-}) и других АКМ. Тот факт, что именно метаболически активные ЭКХ служат источниками АКМ, подтверждается данными исследования, полученными с помощью проточной цитометрии культуры ЭКХ, культивированных в среде с повышенным содержанием (40 мМ) глюкозы в течение 48 часов [15]. Из ЭКХ АКМ диффундируют в другие структуры хрусталика [16].

Также при гипергликемии активность антиоксидантных ферментов может снизиться из-за изменённого метаболизма их кофакторов, в частности, ионов металлов, а также неферментативное гликирование антиоксидантных ферментов ухудшает их функцию [17]. В совокупности это способствует образованию АКМ и оксидативному стрессу в хрусталике при СД.

Следует подчеркнуть, что хрусталик преимущественно является белковой структурой, так как 35 % массы хрусталика и 85 % его сухого остатка составляют белки [5, 18]. В современной научной литературе, затрагивающей проблемы возрастной и диабетической катаракты, описывается влияние патобиохимических процессов, главным образом, на строение и функции основных водорастворимых белков хрусталика (90 % его сухой массы [5, 18]) – кристаллинов. В- и γ-кристаллины, состоящие из 4 родственных последовательностей «Greek-key» мотивов, образующих бета-витки, и формирующие глобулярные домены в N- и С-терминальных областях, относят к одному суперсемейству протеинов. А-кристаллин, имеющий две изоформы (αA- и αB-кристаллины присутствуют в хрусталике в соотношении 3:1 [19]) представляет собой высокогетерогенные олигомерные комплексы с молекулярной массой от 300 до 1200 КДА и средней молекулярной массой около 700 КДА. А- и β-кристаллины преобладают в коре хрусталика, а γ-кристаллины – в ядре. По одним данным, самым распространённым в хрусталике является β-кристаллин [16], по другим – α-кристаллин [20]. Именно растворимые цитоплазматические кристаллины обусловливают высокий коэффициент преломления (при этом коэффициент преломления цитоплазмы клеток равен коэффициенту преломления мембран), образуя упорядоченный гель с низким содержанием воды и высокой плотностью стабильных длительно живущих белков, поэтому агрегация кристаллинов в комплексы с высокой молекулярной массой (ВММ) приводит к появлению зон светорассеяния и снижению прозрачности хрусталика [21].

Повышенное образование АКМ при СД приводит к окислению, сшиванию и агрегации кристаллинов путём окисления сульфгидрильных (-SH) групп [22] в цистеине и метионине, которые имеют высокое содержание в хрусталиковых белках [23] с образованием сульфоновых и дисульфидных групп (данный вид окисления частично обратим за счёт восстановительной функции GSH). Такие белковые агрегаты с большим количеством S-S-связей являются мишенями для окислительного повреждения, что ускоряет их агрегацию при катарактогенезе. Окисление затрагивает третичную структуру белка, приводя к формированию гидрофобных участков молекул, появлению межмолекулярных связей и, в итоге, к образованию нерастворимых белковых агрегатов с ВММ. Изменение нативных внутри- и межбелковых взаимодействий нарушает строго упорядоченную структуру хрусталика, которая необходима для сохранения его прозрачности [24]. В результате повреждающего действия АКМ в хрусталике возникают флуктуации концентрации белка, что приводит к появлению зон светорассеяния и развитию помутнений в хрусталике [16]. Это подтверждается результатами работы [25], в которой проводилось измерение поглощения и рассеяния света человеческих и крысиных хрусталиков, инкубированных в среде, содержащей 55 мМ глюкозы, с помощью УФ-спектрометра. Уровни GSH, КАТ и АР в исследуемых хрусталиках крыс были снижены, уровень RAGE (Receptor For Advanced Glycation End products) – специфичных рецепторов КПГ – практически не изменился. Авторы пришли к выводу, что прогрессирующие помутнения в хрусталиках были преимущественно связаны со светорассеянием из-за структурных изменений, а не с абсорбцией света в связи с метаболическими изменениями в хрусталиках.

Дисбаланс между АКМ и антиоксидантами может привести к перекисному окислению липидов (ПОЛ) в хрусталике [26], одним из вторичных продуктов которого является малоновый диальдегид (МДА). МДА – это высокореактивное соединение, которое способно реагировать с ε-NH2-группами белков, формируя новые связи внутри и между молекулами с образованием шиффовых оснований. Содержание МДА в хрусталиках при СД в исследованиях используется как показатель оксидативного стресса [15].

При повышенном уровне глюкозы в хрусталике также образуются карбонильные интермедиаты как итоговые продукты аутоокисления глюкозы и как промежуточные – неферментативного гликирования белков хрусталика. К ним относятся 3-дезоксиглюказон, глиоксаль, метилглиоксаль (МГ). Данное явление в литературе описывается как карбонильный стресс – состояние, которое сопровождается увеличением содержания карбонильных продуктов свободнорадикального окисления в организме. К карбонильным продуктам метаболизма относятся альдегиды, кетоны, карбоновые кислоты, углеводы и др. Карбонильные соединения способны взаимодействовать с аминогруппами хрусталиковых белков, вызывая их структурные модификации, поперечные сшивки с формированием белковых агрегатов с ВММ [27], в частности,

активным гликирующим агентом кристаллинов является МГ [27]. Образование карбонильных групп белков происходит различными биохимическими путями и является частью так называемой окислительной модификации белков, пусковыми факторами которой чаще всего служат АКМ. Возрастание содержания карбонильных групп белков в хрусталике связано с катарактогенезом [28], в том числе с диабетическим [22]. Таким образом, и оксидативный, и карбонильный стрессы вносят вклад в диабетический катарактогенез.

Также образование из хрусталиковых белков агрегатов с ВММ за счёт формирования меж- и внутримолекулярных поперечных сшивок, сопровождающихся конформационными преобразованиями, возможно при реакции между конечными продуктами гликирования (КПГ) [29] и длительно живущими хрусталиковыми белками. В любом случае производительность этого многоэтапного процесса, известного как реакция Майара, будет зависеть от уровня и длительности экспозиции глюкозы. Основные пути формирования КПГ включают реакцию глюкозы или дикарбонильных интермедиатов с первичными аминами (N-концевой или лизиновой боковой цепью) или гуанидиновой группой аргининовой боковой цепи [30]. Дикарбонилы более реактивны, чем глюкоза, что делает их релевантными гликирующими агентами, несмотря на общую низкую концентрацию дикарбонилов в тканях [30].

К КПГ относят: пентозидин, аргпиримидин, глиоксальлизиновый димер, метилглиоксальлизиновый димер, карбоксиметиллизин (КМЛ), пирралин и др. Отмечается их повышенное содержание в хрусталиках при диабетическом катарактогенезе [31]. Повышение содержания КПГ в хрусталике проводит к изменению его цвета и снижению прозрачности [27, 32, 33].

АКМ могут ускорить образование КПГ, индуцируя продукцию реактивных карбонильных групп, и, наоборот, КПГ могут вызывать оксидативный стресс путём различных химических и клеточных механизмов, в том числе за счёт активирования НАДФ-оксидазы (КПГ (AGEs) и их рецептор RAGE могут непосредственно индуцировать генерацию АКМ через активацию НАДФН-оксидазы [34]) и гликирования антиоксидантных ферментов. Таким образом, неферментативное гликирование и окислительное повреждение белков хрусталика являются основными факторами, ответственными за формирование диабетической катаракты (ДК) [35], изменяя структуру и стабильность белков хрусталика и индуцируя образование поперечных сшивок, агрегацию и нерастворимость белков [36].

В работе [37], в которой была сделана попытка с помощью протеомного анализа в эксперименте отдифференцировать изменения, происходящие с хрусталиковыми белками при СД 1-го и 2-го типа, авторы отметили, что повышенное содержание белковых агрегатов с ВММ, которые, вероятнее всего, являются гликированными и/или сшитыми кристаллинами, присутствует в хрусталиках в обеих экспериментальных моделях ДК. Образовавшиеся в хрусталике вследствие неферментативного гликирования белковые агрегаты с ВММ вызывают светорассеяние, снижение показателя преломления и помутнение хрусталика [38].

Для α-кристаллинов также была описана их роль как белков-шаперонов (впервые – J. Horwitz [39]). Таким образом, α-кристаллины препятствуют денатурации и последующей агрегации хрусталиковых белков в результате различных стрессовых факторов, а также способствуют рефолдингу их нативной структуры [16, 19, 40]. Причём шапероноподобной активностью обладают каждая из изоформ α-кристаллина в виде гомоолигомеров. Гликирование α-кристаллина различными гликирующими агентами, включая глюкозу и МГ, приводит к снижению его шапероноподобной активности, а также к накоплению карбонильных белковых групп и КПГ в хрусталиках, главным образом, КМЛ [20]. В работе [41], где также изучался процесс гликирования изолированного α-кристаллина МГ и глиоксалем, были получены аналогичные результаты, к тому же авторы отметили, что гликированный α-кристаллин имел цвет от жёлтого до тёмно-коричневого, похожий на цвет белков, выделенных из катарактальных хрусталиков. Таким образом, можно сделать вывод, что гликирование α-кристаллина снижает его шапероноподобную активность и способствует диабетическому катарактогенезу [42, 43]. В работе [44], в которой проводились измерения изменённой флуоресценции гликированного α-кристаллина, авторы предлагали использовать аутофлуоресценцию хрусталика как новый неинвазивный способ диагностики СД по аналогии с исследованием гликированного гемоглобина.

Также одним из последствий избытка АКМ в хрусталике является так называемый нитрозативный стресс, связанный с повышенным образованием пероксинитрита ($ONOO^-$). АКМ могут активировать транскрипцию генов через факторы транскрипции: NFkB, AP (активирующий протеин) -1, ARE (антиоксидант-респонсивный элемент) – связывающие белки. Активация и миграция NFkB в ядро при гипергликемии приводит к его усиленному связыванию с промотором индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) и последующему увеличению её экспрессии. iNOS катализирует окисление L-аргинина и приводит к повышенному образованию NO в ЭКХ [45]. Связь повышенной экспрессии iNOS и избыточного содержания оксида азота NO в хрусталиках с катарактогенезом подтверждается в работе [46]. Повышенная доступность активных форм кислорода (АФК) способствует их реакции с оксидом азота NO с образованием пероксинитрита ($ONOO^-$). Эта реакция протекает почти в пять раз быстрее по сравнению со скоростью нейтрализации O_2-СОД, что способствует образованию $ONOO^-$. $ONOO^-$ снижает уровень GSH в хрусталиках [42], а также отрицательно влияет на шапероноподобную активность α-кристаллина и способствует образованию КПГ кристаллинов [47]. Ингибирование АР может ослабить стимуляцию и высвобождение NF-kB в ЭКХ и, соответственно, приводить к снижению экспрессии iNOS [45].

Оксидативный стресс также вызывает истощение запаса внутриклеточного аденозинтрифосфата (АТФ) вследствие митохондриальной дисфункции. Снижение содержания АТФ, окисление и неферментативное гликирование АТФаз приводят к снижению функций этих ферментов. Так, нарушение работы Na^+/K^+-АТФазы плазматической мембраны приводит к внутриклеточному накоплению натрия и воды. Дисфункция Na^+/Ca^{2+}-обменника и Ca^{2+}-АТФазы клеточной мембраны приводит к нарушению оттока кальция как из ЭКХ, так из хрусталиковых волокон при катарактогенезе [48]. В то же время нарушение работы Ca^{2+}-АТФазы эндоплазматического ретикулума (ЭПР)

при катаракте приводит к выходу сексвестированных в ЭПР ионов Ca^{2+} в цитоплазму [49]. $ONOO^-$ индуцирует также отток внутриклеточного Ca^{2+} из митохондрий. Повышенная концентрация внутриклеточного кальция в хрусталике при катаракте [50] активирует ферментативную активность цистеиновой протеазы кальпаина в отношении хрусталиковых белков. В присутствии различных концентраций $Ca2^+$ в среде агрегация модифицированных $ONOO^-$ хрусталиковых белков с образованием гидрофобных участков происходит в большей степени, чем нативных хрусталиковых белков [47]. Поддержание низкого уровня кальция в хрусталике является одним из условий сохранения стабильности хрусталиковых белков [51]. Повышение концентрации $Ca2^+$ в хрусталиках запускает работу трансглутаминазы, которая катализирует образование глутамил-лизиловых сшивок в молекулах хрусталиковых белков, вызывая их агрегацию [52]. Длительное повышение содержания внутриклеточного $Ca2^+$ приводит к активации протеинкиназы С и последующему увеличению уровня АКМ в хрусталике [53]. Кроме того, Ca^{2+} способствует агрегации α-кристаллина, ослабляя его шапероноподобную активность, которая необходима для сохранения прозрачности хрусталика [52].

Один из важнейших механизмов клеточной защиты от оксидативного стресса регулируется редокс-чувствительной сигнальной системой Keap1/Nrf2/ARE. Фактор транскрипции Nrf2 (nuclear E2-related factor 2) регулирует экспрессию более 500 генов, содержащих в своих промоторах антиоксидант-респонсивный элемент ARE (antioxidant respons(iv)e element). В клетках Nrf2 находится под постоянным контролем репрессорного белка Keap1 (Kelch-like ECH associating protein 1). Среди контролируемых Keap1/Nrf2/ARE генов присутствуют многие антиоксидантные ферменты (гемоксигеназа-1, глутатионпероксидаза-2, глутаматцистеинлигаза, глутатионредуктаза, тиоредоксинредуктаза, тиоредоксин, КАТ, глутатион-S-трансфераза и др.) В физиологических условиях и условиях низкого окислительного стресса Nrf2 локализуется в цитоплазме вместе с супрессорным белком Keap1 и деградируется убиквитиновыми протеасомными путями. Окислительные и электрофильные стрессы изменяют комплекс Nrf2-Keap1 и способствуют транслокации Nrf2 в ядро. В ядре Nrf2 связывается с ARE, чтобы активировать множественную экспрессию антиоксидантных генов.

Как было сказано выше, при катарактогенезе в хрусталике многократно увеличивается продукция АКМ [54]. Избыток АКМ может превышать Nrf2-зависимую систему антиоксидантной защиты, изменять окислительно-восстановительный баланс в сторону окисления хрусталиковых белков [55]. В работе [56] авторы изучили статус метилирования (которое является способом эпигенетического контроля транскрипции путём переноса метилтрансферазами CH_3-группы с S-аденозилметионина на остатки цитозина в составе CpG-динуклеотида с образованием 5-метилцитозина) CpG-динуклеотидов в проморном участке Keap1 ДНК ЭКХ прозрачных хрусталиков с ДК. Исследование выявило значительный уровень деметилированной ДНК в промоторе Keap1 в катарактальных хрусталиках. Высокометилированная ДНК была обнаружена в ЭКХ прозрачного хрусталика. Авторы работы предположили, что деметилирование CpG-динуклеотидов в промоторе Keap1 может активировать экспрессию белка Keap1, который затем снижает активность Nrf2 путём усиления его протеосомной деградации. Таким образом был сделан вывод о том, что гипергликемия приводит к нарушению Nrf2-зависимой антиоксидантной защиты хрусталиков при СД.

Описывая различные, но взаимодействующие пути развития катаракты при СД, следует добавить, что избыток глюкозы, АКМ и сорбитола в хрусталике индуцирует апоптоз ЭКХ при диабетическом катарактогенезе [15]. Повышенный выход ионов Ca^{2+} из ЭПР в цитоплазму при СД обуславливает активацию эндонуклеаз, липаз и протеаз, которые проводят к ультраструктурным изменениям цитоплазматической мембраны (ЦПМ) и клеточных органелл, что усиливает светорассеяние в хрусталиках [25]. Вне зависимости от пути активации апоптоза (внешний или внутренний) данный процесс невозможен без активации каспаз – семейства цистеиновых протеаз, расщепляющих белки в области остатка аспарагиновой кислоты.

ПУТИ ПРОФИЛАКТИКИ И ТОРМОЖЕНИЯ КАТАРАКТОГЕНЕЗА

В настоящее время ведущим методом лечения катаракты, в том числе диабетической катаракты (ДК), является радикальный – это хирургическое удаление помутневшего хрусталика различными способами, преимущественно заканчивающимися имплантацией интраокулярной линзы. Из данных литературы можно сделать вывод, что поиски антикатарактальных соединений ведутся ещё со второй половины прошлого века. Среди современных лекарственных средств для фармакологического ингибирования диабетического катарактогенеза селективно не рассматривается ни один препарат, хотя, согласно МКБ-10, диабетическая катаракта классифицируется как отдельная нозологическая единица (шифр H28.0). Согласно литературным источникам, ранее проводилось изучение влияния отдельных лекарственных средств, представленных на фармацевтическом рынке РФ, на диабетический катарактогенез, в частности таурина и пиреноксина. *Таурин* (2-аминоэтансульфоновая кислота) – серосодержащая аминокислота, образующаяся из метионина и цистеина в печени [57], которую можно назвать относительно незаменимой, так как дефицит таурина в диете является одной из причин формирования катаракты у животных [58], причём у человека весьма низкая способность к биосинтезу таурина [59]. При СД содержание таурина снижается в различных органах и тканях, в том числе и в хрусталике [57]. Причём содержание таурина в хрусталике коррелировало обратно пропорционально степени созревания катаракты, в том числе при ДК [60]. В ряде экспериментальных работ была продемонстрирована способность таурина тормозить диабетический катарактогенез [61, 62]: таурин способствовал снижению накопления малонового диальдегида (МДА) [60] и карбонильных белковых соединений [63], повышению активности каталазы (КАТ) и супероксиддисмутазы (СОД), повышал содержание восстановленного глутатиона (GSH) [63] в хрусталиках диабетических животных. Вероятно, данные факты объясняются наличием у таурина антиоксидантной активности, так как он предположительно способен поглощать супероксидный радикал (O^{2-}) [64]. Препарат, действующим веществом которого является пиреноксин [65] (*Каталин®*, Senju Pharmaceutical, Япония; пиреноксин конкурентно инги-

бирует действие хиноидных веществ, продуцируемых в результате аномального метаболизма ароматических аминокислот, стимулирующих превращение водорастворимого белка в хрусталике в нерастворимый, в результате чего вещество хрусталика мутнеет, хотя данная «хиноидная теория» катарактогенеза имеет определённую критику [66]), также изучался на экспериментальных животных моделях СД. В работе [62] было показано, что каталин при внутривенном или внутрибрюшинном введении крысам с аллоксан-индуцированным СД в дозе 20 мг/кг ежедневно в течение 6 недель предотвращал развитие ДК у животных в 100 % случаев, а также снижал у них уровень глюкозы в крови.

Несмотря на это, в клинической практике консервативная терапия катаракты в настоящее время признаётся малоэффективной [66, 67], но поиск путей фармакологической коррекции катарактогенеза должен быть продолжен с учётом новых данных о патогенезе катаракты.

Тормозящее влияние ингибиторов АР на катарактогенез было описано в ряде работ. Так Гигантол, извлечённый из стеблей растения *Dendrobium chrysotoxum* Lindl, традиционно использующийся в китайской медицине, *in vitro* подавлял активность АР в хрусталиках, а также транскрипцию генов АР в культуре ЭКХ [68], поэтому авторы исследования предлагают использовать его для профилактики образования диабетической катаракты. Также есть данные по экспериментальному изучению влияния ингибитора АР Сорбинила (*Sorbinil*) на животных моделях после экстракции катаракты. В работе [10] приводятся данные о том, что введение Сорбинила мышам задерживало эпителиально-мезенхимальный переход эпителиальных клеток хрусталика после удаления катаракты, т. е. развитие вторичной катаракты. В работе [6] по изучению Диосгенина (*Diosgenin*) – соединения, содержащегося в некоторых видах реликтового растения диоскореи, использовали галактоземическую экспериментальную модель, которая также вызывает формирование «сахарной катаракты», как и при гипергликемии. Диосгенин ингибировал АР, тормозил набухание клеток эпителия хрусталика, вызванного осмотическим стрессом, и задерживал катарактогенез. Также есть работа [69], в которой представлены данные о торможении диабетического катарактогенеза на культурах бычьих хрусталиков, которые инкубировались в средах, содержащих соответствующие флавоноиды. Наиболее активными оказались рутин и силибинин. По результатам исследования их применение снижало размеры белковых агрегатов хрусталика, образование карбонильных белковых групп, снижало интенсивность флюоресценции нетриптофановых КПГ, а также активность АР в реакционных смесях, содержащих выбранные флавоноиды. Влияние гормона шишковидной железы мелатонина на катарактогенез у диабетических животных было показано в работе [57]. Мелатонин приводил к ингибированию АР и сорбитолдегидрогеназы, повышал уровень GSH в хрусталиках и снижал уровень МДА в плазме крови диабетических крыс. Эти данные свидетельствуют о наличии различных, но взаимосвязанных механизмов диабетического катарактогенеза.

Задержка катарактогенеза водным экстрактом плодового околоплодника *Litchi chinensis* предположительно объяснялось его антиоксидантными свойствами [70]. В работе [71] было показано, что экстракт антоциана черники (*blueberry anthocyanin extract*) значительно замедлял прогрессирование ДК у крыс за счёт повышения активности СОД и GSH и снижения экспрессии NF-kB в хрусталиках. Гиполипидемическое соединение пробукол (*Probucol*) также ингибировало катарактогенез у крыс со стрептозотоцин-индуцированным СД за счёт своих антиоксидантных свойств, уменьшая накопление белковых карбонильных групп в хрусталике [71]. Ресвератрол способен поглощать АКМ и усиливать экспрессию различных антиоксидантных ферментов [22]. В данном исследовании ресвератрол не влиял на содержание сорбитола в хрусталиках у диабетических животных, но предотвращал повышение содержания в хрусталиках карбонильных групп белков, а также задерживал развитие катаракты. Изучалось влияние полифенольного соединения растительного происхождение – диосмина (*Diosmin*) на диабетический катарактогенез [11]. По результатам эксперимента у диабетических животных в хрусталиках были повышены уровни КАТ, СОД, глутатионпероксидазы, на фоне применения диосмина их уровни снижались, вероятно, за счёт уменьшения окислительного стресса в хрусталиках. Описано получение и экспериментальное изучение влияния авторегенеративной редокс-наночастицы, которая представляет собой CeO2 NPs, покрытую PEG-PLGA (PCNPs), на развитие диабетической катаракты при подкожном введении [72]. Было выявлено, что PCNPs адсорбирует АКМ, оказывая тем самым протекторное действие на эпителий хрусталика, а также ингибирует гликирование α-кристаллина, что позволяет сохранить его шапероноподобную активность, повышает концентрацию восстановленного глутатиона и снижает содержание белковых карбонильных групп белков, МДА и пентозидина. Также изучено влияние бутилфталида (DL-3-n-butylphthalide (NBP)), который применяется для лечения ишемического инсульта, на диабетический катарактогенез [55]. В эксперименте у крыс со стрептозотоцин-индуцированным СД в хрусталиках были повышены концентрации 2,4-динитрофенилгидрозина (белковый карбонил – показатель окислительного повреждения белков), 4-гидроксиноненала и МДА (показатели ПОЛ), а также снижена экспрессия антиоксидантных ферментов – каталазы и тиоредоксина. Однако NBP нормализовал эти показатели. Офтальмоскопический контроль состояния хрусталиков экспериментальных животных подтверждал задержку прогрессирования катаракты на фоне приёма NBP. Авторы объясняют антиоксидантную активность NBP повышенной экспрессией Nrf2 в хрусталиках. Было показано, что добавление аминокислоты гистидина в культуру ЭКХ уменьшает степень их апоптоза, вызванного H2O2 [73]. Также гистидин снижал образование в ЭКХ АФК, МДА, повышал содержание СОД, КАТ, GSH, задерживал ядерную транслокацию NFkB по данным вестерн-блоттинга.

Антиоксидантная активность и ингибирование диабетического катарактогенеза у крыс изофлавоном *пуэрарином* (*puerarin*) была продемонстрирована в работе [74]. В хрусталиках животных, получавших пуэрарин, были выше уровни GSH, глутатионредуктазы и общей антиоксидантной емкости, но ниже уровень МДА по сравнению с контрольными диабетическими крысами. Авторы предположили, что данные свойства пуэрарина связаны с влиянием на сигнальный путь Nrf2/HO-1 (гемокосигеназа-1), так как на фоне приёма пуэрарина были повышены

уровни экспрессии этих факторов в сетчатке лабораторных животных. Было показано [26], что *кофеин* (*caffeine*) также обладает антиоксидантной активностью, в частности, повышая содержание в хрусталиках животных со стрептозотоцин-индуцированным СД GSH, снижая содержание МДА и конечных продуктов окисления белков (advanced oxidation protein product, AOPP). Кофеин также снижал активность в хрусталиках КАТ, СОД и глутатионпероксидазы. Проводилось изучение потенциального антикатарактального эффекта блокатора рецепторов ангиотензина II *лозартана* при местном и пероральном применении у крыс-альбиносов со стрептозотоцин-индуцированным диабетом, причём местное применение лозартана оказало большее влияние на биохимию хрусталика (повышение уровня GSH, КАТ, СОД, глутатионпероксидазы, снижение концентрации ионов Ca2+ и МДА, повышение активности Na+/K+- и Ca2+-АТФаз, повышение содержания растворимых хрусталиковых белков в хрусталике у диабетических животных) [75].

Было показано, что добавление лиофилизированных *цианобактерий Aphanothece sacrum* в рацион крыс со стрептозотоцин-индуцированным СД приводило к снижению содержания КМЛ в хрусталиках [76]. Также авторы отметили, что содержание КМЛ в хрусталиках коррелировало со степенью развития помутнений в хрусталиках диабетических животных. В работе [27] по изучению антикатарактального эффекта карнозина (β-alanyl L-histidine) авторы показали, что карнозин уменьшал МГ-индуцированное структурное повреждение кристаллинов. В эксперименте *in vitro флавоноиды кемпферол*, *таксифолин* и *кверцетин* (*kaempferol*, *taxifolin*, *quercetin*) при добавлении к хрусталикам, инкубированным в среде с повышенным содержанием глюкозы, приводят к снижению накопления в хрусталиках КПК, белковых карбонильных групп, торможению образования агрегатов с ВММ, а также ингибируют АР [38].

Перспективен поиск антикатарактальных агентов среди соединений, обладающих антигликирующей активностью. Ранее были опубликованы работы по изучению ингибирующего влияния *аминогуанидина* на диабетический катарактогенез [78]. Новое производное пиразоло[5,1-c]-1,2,4-триазина – соединение АВ-19, которое в 14 раз превышает по антигликирующей активности аминогуанидин, задерживает развитие ДК за счёт снижения содержания КПГ и КМЛ в хрусталиках крыс со стрептозотоцин-индуцированным СД на 52 % ($p \leq 0,05$) по сравнению контрольными диабетическими животными [77]. Учитывая выявившийся в ходе эксперимента сопутствующий гипотензивный эффект соединения АВ-19 на уровень внутриглазного давления (который был достоверно повышен у контрольных крыс с СД по сравнению с интактными животными, но снижался на 70 % ($p \leq 0,05$) у крыс на фоне введения соединения АВ-19), дальнейшее изучение влияния антигликирующего производного пиразолотриазина на глазную патологию, ассоциированную с СД, открывает перспективные пути её фармакологической коррекции.

Было выявлено, что на фоне применения урсодезоксихолевой кислоты в хрусталиках диабетических животных восстанавливались нормальные уровни общей антиоксидантной ёмкости, МДА, H_2O_2, а также каспазы-12 (маркера апоптоза, вызванного ЭПР-стрессом), повышался уровень GSH. УФ-спектр поглощения растворимых белков хрусталиков диабетических крыс из контрольной группы продемонстрировал снижение интенсивности, однако аналогичный показатель в группах животных, которые получали урсодезоксихолевую кислоту, был близок к показателю группы интактных животных [79]. Авторы сделали вывод, что структурные изменения растворимых белков хрусталика были меньше у крыс, получавших урсодезоксихолевую кислоту. Благодаря измерению собственной триптофановой флуоресценции было выявлено изменение третичной структуры α-кристаллина у контрольных диабетических животных, что согласуется с вышеизложенными данными. Было изучено влияние *цинка* на диабетический катарактогенез (крысы со стрептозотоцин-индуцированным СД получали диету, обогащённую цинком). Результаты показали, что цинк, добавленный в рацион, ингибирует образование катаракты у диабетических животных, что сопровождается снижением потери растворимости белков хрусталика, уменьшением накопления АКМ, МДА, карбонильных групп белков, КПГ, белковых агрегатов с ВММ, снижение экспрессии RAGE, АР, кальпаина в хрусталиках. Также авторы отметили, что при диабетическом катарактогенезе наблюдается сверхэкспрессия α-кристаллина и белковых фракций с ВММ, однако цинк снижал эти показатели, вероятно, за счёт ингибирования окидативного стресса в хрусталике, а также взаимодействия иона цинка с α-кристаллином, что приводит к образованию соединения с низкой константой диссоциации. Последнее, предположительно, приводит к стабилизации структуры α-кристаллина в условиях избытка глюкозы в хрусталике, и к поддержанию его шапероноподобной активности. *Кроцин(ы)* (crocin(s)), они же апокаротиноиды) повышали уровень GSH и активность КАТ в хрусталиках диабетических крыс [43]. Исследование *in vitro* показало, что кроцин(ы) ингибируют гликирование и агрегацию α-кристаллина, а также восстанавливают его шапероноподобную активность, уменьшают флуоресценцию КПГ и накопление белковых агрегатов с ВММ. Влияние L-лизина на шапероноподобную активность α-кристаллина, которое проявлялось в задержке термоиндуцированной агрегации КАТ, описано в работе [80]. Также лизин снижал образование КПГ и агрегатов с ВММ, снижал активность АР, но повышал активность КАТ и СОД в хрусталиках у диабетических крыс.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Преимущественным условием развития диабетической катаракты и других осложнений СД является избыток глюкозы [3], который запускает каскад локально и биохимически связанных патологических процессов в хрусталике. Тот факт, что хрусталик имеет высокое содержание белков [4, 18], длительно живущих в условиях ограниченного метаболизма и уязвимых для посттрансляционных модификаций [16], говорит об основной роли в диабетическом катарактогенезе, помимо осмотического стресса хрусталика в результате накопления сорбитола, формирования патологических белковых агрегатов с ВММ в результате окислительной модификации и неферментативного гликирования кристаллинов. Следовательно, несмотря на определённый антикатарактальный эффект ингибиторов альдозоредуктазы, показанный в экспериментальных исследованиях, современный поиск путей фармакологического ингиби-

рования диабетического катарактогенеза должен вестись среди соединений, обладающих антиоксидантной и антигликирующей активностью с целью сохранения нативной структуры кристаллинов в условиях избытка глюкозы.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Šimunović M, Paradžik M, Škrabić R, Unić I, Bućan K, Škrabić V. Cataract as early ocular complication in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Int J Endocrinol.* 2018; 20: 6763586. doi: 10.1155/2018/6763586

2. Stefek M. Natural flavonoids as potential multifunctional agents in prevention of diabetic cataract. *Interdiscip Toxicol*. 2011; 4(2): 69-77. doi: 10.2478/v10102-011-0013-y

3. Abdelkader H, Longman M, Alany RG, Pierscionek B. On the anticataractogenic effects of L-carnosine: Is it best described as an antioxidant, metal-chelating agent or glycation inhibitor? *Oxid Med Cell Longev*. 2016; 16: 3240261. doi: 10.1155/2016/3240261

4. Mantych GJ, Hageman GS, Devaskar SU. Characterization of glucose transporter isoforms in the adult and developing human eye. *Endocrinology*. 1993; 133(2): 600-607. doi: 10.1210/endo.133.2.8344201

5. Королёва И.А. Метаболизм хрусталика: особенности и пути коррекции. РМЖ. *Клиническая офтальмология*. 2015; 4: 191-195.

6. Ji L, Cheng L, Yang Z. Diosgenin, a novel aldose reductase inhibitor, attenuates the galactosemic cataract in rats. *J Diabetes Res.* 2017; 5: 7309816. doi: 10.1155/2017/7309816

7. Kiziltoprak H, Tekin K, Inanc M, Goker YS. Cataract in diabetes mellitus. *World J Diabetes.* 2019; 10(3): 140-153. doi: 10.4239/wjd.v10.i3.140

8. Oishi N, Morikubo S, Takamura Y, Kubo E, Tsuzuki S, Tanimoto T, et al. Correlation between adult diabetic cataracts and red blood cell aldose reductase levels. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006; 47: 2061-2064. doi: 10.1167/iovs.05-1042

9. Reddy AB, Tammali R, Mishra R, Srivastava S, Srivastava SK, Ramana KV. Aldose reductase deficiency protects sugar-induced lens opacification in rats. *Chem Biol Interact.* 2011; 191(1-3): 346-350. doi: 10.1016/j.cbi.2011.02.028

10. Zukin LM, Pedler MG, Groman-Lupa S, Pantcheva M, Ammar DA, Petrash JM. Aldose reductase inhibition prevents development of posterior capsular opacification in an *in vivo* model of cataract surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2018; 59(8): 3591-3598. doi: 10.1167/iovs.18-23935

11. Wojnar W, Kaczmarczyk-Sedlak I, Zych M. Diosmin ameliorates the effects of oxidative stress in lenses of streptozotocin-induced type 1 diabetic rats. *Pharmacol Rep.* 2017; 69(5): 995-1000. doi: 10.1016/j.pharep.2017.04.005

12. Lim JC, Umapathy A, Grey AC, Vaghefi E, Donaldson PJ. Novel roles for the lens in preserving overall ocular health. *Exp Eye Res.* 2017; (156): 117-123. doi: 10.1016/j.exer.2016.05.027

13. Chang KC, Laffin B, Ponder J, Enzsöly A, Németh J, LaBarbera DV, et al. Beta-glucogallin reduces the expression of lipopolysaccharide-induced inflammatory markers by inhibition of aldose reductase in murine macrophages and ocular tissues. *Chem Biol Interact.* 2013; 202(1-3): 283-287. doi: 10.1016/j.cbi.2012.12.001

14. Vinson JA. Oxidative stress in cataracts. *Pathophysiology.* 2006; 13(3): 151-162. doi: 10.1016/j.pathophys.2006.05.006

15. Zhu L, Li J, Wu D, Li B. The protective effect of beta-casomorphin-7 via promoting Foxo1 activity and nuclear translocation in human lens epithelial cells. *Cutan Ocul Toxicol.* 2018; 37(3): 267-274. doi: 10.1080/15569527.2018.1445095

16. Муранов К.О., Островский М.А. *Молекулярная физиология и патология хрусталика глаза*. М.: Торус-Пресс; 2013: 295.

17. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res.* 2010; 107(9): 1058-1070.

18. Мальцев Е.В., Павлюченко К.П. *Биологические особенности и заболевания хрусталика*. Одесса: Астропринт; 2002: 448.

19. Horwitz J. Alpha-crystallin. *Exp Eye Res.* 2003; 76: 145-153. doi: 10.1016/S0014-4835(02)00278-6

20. Kumar PA, Kumar MS, Reddy GB. Effect of glycation on alpha-crystallin structure and chaperone-like function. *Biochem J.* 2007; 408(2): 251-258. doi: 10.1042/BJ20070989

21. Ghosh KS, Chauhan P. Crystallins and their complexes. *Subcell Biochem.* 2019; 93: 439-460. doi: 10.1007/978-3-030-28151-9_14

22. Higashi Y, Higashi K, Mori A, Sakamoto K, Ishii K, Nakahara T. Anti-cataract effect of resveratrol in high-glucose-treated streptozotocin-induced diabetic rats. *Biol Pharm Bull.* 2018; 41(10): 1586-1592. doi: 10.1248/bpb.b18-00328

23. Simpanya MF, Ansari RR, Suh KI, Leverenz VR, Giblin FJ. Aggregation of lens crystallins in an in vivo hyperbaric oxygen guinea pigmodel of nuclear cataract: Dynamic light-scattering and HPLC analysis. *Invest Ophthalmol Visual Sci.* 2005; 46: 4641-4650. doi: 10.1167/iovs.05-0843

24. Takemoto L, Sorensen CM. Protein-protein interactions and lens transparency. *Exp Eye Res.* 2008; 87: 496-501.

25. Alghamdi AHS, Mohamed H, Sledge SM, Borchman D. Absorbance and light scattering of lenses organ cultured with glucose. *Curr Eye Res.* 2018; 43(10): 1233-1238. doi: 10.1080/02713683.2018.1485953

26. Kaczmarczyk-Sedlak I, Folwarczna J, Sedlak L, Zych M, Wojnar W, Szumińska I, et al. Effect of caffeine on biomarkers of oxidative stress in lenses of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Arch Med Sci.* 2019; 15(4): 1073-1080. doi: 10.5114/aoms.2019.85461

27. Kianpour M, Yousefi R. Carnosine prevents different structural damages induced by methylglyoxal in lens crystallins. *Cell Biochem Biophys.* 2019; 77(4): 343-355. doi: 10.1007/s12013-019-00884-3

28. Papadopoulou G, Zisimopoulos D, Kalaitzopoulou E, Makri OE, Tsapardoni FN, Georgakopoulos CD, et al. Age-related aqueous humor (AH) and lens epithelial cell/capsule protein carbonylation and AH protein concentration in cataract patients who have pseudoexfoliative diseases. *Mol Vis.* 2018; 24: 890-901.

29. Nagaraj RH, Linetsky M, Stitt AW. The pathogenic role of Maillard reaction in the aging eye. *Amino Acids.* 2012; 42(4): 1205-1220. doi: 10.1007/s00726-010-0778-x

30. Brings S, Fleming T, Freichel M, Muckenthaler MU, Herzig S, Nawroth PP. Dicarbonyls and advanced glycation end-products in the development of diabetic complications and targets for intervention. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(5): 984. doi: 10.3390/ijms18050984

31. Bejarano E, Taylor A. Too sweet: Problems of protein glycation in the eye. *Exp Eye Res.* 2019; 178: 255-262. doi: 10.1016/j.exer.2018.08.017

32. Franke S, Dawczynski J, Strobel J, Niwa T, Stahl P, Stein G. Increased levels of advanced glycation end products in human cataractous lenses. *J Cataract Refract Surg.* 2003; 29(5): 998-1004. doi: 10.1016/s0886-3350(02)01841-2

33. Pehlivanoğlu S, Acar N, Albayrak S, Karakaya M, Ofluoğlu A. The assessment of autofluorescence of the crystalline lens in diabetic patients and healthy controls: Can it be used as a screening test? *Clin Ophthalmol.* 2018; 12: 1163-1170. doi: 10.2147/OPTH.S164960

34. Wautier MP, Chappey O, Corda S, Stern DM, Schmidt AM, Wautier JL. Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant stress to altered gene expression via RAGE. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001; 280(5): 685. doi: 10.1152/ajpendo.2001.280.5.E685

35. Gul A, Rahman MA, Hasnain SN, Salim A, Simjee SU. Could oxidative stress associate with age products in cataractogenesis? *Curr Eye Res.* 2008; 33(8): 669-675. doi: 10.1080/02713680802250939

36. Kyselova Z, Stefek M, Bauer V. Pharmacological prevention of diabetic cataract. *J Diabetes Compl.* 2004; 18: 129-140. doi: 10.1016/S1056-8727(03)00009-6

37. Su S, Leng F, Guan L, Zhang L, Ge J, Wang C, et al. Differential proteomic analyses of cataracts from rat models of type 1 and 2 diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014; 55(12): 7848-7861. doi: 10.1167/iovs.14-15175

38. Patil KK, Meshram RJ, Barage SH, Gacche RN. Dietary flavonoids inhibit the glycation of lens proteins: Implications in the management of diabetic cataract. *3 Biotech*. 2019; 9(2): 47. doi: 10.1007/s13205-019-1581-3

39. Horwitz J. Alpha-crystallin can function as a molecular chaperone. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992; 89(21): 10449-10453. doi: 10.1073/pnas.89.21

40. Selivanova OM, Galzitskaya OV. Structural and functional peculiarities of α-crystallin. *Biology (Basel)*. 2020; 9(4): 85. doi: 10.3390/biology9040085

41. Kumar MS, Reddy PY, Kumar PA, Surolia I, Reddy GB. Effect of dicarbonyl-induced browning on alpha-crystallin chaperone-like activity: Physiological significance and caveats of in vitro aggregation assays. *Biochem J*. 2004; 379(Pt 2): 273-282. doi: 10.1042/BJ20031633

42. Reddy VS, Reddy GB. Role of crystallins in diabetic complications. *Biochim Biophys Acta*. 2016; 1860(1 Pt B): 269-277. doi: 10.1016/j.bbagen.2015.05.009

43. Bahmani F, Bathaie SZ, Aldavood SJ, Ghahghaei A. Inhibitory effect of crocin(s) on lens α-crystallin glycation and aggregation, results in the decrease of the risk of diabetic cataract. *Molecules*. 2016; 21(2): 143. doi: 10.3390/molecules21020143

44. Karumanchi DK, Gaillard ER, Dillon J. Early diagnosis of diabetes through the eye. *Photochem Photobiol*. 2015; 91(6): 1497-1504. doi: 10.1111/php.12524

45. Li X, Liu W, Huang X, Xiong J, Wei X. Interaction of AR and iNOS in lens epithelial cell: A new pathogenesis and potential therapeutic targets of diabetic cataract. *Arch Biochem Biophys*. 2017; 615: 44-52. doi: 10.1016/j.abb.2017.01.007

46. Kim J, Kim CS, Sohn E, Kim H, Jeong IH, Kim JS. Lens epithelial cell apoptosis initiates diabetic cataractogenesis in the Zucker diabetic fatty rat. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2010; 248(6): 811-818. doi: 10.1007/s00417-010-1313-1

47. Ghahramani M, Yousefi R, Khoshaman K, Alavianmehr MM. The impact of calcium ion on structure and aggregation propensity of peroxynitrite-modified lens crystallins: New insights into the pathogenesis of cataract disorders. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2015; 125: 170-180. doi: 10.1016/j.colsurfb.2014.11.002

48. De Maria A, Zhao H, Bassnett S. Expression of potassium-dependent sodium-calcium exchanger in the murine lens. *Exp Eye Res*. 2018; 167: 18-24. doi: 10.1016/j.exer.2017.11.002

49. Rhodes JD, Sanderson J. The mechanisms of calcium homeostasis and signalling in the lens. *Exp Eye Res*. 2009; 88(2): 226-234. doi: 10.1016/j.exer.2008.10.025

50. del Valle LJ, Escribano C, Pérez JJ, Garriga P. Calcium-induced decrease of the thermal stability and chaperone activity of alpha-crystallin. *Biochim Biophys Acta*. 2002; 1601(1): 100-109. doi: 10.1016/s1570-9639(02)00429-6

51. Duncan G, Jacob TJ. Calcium and the physiology of cataract. *Ciba Found Symp*. 1984; 106: 132-152. doi: 10.1002/9780470720875.ch8

52. Shridas P, Sharma Y, Balasubramanian D. Transglutaminase-mediated crosslinking of a crystallin: Structural and functional consequence. *FEBS Lett*. 2001; 499: 245-250.

53. Zm SZ, Khoshaman K, Masoudi R, Hemmateenejad B, Yousefi R. The structural alteration and aggregation propensity of glycated lens crystallins in the presence of calcium: Importance of lens calcium homeostasis in development of diabetic cataracts. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2017; 170: 174-183. doi: 10.1016/j.saa.2016.07.017

54. Truscott RJ. Age-related nuclear cataract-oxidation is the key. *Exp Eye Res*. 2005; 80(5): 709-725. doi: 10.1016/j.exer.2004.12.007

55. Wang F, Ma J, Han F, Guo X, Meng L, Sun Y, et al. DL-3-n-butylphthalide delays the onset and progression of diabetic cataract by inhibiting oxidative stress in rat diabetic model. *Sci Rep*. 2016; 6: 19396. doi: 10.1038/srep19396

56. Periyasamy P, Masahiko A, Rajan E, Toshimichi S. Promoter demethylation of Keap1 gene in human diabetic cataractous lenses. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2012; 423: 542-548.

57. Khorsand M, Akmali M, Sharzad S, Beheshtitabar M. Melatonin reduces cataract formation and aldose reductase activity in lenses of streptozotocin-induced diabetic rat. *Iran J Med Sci*. 2016; 41(4): 305-313.

58. Lange RR, Lima L, Frühvald E, da Silva VS, de Souza AS, Montiani-Ferreira F. Cataracts and strabismus associated with hand rearing using artificial milk formulas in Bengal tiger (*Panthera tigris* spp tigris) cubs. *Open Vet J*. 2017; 7(1): 23-31. doi: 10.4314/ovj.v7i1.4

59. Hansen SH. The role of taurine in diabetes and the development of diabetic complications. *Diabetes Metab Res Rev*. 2001; 17(5): 330-346. doi: 10.1002/dmrr.229

60. Malone JI, Benford SA, Malone J Jr. Taurine prevents galactose-induced cataracts. *J Diabetes Complications*. 1993; 7(1): 44-48. doi: 10.1016/1056-8727(93)90023-r

61. Hsu YW, Yeh SM, Chen YY, Chen YC, Lin SL, Tseng JK. Protective effects of taurine against alloxan-induced diabetic cataracts and refraction changes in New Zealand White rabbits. *Exp Eye Res*. 2012; 103: 71-77. doi: 10.1016/j.exer.2012.08.001

62. Bulakh PM, Chandorkar AG, Balsara JJ, Ranade SM, Albal MV. Effect of 'catalin' an anticataract agent on alloxan induced hyperglycaemia and diabetic cataract in rats. *Indian J Ophthalmol*. 1980; 28: 1-3. URL: https://www.ijo.in/text.asp?1980/28/1/1/31036

63. Son HY, Kim H, H Kwon Y. Taurine prevents oxidative damage of high glucose-induced cataractogenesis in isolated rat lenses. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2007; 53(4): 324-330. doi: 10.3177/jnsv.53.324

64. Kilic F, Bhardwaj R, Caulfeild J, Trevithick JR. Modelling cortical cataractogenesis 22: Is in vitro reduction of damage in model diabetic rat cataract by taurine due to its antioxidant activity? *Exp Eye Res*. 1999; 69(3): 291-300. doi: 10.1006/exer.1999.0697

65. Официальная инструкция по применению препарата Каталин. URL: https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_1689.htm

66. Евграфов В.Ю., Батманов Ю.Е. *Катаракта*. М.: Медицина; 2005: 364.

67. *Офтальмология. Национальное руководство*. Под ред. Аветисова С.Э., Егорова Е.А., Мошетовой Л.К., Нероева В.В., Тахчиди Х.П. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2019: 904.

68. Wu J, Li X, Wan W, Yang Q, Ma W, Chen D, et al. Gigantol from Dendrobium chrysotoxum Lindl. binds and inhibits aldose reductase gene to exert its anti-cataract activity: An in vitro mechanistic study. *J Ethnopharmacol*. 2017; 198: 255-261. doi: 10.1016/j.jep.2017.01.026

69. Patil KK, Gacche RN. Inhibition of glycation and aldose reductase activity using dietary flavonoids: A lens organ culture studies. *Int J Biol Macromol*. 2017; 98: 730-738. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.01.129

70. Kilari EK, Putta S. Delayed progression of diabetic cataractogenesis and retinopathy by Litchi chinensis in STZ-induced diabetic rats. *Cutan Ocul Txicol*. 2017; 36(1): 52-59. doi: 10.3109/15569527.2016.1144610

71. Lou H, Yao J, Sun Y, Sun H, Song Z, Li H, et al. Role of blueberry anthocyanin extract in the expression of SIRT1 and NF-κB in rat lens epithelial cells in experimentally induced DM. *Curr Eye Res*. 2020; 12: 1-7. doi: 10.1080/02713683.2020.1776879

72. Zhou Y, Li L, Li S, Li S, Zhao M, Zhou Q, et al. Autoregenerative redox nanoparticles as an antioxidant and glycation inhibitor for palliation of diabetic cataracts. *Nanoscale*. 2019; 11(27): 13126-13138. doi: 10.1039/c9nr02350j

73. Bai J, Yu N, Mu H, Dong L, Zhang X. Histidine protects human lens epithelial cells against H_2O_2-induced oxidative stress injury through the NF-κB pathway. *J Cell Biochem*. 2018; 119(2): 1637-1645. doi: 10.1002/jcb.26323

74. Zhang D, Li M. Puerarin prevents cataract development and progression in diabetic rats through Nrf2/HO-1 signaling. *Mol Med Rep*. 2019; 20(2): 1017-1024. doi: 10.3892/mmr.2019.10320

75. Shree J, Choudhary R, Bodakhe SH. Losartan delays the progression of streptozotocin-induced diabetic cataracts in albino rats. *J Biochem Mol Toxicol*. 2019; 33(8): 22342. doi: 10.1002/jbt.22342

76. Matsuda S, Sugawa H, Shirakawa JI, Ohno RI, Kinoshita S, Ichimaru K, et al. Aphanothece sacrum (Sur.) Okada prevents cataractogenesis in type 1 diabetic mice. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2017; 63(4): 263-268. doi: 10.3177/jnsv.63.263

77. Savateev KV, Fedotov VV, Butorin I, Eltsov OS, Slepukhin PA, Ulomsky EN, et al. Nitrothiadiazolo[3,2-a]pyrimidines as promising antiglycating agents. *Eur J Med Chem*. 2020; 185: 111808. doi: 10.1016/j.ejmech.2019.111808

78. Yan H, Guo Y, Zhang J, Ding Z, Ha W, Harding JJ. Effect of carnosine, aminoguanidine, and aspirin drops on the prevention of cataracts in diabetic rats. *Mol Vis.* 2008; 14: 2282-2291.

79. Abdel-Ghaffar A, Ghanem HM, Ahmed EK, Hassanin OA, Mohamed RG. Ursodeoxycholic acid suppresses the formation of fructose/streptozotocin-induced diabetic cataract in rats. *Fundam Clin Pharmacol.* 2018; 32(6): 627-640. doi: 10.1111/fcp.12385

80. Bahmani F, Bathaie SZ, Aldavood SJ, Ghahghaei A. Prevention of α-crystallin glycation and aggregation using l-lysine results in the inhibition of in vitro catalase heat-induced-aggregation and suppression of cataract formation in the diabetic rat. *Int J Biol Macromol.* 2019; 132: 1200-1207. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.04.037

REFERENCES

1. Šimunović M, Paradžik M, Škrabić R, Unić I, Bućan K, Škrabić V. Cataract as early ocular complication in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Int J Endocrinol.* 2018; 20: 6763586. doi: 10.1155/2018/6763586

2. Stefek M. Natural flavonoids as potential multifunctional agents in prevention of diabetic cataract. *Interdiscip Toxicol*. 2011; 4(2): 69-77. doi: 10.2478/v10102-011-0013-y

3. Abdelkader H, Longman M, Alany RG, Pierscionek B. On the anticataractogenic effects of L-carnosine: Is it best described as an antioxidant, metal-chelating agent or glycation inhibitor? *Oxid Med Cell Longev.* 2016; 16: 3240261. doi: 10.1155/2016/3240261

4. Mantych GJ, Hageman GS, Devaskar SU. Characterization of glucose transporter isoforms in the adult and developing human eye. *Endocrinology*. 1993; 133(2): 600-607. doi: 10.1210/endo.133.2.8344201

5. Korolyova IA. Lens metabolism: Features and ways of correction. *RMZH. Klinicheskaya oftalmologiya*. 2015; 4: 191-195. (In Russ.)

6. Ji L, Cheng L, Yang Z. Diosgenin, a novel aldose reductase inhibitor, attenuates the galactosemic cataract in rats. *J Diabetes Res.* 2017; 5: 7309816. doi: 10.1155/2017/7309816

7. Kiziltoprak H, Tekin K, Inanc M, Goker YS. Cataract in diabetes mellitus. *World J Diabetes.* 2019; 10(3): 140-153. doi: 10.4239/wjd.v10.i3.140

8. Oishi N, Morikubo S, Takamura Y, Kubo E, Tsuzuki S, Tanimoto T, et al. Correlation between adult diabetic cataracts and red blood cell aldose reductase levels. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006; 47: 2061-2064. doi: 10.1167/iovs.05-1042

9. Reddy AB, Tammali R, Mishra R, Srivastava S, Srivastava SK, Ramana KV. Aldose reductase deficiency protects sugar-induced lens opacification in rats. *Chem Biol Interact.* 2011; 191(1-3): 346-350. doi: 10.1016/j.cbi.2011.02.028

10. Zukin LM, Pedler MG, Groman-Lupa S, Pantcheva M, Ammar DA, Petrash JM. Aldose reductase inhibition prevents development of posterior capsular opacification in an *in vivo* model of cataract surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2018; 59(8): 3591-3598. doi: 10.1167/iovs.18-23935

11. Wojnar W, Kaczmarczyk-Sedlak I, Zych M. Diosmin ameliorates the effects of oxidative stress in lenses of streptozotocin-induced type 1 diabetic rats. *Pharmacol Rep.* 2017; 69(5): 995-1000. doi: 10.1016/j.pharep.2017.04.005

12. Lim JC, Umapathy A, Grey AC, Vaghefi E, Donaldson PJ. Novel roles for the lens in preserving overall ocular health. *Exp Eye Res.* 2017; (156): 117-123. doi: 10.1016/j.exer.2016.05.027

13. Chang KC, Laffin B, Ponder J, Enzsöly A, Németh J, LaBarbera DV, et al. Beta-glucogallin reduces the expression of lipopolysaccharide-induced inflammatory markers by inhibition of aldose reductase in murine macrophages and ocular tissues. *Chem Biol Interact.* 2013; 202(1-3): 283-287. doi: 10.1016/j.cbi.2012.12.001

14. Vinson JA. Oxidative stress in cataracts. *Pathophysiology.* 2006; 13(3): 151-162. doi: 10.1016/j.pathophys.2006.05.006

15. Zhu L, Li J, Wu D, Li B. The protective effect of beta-casomorphin-7 via promoting Foxo1 activity and nuclear translocation in human lens epithelial cells. *Cutan Ocul Toxicol.* 2018; 37(3): 267-274. doi: 10.1080/15569527.2018.1445095

16. Muranov K.O., Ostrovskij M.A. Molecular physiology and pathology of the eye lens. Moscow: Torus-Press; 2013: 295. (In Russ.)

17. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res.* 2010; 107(9): 1058-1070.

18. Malcev E.V., Pavlyuchenko K.P. Biological features and diseases of the lens: A monograph. Odessa: Astroprint; 2002: 448. (In Russ.)

19. Horwitz J. Alpha-crystallin. *Exp Eye Res.* 2003; 76: 145-153. doi: 10.1016/S0014-4835(02)00278-6

20. Kumar PA, Kumar MS, Reddy GB. Effect of glycation on alpha-crystallin structure and chaperone-like function. *Biochem J.* 2007; 408(2): 251-258. doi: 10.1042/BJ20070989

21. Ghosh KS, Chauhan P. Crystallins and their complexes. *Subcell Biochem.* 2019; 93: 439-460. doi: 10.1007/978-3-030-28151-9_14

22. Higashi Y, Higashi K, Mori A, Sakamoto K, Ishii K, Nakahara T. Anti-cataract effect of resveratrol in high-glucose-treated streptozotocin-induced diabetic rats. *Biol Pharm Bull.* 2018; 41(10): 1586-1592. doi: 10.1248/bpb.b18-00328

23. Simpanya MF, Ansari RR, Suh KI, Leverenz VR, Giblin FJ. Aggregation of lens crystallins in an in vivo hyperbaric oxygen guinea pigmodel of nuclear cataract: Dynamic light-scattering and HPLC analysis. *Invest Ophthalmol Visual Sci.* 2005; 46: 4641-4650. doi: 10.1167/iovs.05-0843

24. Takemoto L, Sorensen CM. Protein-protein interactions and lens transparency. *Exp Eye Res.* 2008; 87: 496-501.

25. Alghamdi AHS, Mohamed H, Sledge SM, Borchman D. Absorbance and light scattering of lenses organ cultured with glucose. *Curr Eye Res.* 2018; 43(10): 1233-1238. doi: 10.1080/02713683.2018.1485953

26. Kaczmarczyk-Sedlak I, Folwarczna J, Sedlak L, Zych M, Wojnar W, Szumińska I, et al. Effect of caffeine on biomarkers of oxidative stress in lenses of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Arch Med Sci.* 2019; 15(4): 1073-1080. doi: 10.5114/aoms.2019.85461

27. Kianpour M, Yousefi R. Carnosine prevents different structural damages induced by methylglyoxal in lens crystallins. *Cell Biochem Biophys.* 2019; 77(4): 343-355. doi: 10.1007/s12013-019-00884-3

28. Papadopoulou G, Zisimopoulos D, Kalaitzopoulou E, Makri OE, Tsapardoni FN, Georgakopoulos CD, et al. Age-related aqueous humor (AH) and lens epithelial cell/capsule protein carbonylation and AH protein concentration in cataract patients who have pseudoexfoliative diseases. *Mol Vis.* 2018; 24: 890-901.

29. Nagaraj RH, Linetsky M, Stitt AW. The pathogenic role of Maillard reaction in the aging eye. *Amino Acids.* 2012; 42(4): 1205-1220. doi: 10.1007/s00726-010-0778-x

30. Brings S, Fleming T, Freichel M, Muckenthaler MU, Herzig S, Nawroth PP. Dicarbonyls and advanced glycation end-products in the development of diabetic complications and targets for intervention. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(5): 984. doi: 10.3390/ijms18050984

31. Bejarano E, Taylor A. Too sweet: Problems of protein glycation in the eye. *Exp Eye Res.* 2019; 178: 255-262. doi: 10.1016/j.exer.2018.08.017

32. Franke S, Dawczynski J, Strobel J, Niwa T, Stahl P, Stein G. Increased levels of advanced glycation end products in human cataractous lenses. *J Cataract Refract Surg.* 2003; 29(5): 998-1004. doi: 10.1016/s0886-3350(02)01841-2

33. Pehlivanoğlu S, Acar N, Albayrak S, Karakaya M, Ofluoğlu A. The assessment of autofluorescence of the crystalline lens in diabetic patients and healthy controls: Can it be used as a screening test? *Clin Ophthalmol.* 2018; 12: 1163-1170. doi: 10.2147/OPTH.S164960

34. Wautier MP, Chappey O, Corda S, Stern DM, Schmidt AM, Wautier JL. Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant

stress to altered gene expression via RAGE. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001; 280(5): 685. doi: 10.1152/ajpendo.2001.280.5.E685

35. Gul A, Rahman MA, Hasnain SN, Salim A, Simjee SU. Could oxidative stress associate with age products in cataractogenesis? *Curr Eye Res.* 2008; 33(8): 669-675. doi: 10.1080/02713680802250939

36. Kyselova Z, Stefek M, Bauer V. Pharmacological prevention of diabetic cataract. *J Diabetes Compl.* 2004; 18: 129-140. doi: 10.1016/S1056-8727(03)00009-6

37. Su S, Leng F, Guan L, Zhang L, Ge J, Wang C, et al. Differential proteomic analyses of cataracts from rat models of type 1 and 2 diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014; 55(12): 7848-7861. doi: 10.1167/iovs.14-15175

38. Patil KK, Meshram RJ, Barage SH, Gacche RN. Dietary flavonoids inhibit the glycation of lens proteins: Implications in the management of diabetic cataract. *3 Biotech.* 2019; 9(2): 47. doi: 10.1007/s13205-019-1581-3

39. Horwitz J. Alpha-crystallin can function as a molecular chaperone. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1992; 89(21): 10449-10453. doi: 10.1073/pnas.89.21

40. Selivanova OM, Galzitskaya OV. Structural and functional peculiarities of α-crystallin. *Biology (Basel).* 2020; 9(4): 85. doi: 10.3390/biology9040085

41. Kumar MS, Reddy PY, Kumar PA, Surolia I, Reddy GB. Effect of dicarbonyl-induced browning on alpha-crystallin chaperone-like activity: Physiological significance and caveats of in vitro aggregation assays. *Biochem J.* 2004; 379(Pt 2): 273-282. doi: 10.1042/BJ20031633

42. Reddy VS, Reddy GB. Role of crystallins in diabetic complications. *Biochim Biophys Acta.* 2016; 1860(1 Pt B): 269-277. doi: 10.1016/j.bbagen.2015.05.009

43. Bahmani F, Bathaie SZ, Aldavood SJ, Ghahghaei A. Inhibitory effect of crocin(s) on lens α-crystallin glycation and aggregation, results in the decrease of the risk of diabetic cataract. *Molecules.* 2016; 21(2): 143. doi: 10.3390/molecules21020143

44. Karumanchi DK, Gaillard ER, Dillon J. Early diagnosis of diabetes through the eye. *Photochem Photobiol.* 2015; 91(6): 1497-1504. doi: 10.1111/php.12524

45. Li X, Liu W, Huang X, Xiong J, Wei X. Interaction of AR and iNOS in lens epithelial cell: A new pathogenesis and potential therapeutic targets of diabetic cataract. *Arch Biochem Biophys.* 2017; 615: 44-52. doi: 10.1016/j.abb.2017.01.007

46. Kim J, Kim CS, Sohn E, Kim H, Jeong IH, Kim JS. Lens epithelial cell apoptosis initiates diabetic cataractogenesis in the Zucker diabetic fatty rat. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2010; 248(6): 811-818. doi: 10.1007/s00417-010-1313-1

47. Ghahramani M, Yousefi R, Khoshaman K, Alavianmehr MM. The impact of calcium ion on structure and aggregation propensity of peroxynitrite-modified lens crystallins: New insights into the pathogenesis of cataract disorders. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2015; 125: 170-180. doi: 10.1016/j.colsurfb.2014.11.002

48. De Maria A, Zhao H, Bassnett S. Expression of potassium-dependent sodium-calcium exchanger in the murine lens. *Exp Eye Res.* 2018; 167: 18-24. doi: 10.1016/j.exer.2017.11.002

49. Rhodes JD, Sanderson J. The mechanisms of calcium homeostasis and signalling in the lens. *Exp Eye Res.* 2009; 88(2): 226-234. doi: 10.1016/j.exer.2008.10.025

50. del Valle LJ, Escribano C, Pérez JJ, Garriga P. Calcium-induced decrease of the thermal stability and chaperone activity of alpha-crystallin. *Biochim Biophys Acta.* 2002; 1601(1): 100-109. doi: 10.1016/s1570-9639(02)00429-6

51. Duncan G, Jacob TJ. Calcium and the physiology of cataract. *Ciba Found Symp.* 1984; 106: 132-152. doi: 10.1002/9780470720875.ch8

52. Shridas P, Sharma Y, Balasubramanian D. Transglutaminase-mediated crosslinking of a crystallin: Structural and functional consequence. *FEBS Lett.* 2001; 499: 245-250.

53. Zm SZ, Khoshaman K, Masoudi R, Hemmateenejad B, Yousefi R. The structural alteration and aggregation propensity of glycated lens crystallins in the presence of calcium: Importance of lens calcium homeostasis in development of diabetic cataracts. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2017; 170: 174-183. doi: 10.1016/j.saa.2016.07.017

54. Truscott RJ. Age-related nuclear cataract-oxidation is the key. *Exp Eye Res.* 2005; 80(5): 709-725. doi: 10.1016/j.exer.2004.12.007

55. Wang F, Ma J, Han F, Guo X, Meng L, Sun Y, et al. DL-3-n-butylphthalide delays the onset and progression of diabetic cataract by inhibiting oxidative stress in rat diabetic model. *Sci Rep.* 2016; 6: 19396. doi: 10.1038/srep19396

56. Periyasamy P, Masahiko A, Rajan E, Toshimichi S. Promoter demethylation of Keap1 gene in human diabetic cataractous lenses. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 2012; 423: 542-548.

57. Khorsand M, Akmali M, Sharzad S, Beheshtitabar M. Melatonin reduces cataract formation and aldose reductase activity in lenses of streptozotocin-induced diabetic rat. *Iran J Med Sci.* 2016; 41(4): 305-313.

58. Lange RR, Lima L, Frühvald E, da Silva VS, de Souza AS, Montiani-Ferreira F. Cataracts and strabismus associated with hand rearing using artificial milk formulas in Bengal tiger (*Panthera tigris* spp tigris) cubs. *Open Vet J.* 2017; 7(1): 23-31. doi: 10.4314/ovj.v7i1.4

59. Hansen SH. The role of taurine in diabetes and the development of diabetic complications. *Diabetes Metab Res Rev.* 2001; 17(5): 330-346. doi: 10.1002/dmrr.229

60. Malone JI, Benford SA, Malone J Jr. Taurine prevents galactose-induced cataracts. *J Diabetes Complications.* 1993; 7(1): 44-48. doi: 10.1016/1056-8727(93)90023-r

61. Hsu YW, Yeh SM, Chen YY, Chen YC, Lin SL, Tseng JK. Protective effects of taurine against alloxan-induced diabetic cataracts and refraction changes in New Zealand White rabbits. *Exp Eye Res.* 2012; 103: 71-77. doi: 10.1016/j.exer.2012.08.001

62. Bulakh PM, Chandorkar AG, Balsara JJ, Ranade SM, Albal MV. Effect of 'catalin' an anticataract agent on alloxan induced hyperglycaemia and diabetic cataract in rats. *Indian J Ophthalmol.* 1980; 28: 1-3. URL: https://www.ijo.in/text.asp?1980/28/1/1/31036

63. Son HY, Kim H, H Kwon Y. Taurine prevents oxidative damage of high glucose-induced cataractogenesis in isolated rat lenses. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 2007; 53(4): 324-330. doi: 10.3177/jnsv.53.324

64. Kilic F, Bhardwaj R, Caulfeild J, Trevithick JR. Modelling cortical cataractogenesis 22: Is in vitro reduction of damage in model diabetic rat cataract by taurine due to its antioxidant activity? *Exp Eye Res.* 1999; 69(3): 291-300. doi: 10.1006/exer.1999.0697

65. *Official instructions for the use of the Katalin*. URL: https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_1689.htm. (In Russ.)

66. Evgrafov VYu, Batmanov YuE. *Cataract*. Moscow: Medicina; 2005: 364. (In Russ.)

67. *Ophthalmology. National leadership.* (Eds) Avetisov SE, Egorov EA, Moshetova LK, Neroev VV, Tahchidi HP. Moscow: GEOTAR-Media; 2019: 904. (In Russ.)

68. Wu J, Li X, Wan W, Yang Q, Ma W, Chen D, et al. Gigantol from Dendrobium chrysotoxum Lindl. binds and inhibits aldose reductase gene to exert its anti-cataract activity: An in vitro mechanistic study. *J Ethnopharmacol.* 2017; 198: 255-261. doi: 10.1016/j.jep.2017.01.026

69. Patil KK, Gacche RN. Inhibition of glycation and aldose reductase activity using dietary flavonoids: A lens organ culture studies. *Int J Biol Macromol.* 2017; 98: 730-738. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.01.129

70. Kilari EK, Putta S. Delayed progression of diabetic cataractogenesis and retinopathy by Litchi chinensis in STZ-induced diabetic rats. *Cutan Ocul Txicol.* 2017; 36(1): 52-59. doi: 10.3109/15569527.2016.1144610

71. Lou H, Yao J, Sun Y, Sun H, Song Z, Li H, et al. Role of blueberry anthocyanin extract in the expression of SIRT1 and NF-κB in rat lens epithelial cells in experimentally induced DM. *Curr Eye Res.* 2020; 12: 1-7. doi: 10.1080/02713683.2020.1776879

72. Zhou Y, Li L, Li S, Li S, Zhao M, Zhou Q, et al. Autoregenerative redox nanoparticles as an antioxidant and glycation inhibitor for palliation of diabetic cataracts. *Nanoscale.* 2019; 11(27): 13126-13138. doi: 10.1039/c9nr02350j

73. Bai J, Yu N, Mu H, Dong L, Zhang X. Histidine protects human lens epithelial cells against H_2O_2-induced oxidative stress injury through the NF-κB pathway. *J Cell Biochem.* 2018; 119(2): 1637-1645. doi: 10.1002/jcb.26323

74. Zhang D, Li M. Puerarin prevents cataract development and progression in diabetic rats through Nrf2/HO-1 signaling. *Mol Med Rep.* 2019; 20(2): 1017-1024. doi: 10.3892/mmr.2019.10320

75. Shree J, Choudhary R, Bodakhe SH. Losartan delays the progression of streptozotocin-induced diabetic cataracts in albino rats. *J Biochem Mol Toxicol.* 2019; 33(8): 22342. doi: 10.1002/jbt.22342

76. Matsuda S, Sugawa H, Shirakawa JI, Ohno RI, Kinoshita S, Ichimaru K, et al. Aphanothece sacrum (Sur.) Okada prevents cataractogenesis in type 1 diabetic mice. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo).* 2017; 63(4): 263-268. doi: 10.3177/jnsv.63.263

77. Savateev KV, Fedotov VV, Butorin I, Eltsov OS, Slepukhin PA, Ulomsky EN, et al. Nitrothiadiazolo[3,2-a]pyrimidines as promising antiglycating agents. *Eur J Med Chem.* 2020; 185: 111808. doi: 10.1016/j.ejmech.2019.111808

78. Yan H, Guo Y, Zhang J, Ding Z, Ha W, Harding JJ. Effect of carnosine, aminoguanidine, and aspirin drops on the prevention of cataracts in diabetic rats. *Mol Vis.* 2008; 14: 2282-2291.

79. Abdel-Ghaffar A, Ghanem HM, Ahmed EK, Hassanin OA, Mohamed RG. Ursodeoxycholic acid suppresses the formation of fructose/streptozotocin-induced diabetic cataract in rats. *Fundam Clin Pharmacol.* 2018; 32(6): 627-640. doi: 10.1111/fcp.12385

80. Bahmani F, Bathaie SZ, Aldavood SJ, Ghahghaei A. Prevention of α-crystallin glycation and aggregation using l-lysine results in the inhibition of in vitro catalase heat-induced-aggregation and suppression of cataract formation in the diabetic rat. *Int J Biol Macromol.* 2019; 132: 1200-1207. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.04.037

Сведения об авторах

Спасов Александр Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой фармакологии и биоформатики, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России

Науменко Людмила Владимировна – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры фармакологии и биоформатики, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России

Говорова Юлия Александровна – врач-офтальмолог, соискатель кафедры фармакологии и биоформатики, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: j.govorova@yandex.ru

Information about the authors

Aleksandr A. Spassov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Head of the Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University

Lyudmila V. Naumenko – Dr. Sc. (Med.), Docent, Professor at the Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University

Yulia A. Govorova – Ophtalmologist, External Postgraduate Student at Department of Pharmacology and Bioinformatics, Volgograd State Medical University, e-mail: j.govorova@yandex.ru

Статья получена: 08.04.2021. Статья принята: 13.05.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 08.04.2021. Accepted: 13.05.2021. Published: 15.06.2021.

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.14

Роль биологически активных молекул влаги передней камеры глаза и слёзной жидкости в реализации гипотензивного эффекта непроникающей глубокой склерэктомии (НГСЭ)

Волкова Н.В. [1, 2, 3], **Малышева Ю.В.** [1], **Юрьева Т.Н.** [1, 2, 3], **Колесников С.И.** [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: Малышева Юлия Витальевна, e-mail: mal-julia@bk.ru

Резюме

Обоснование. *До настоящего времени до конца не определены факторы, влияющие на течение репаративного процесса после непроникающей глубокой склерэктомии (НГСЭ). Отсутствуют систематизированные сведения о регуляторной роли цитокинов TGF-β, ИЛ-6, ИЛ-8 и ММР-9, VEGF A 121 и 165 в механизмах формирования состоятельности вновь созданных путей оттока внутриглазной влаги.*

Цель: *определить возможные пути влияния биологически активных молекул влаги передней камеры глаза и слёзной жидкости пациентов на гипотензивный эффект непроникающей глубокой склерэктомии.*

Методы. *Проспективное обследование 65 пациентов с открытоугольной глаукомой до и через 12 месяцев после НГСЭ и 22 пациентов без нарушений гидродинамики глаза с определением исходных концентраций биологически активных молекул в слезе и влаге передней камеры. Через 12 месяцев после НГСЭ все пациенты были разделены на три группы в зависимости от гипотензивного эффекта операции согласно разработанным критериям.*

Результаты. *Многофакторный дискриминантный анализ показал наибольшие межгрупповые различия, рассчитанные по квадрату расстояния Махаланобиса, между 3-й группой с отсутствием гипотензивного эффекта НГСЭ и группой контроля (R^2 = 8,48, p = 0,001). Наиболее информативными признаками, определяющими отличия 4 групп в общей совокупности, рассчитанными по F-критерию Фишера, были ММР-9 (F = 14,7, p = 0,001) и TGF-β (F = 7,08, p = 0,001) во влаге передней камеры. При попарном сравнении 1-й и 2-й групп максимальный уровень значимости по F-критерию был характерен для уровня ИЛ-6 слезы (F = 21,25; p = 0,001), с примерно равной степенью информативности – ИЛ-8 слезы (F = 7,85, p = 0,001) и VEGF слезы (F = 7,12, p = 0,001), в меньшей степени – TGF влаги (F = 4,43, p = 0,001) и ММР-9 влаги (F = 2,23, p = 0,001). Между группами 1–3 максимальные отличия по критерию Фишера наблюдались в содержании ИЛ-8 слезы (F = 20,99, p = 0,001), TGF влаги (F = 8,75, p = 0,001) и в меньшей степени – TGF слезы (F = 5,83, p = 0,001). Дискриминантный анализ 2-й и 3-й группы продемонстрировал наибольшие отличия по VEGF (F = 18,75, p = 0,001) и ИЛ-8 (F = 17,13, p = 0,001) слезы и, в меньшей степени, по уровню TGF слезы (F = 6,38, p = 0,001) и ММР-9 влаги (F = 5,1, p = 0,001).*

Заключение. *Анализ полученных данных показал определяющую роль дисбаланса провоспалительных цитокинов, сигнальных белков с пролимфоангиогенной активностью и ММР-9 во влаге передней камеры, а также в исходном состоянии слезы в процессах послеоперационного заживления после НГСЭ.*

Ключевые слова: *непроникающая глубокая склерэктомия, трансформирующий фактор роста β, матриксная металлопротеиназа-9, интерлейкин-6, интерлейкин-8, VEGF, репаративный процесс, ультразвуковая биомикроскопия, состоятельность путей оттока внутриглазной жидкости*

Для цитирования: Волкова Н.В., Малышева Ю.В., Юрьева Т.Н., Колесников С.И. Роль биологически активных молекул влаги передней камеры глаза и слёзной жидкости в реализации гипотензивного эффекта непроникающей глубокой склерэктомии (НГСЭ). *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 126-132. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.14.

The Role of Biologically Active Aqueous Humor Molecules of the Anterior Chamber and Lacrimal Fluid in the Implementation of the Hypotensive Effect of Non-Penetrating Deep Sclerectomy

Volkova N.V. [1, 2, 3], **Malysheva Ju.V.** [1], **Iureva T.N.** [1, 2, 3], **Kolesnikov S.I.** [4]

[1] Irkutsk Branch of S.N. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Ministry of Health of the Russian Federation (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 Vosstania 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: Yulia V. Malysheva, e-mail: mal-julia@bk.ru

Abstract

To date, the factors affecting the course of the reparative process after non-penetrating deep sclerectomy (NPDS) have not been fully determined. There is no systematic information about the regulatory role of the cytokines TGF-β,

IL-6, IL-8 and MMP-9, VEGF A 121 and 165 in the formation mechanisms of the newly created pathways consistency of intraocular aqueous humor outflow.
Purpose. *To determine possible ways of impact of biologically active aqueous humor molecules of the anterior chamber and lacrimal fluid on the hypotensive effect of non-penetrating deep sclerectomy.*
Methods. *A prospective study of 65 patients with open-angle glaucoma before and 12 months after NPDS and 22 patients without eye hydrodynamic disorders with the determination of the initial concentrations of biologically active molecules in the lacrimal fluid and aqueous humor of the anterior chamber. Twelve months after NPDS all patients were divided into three groups, depending on the hypotensive effect of the operation, according to the criteria.*
Results. *Multivariate discriminant analysis showed the greatest inter-group differences, calculated by the square of the Mahalanobis distance, between group 3 with no hypotensive effect of NPDS and the control group (R^2 = 8.48, p = 0.001). The most informative features that determine the differences between the 4 groups in the total population, calculated according to the Fischer F-test, were MMP-9 (F = 14.7, p = 0.001) and TGF-β (F = 7.08, p = 0.001) in the aqueous humor of the anterior chamber. In pairwise comparison of groups 1 and 2, the maximum level of significance according to the F-criterion was characteristic of the level of tear IL-6 (F = 21.25, p = 0.001), with approximately equal degree – IL-8 (F = 7.85, p = 0.001) and VEGF (F = 7.12, p = 0.001), to a lesser extent TGF of aqueous humor (F = 4.43, p = 0.001) and MMR-9 (F = 2.23, p = 0.001). Between groups 1–3, the maximum differences according to the Fisher criterion were observed in the IL-8 (F = 20.99, p = 0.001), TGF (F = 8.75, p = 0.001) and to a lesser extent – TGF (F = 5.83, p = 0.001).*
Conclusion. *The analysis of the obtained data showed the decisive role of the imbalance of proinflammatory cytokines, signaling proteins with prolymphoangiogenic activity, and MMP-9 in the aqueous humor of the anterior chamber, as well as in the initial state of the lacrimal fluid in the postoperative healing processes after NPDS.*

Key words: *non-penetrating deep sclerectomy, transforming growth factor β, matrix metalloproteinase-9, interleukin 6, interleukin 8, VEGF, reparative process, ultrasound biomicroscopy, consistency of intraocular aqueous humor outflow pathways*

For citation: Kolesnikov S.I., Malysheva Ju.V., Iureva T.N., Volkova N.V. The Role of Biologically Active Aqueous Humor Molecules of the Anterior Chamber and Lacrimal Fluid in the Implementation of the Hypotensive Effect of Non-Penetrating Deep Sclerectomy. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 126-132. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.14.

ОБОСНОВАНИЕ

Непроникающая глубокая склерэктомия (НГСЭ) на протяжении многих лет является эффективным и малотравматичным хирургическим методом лечения открытоугольной глаукомы. Но, к сожалению, в ряде случаев в различные сроки послеоперационного периода воспалительный процесс в области хирургического вмешательства приобретает патологический характер и приводит к несостоятельности послеоперационных путей оттока, что является одной из основных причин снижения эффективности антиглаукомных операций фильтрующего типа [1, 2].

Согласно литературным данным, субстратом неадекватного репаративного процесса в послеоперационных путях оттока внутриглазной жидкости (ВГЖ) является фиброз внеклеточного матрикса (ВКМ) вследствие дисбаланса про- и антивоспалительных цитокинов и протеолитических ферментов [2, 3].

Существуют лишь некоторые несистематизированные сведения о роли биологически активных молекул влаги передней камеры глаза и слёзной жидкости в регуляции процессов синтеза и деградации коллагена вновь созданных путей оттока ВГЖ после антиглаукомных операций [4–9].

В последнее время активно исследуется феномен «иммунного отклонения, связанного с передней камерой» глаза (ACAID) – периферический иммунологический механизм, заключающийся в ингибировании трансформации Т-клеток в эффекторные, подавлении реакции гиперчувствительности замедленного типа и реакций отторжения аллоплантов в ответ на миграцию антигенпрезентирующих клеток из передней камеры в тимус и селезёнку. Исследователи феномена ACAID подчёркивают протолерогенный статус глаза [10].

Поэтому логично предположить, что именно диффузия внутриглазной влаги по раневому каналу и определяет морфогенез вновь созданных путей оттока ВГЖ за счёт содержащихся в ней биологически активных молекул. Цитокины и протеолитические ферменты модифицируют течение типового раневого процесса, в том числе и длительность его фаз, определяя тем самым состоятельность или несостоятельность послеоперационных путей оттока ВГЖ и, соответственно, эффективность антиглаукомной хирургии в целом.

ЦЕЛЬ

Оценить роль исходного содержания биологически активных молекул во влаге передней камеры глаза и слёзной жидкости пациентов в зависимости от гипотензивного эффекта НГСЭ.

МЕТОДЫ

В ходе НИР проведено проспективное обследование 87 пациентов на базе Иркутского филиала МНТК «Микрохирургия глаза». Из них 65 пациентов с развитой стадией первичной открытоугольной глаукомы в возрасте от 50 до 70 лет с суб- и декомпенсированным уровнем внутриглазного давления на максимальном местном гипотензивном медикаментозном режиме. Для повышения валидности полученных результатов в исследование были включены только мужчины. Контрольную группу составили 22 пациента соответствующего пола и возраста, без изменений гидродинамики глаза, которым планировалась факоэмульсификация хрусталика с рефракционной целью.

Критериями исключения было наличие системных, аутоиммунных, ревматоидных заболеваний и сахарного диабета.

Все исследования и манипуляции выполнены в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации об этических принципах проведения медицинских исследований с участием человека в качестве субъекта.

Обследование пациентов проводилось с использованием комплекса высокотехнологичных методов диагностики: компьютерной периметрии, исследования офтальмотонуса и вязкоэластических свойств фиброзной оболочки глаза на приборе ORA, оптической когерент-

ной томографии центральных отделов сетчатки и диска зрительного нерва, ультразвуковой биомикроскопии.

Для стандартизации результатов исследования концентрации биологически активных молекул во влаге передней камеры и слезе за 48 часов до операции всем пациентам была отменена местная медикаментозная терапия, а за 28 дней все пациенты клинической группы были переведены на единую схему местной медикаментозной терапии (тимолол, бринзоламид/дорзоламид, бримонидин). Пациенты контрольной группы никаких местных препаратов не использовали.

Слёзную жидкость в количестве 100 мкл забирали капиллярным методом из нижнего конъюнктивального свода перед хирургическим лечением. Исследование концентрации TGF-β, MMP-9, а также ИЛ-6, ИЛ-8 и VEGF A (121 и 165) в слёзной жидкости проводили методом ИФА с использованием набора human TGF-β, human MMP-9 ELISA, ИЛ-6-ИФА-Бест, ИЛ-8-ИФА-Бест и VEGF-ИФА-Бест («Вектор Бест», Новосибирск).

Интраоперационно выполнялся забор камерной влаги в количестве 0,1 мл с помощью инсулинового шприца и иглы диаметром 27 G через парацентез роговицы. В камерной влаге как пациентов клинической группы, так и группы контроля определялись концентрации только TGF-β и MMP-9 методом ИФА с использованием набора human TGF-β и human MMP-9 ELISA.

Все операции выполнялись одним хирургом и были сопоставимы по степени выраженности хирургической травмы.

Оперативное антиглаукомное вмешательство выполнялось строго по описанной ниже технологии. Перилимбально производили разрез и отсепаровку конъюнктивы с подлежащей теноновой капсулой, длиной 6–7 мм. Формировали поверхностный склеральный лоскут величиной 4,5–5,0 мм на 1/2 толщины склеры, с выходом на область хирургического лимба. Далее выполняли иссечение глубоких слоёв склеры с частичным обнажением поверхности цилиарного тела. В зоне голубого лимба выполняли разметку внутренней фистулы: линейный размер – 3,5 мм, высота – 0,8–0,9 мм. Далее в размеченной зоне иссекали блок корнеосклеральной ткани до обнажения десцеметовой мембраны. Ириспинцетом удаляли наружную стенку шлеммова канала. После получения умеренной фильтрации водянистой влаги поверхностный склеральный лоскут репонировали в склеральное ложе и фиксировали к склере двумя погружными узловыми швами по углам нитью нейлон 10,0. На заключительном этапе над склеральным лоскутом формировали фильтрационную подушку путём одномоментной фиксации теноновой капсулы и конъюнктивы к роговице узловыми погружными корнео-склеро-конъюнктивальными швами нитью нейлон 10,0 [11, 12].

В послеоперационном периоде местно назначалась стандартная противовоспалительная терапия: инстилляции моксифлоксацина 0,5 % 4 раза в день в течение 10 дней, дексаметазона 0,1 % по убывающей схеме, начиная с 4 раз в день, и непафенак 0,1 % 3 раза в день в течение 1 месяца. Все дополнительные назначения/манипуляции также были стандартизированы, выполнялись строго по показаниям и фиксировались в индивидуальном протоколе ведения пациента.

Оценка состоятельности фильтрационной подушки проводилась по данным ультразвуковой биомикроскопии на основании разработанной классификации. Учитывалась высота фильтрационной подушки, толщина стенок и степень эхогенности её содержимого относительно ультразвуковой плотности склеры [13, 14]. В ходе проведённой исследовательской работы нами были разработаны критерии абсолютной клинической эффективности НГСЭ, которые позволили добиться стабилизации глаукомного процесса у прооперированных пациентов за период наблюдения 12 месяцев.

На основании предложенных критериев и условий достижения клинической эффективности НГСЭ спустя 12 месяцев после операции пациенты были разделены на три группы. Группу контроля составили пациенты с катарактой без нарушения гидродинамики глаза.

Критериями абсолютной эффективности НГСЭ считались:

1. ВГД (IOPg) ≤ 16 мм рт. ст.;
2. Фильтрационная подушка ≥ 3 балла;
3. Отсутствие дополнительных лечебных манипуляций в послеоперационном периоде.

Согласно данным критериям, через 12 месяцев после антиглаукомной операции все пациенты были разделены на группы: с абсолютной эффективностью НГСЭ, с условной эффективностью и отсутствием эффекта НГСЭ в зависимости от уровня офтальмотонуса, состоятельности фильтрационной подушки и объёма лечебных мероприятий, необходимых для ограничения воспаления во вновь созданных путях оттока ВГЖ.

Так, при соответствии пациентов всем вышеперечисленным критериям спустя 12 месяцев после НГСЭ при использовании только стандартной инстилляционной местной противовоспалительной терапии в раннем послеоперационном периоде пациенты были отнесены к 1-й группе с абсолютным эффектом антиглаукомной операции.

Во 2-ю группу были включены пациенты в случае их соответствия 1-му и 2-му критериям спустя 12 месяцев после НГСЭ, но при условии проведения дополнительных лечебных манипуляций в послеоперационном периоде (субконъюнктивальные инъекции кортикостероидов и антиметаболитов, многократный нидлинг фильтрационной подушки).

При несоответствии 1-му или 2-му критерию эффективности НГСЭ пациенты были включены в 3-ю группу.

Таким образом, первую группу составил 21 пациент (средний возраст – 65,4 ± 4,7 года). Вторая группа была сопоставима по возрасту (в среднем – 63,7 ± 4,4 года) и включала 23 пациента. Третью группу составил также 21 пациент (средний возраст – 64,3 ± 3,9 года). Группа контроля (четвертая группа) была представлена пациентами без изменений гидродинамики глаза, планирующих хирургическое лечение начальной катаракты (средний возраст – 62,5 ± 3,7 года).

В связи с большой вариабельностью уровня исследуемых биологически активных молекул во влаге передней камеры глаза и слезе статистическая обработка результатов проводилась с применением методов многофакторного дискриминантного анализа. Достоверными считали полученные показатели с уровнем значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе с целью определения межгрупповых различий был проведён дискриминантный анализ

всей совокупности данных, включающих концентрации исследуемых факторов во влаге передней камеры и слезе до хирургического лечения пациентов (TGF-β во влаге и слезе, MMP-9 во влаге и слезе, а также ИЛ-6, ИЛ-8 и VEGF A слезы).

Максимальные различия, рассчитанные по квадрату расстояния Махаланобиса, установлены между 3-й группой и группой контроля (R^2 = 8,48; p = 0,001). Приблизительно равные – между 1-й и 2-й и 1-й и 3-й группами (R^2 = 3,2 и R^2 = 3,77; p = 0,001). И наименьшее различие по совокупности исследуемых признаков было характерно для 1-й группы с абсолютным гипотензивным эффектом НГСЭ и лиц, не имеющих глаукому (4-я группа) (R^2 = 1,3, p = 0,04).

Наиболее информативными из всех исследуемых признаков, определяющими отличия всех 4 групп, рассчитанными по F-критерию Фишера, были MMP-9 (F = 14,7; p = 0,001) и TGF-β (F = 7,08; p = 0,001) во влаге передней камеры, что подтверждает предположение об определяющей роли внутриглазной жидкости в морфогенезе вновь созданных путей оттока и гипотензивной эффективности антиглаукомной операции в целом.

На следующем этапе с целью выявления молекулярных механизмов, определяющих клиническую эффективность НГСЭ, был проведён попарный дискриминантный анализ исходного содержания биологически активных молекул в слезе и влаге передней камеры в группах 1–2, 1–3 и 2–3.

Максимальные отличия по критерию Фишера в группах с абсолютной и условной эффективностью НГСЭ наблюдались в составе слёзной жидкости, а именно в содержании ИЛ-6 (F = 21,25; p = 0,001), далее с сопоставимой степенью информативности – ИЛ-8 слезы (F = 7,85; p = 0,001) и VEGF слезы (F = 7,12; p = 0,001), в меньшей степени – TGF влаги (F = 4,43; p = 0,001) и MMP-9 влаги (F = 2,23; p = 0,001).

Значимость содержания биологически активных молекул слезы в определении межгрупповых отличий может свидетельствовать об исходном наличии как острого, так и хронического воспаления глазной поверхности у пациентов 2-й группы, что в свою очередь объясняет различную степень выраженности воспалительной реакции глаза в раннем послеоперационном периоде и объём лечебных мероприятий, необходимых для достижения гипотензивного эффекта НГСЭ. Напротив, межгрупповые различия содержания TGF-β и MMP-9 во влаге передней камеры в этих двух группах оказались минимальны.

При попарном сравнении 1-й и 3-й групп наиболее информативным показателем по F-критерию был ИЛ-8 в слёзной жидкости (F = 20,99; p = 0,001), также значимыми явились показатели TGF влаги (F = 8,75; p = 0,001) и, в меньшей степени, TGF слезы (F = 5,83; p = 0,001), что свидетельствовало о различной степени выраженности исходной реактивности биологических жидкостей глаза в группах сравнения.

Дискриминантный многофакторный анализ, включающий исходные концентрации биологически активных молекул у пациентов 2-й и 3-й групп, продемонстрировал наибольшие отличия по VEGF (F = 18,75; p = 0,001) и ИЛ-8 (F = 17,13; p = 0,001) слезы и, несколько в меньшей степени, по уровню TGF слезы (F = 6,38; p = 0,001) и MMP-9 влаги (F = 5,1; p = 0,001). Включение в процессы заживления молекул, обладающих провоспалительной, ангиолимфогенной и фиброгенной активностью, свидетельствует о более сложной регуляции послеоперационного раневого процесса у пациентов с условной эффективностью и неадекватным рубцеванием вновь созданных путей оттока внутриглазной влаги после НГСЭ.

ОБСУЖДЕНИЕ

Заживление ран – сложный динамический и строго регулируемый биологический процесс, необходимый для поддержания гомеостаза в организме. Заживление ран завершается восстановлением структурной целостности повреждённой ткани и является результатом специфических взаимодействий между клетками, цитокинами и компонентами внеклеточного матрикса (ВКМ). [15]. После альтерации происходят четыре последовательные и частично перекрывающие друг друга фазы каскада заживления ран: гемостатическая, воспалительная, фаза пролиферации и ремоделирования. Компоненты ВКМ играют значительную роль на каждой стадии процесса заживления ран, начиная с образования временного матрикса, который действует как каркас для стимулирования клеточных взаимодействий. На стадии пролиферации, которая начинается спустя 2–3 дня после травмы, фибробласты привлекаются в рану с помощью факторов роста фибробластов, продуцируемых макрофагами. Затем ключевые функции фибробластов регулируются TGF-β, секретируемым тромбоцитами, макрофагами и лимфоцитами. TGF-β отвечает за увеличение транскрипции генов, способствующих синтезу коллагена, протеогликанов и фибронектина, тем самым увеличивая скорость продукции компонентов ВКМ. Одновременно, TGF-β подавляет секрецию ферментов семейства MMP, которые ответственны за деградацию ВКМ. В фазу фи-

Таблица 1

Результаты многомерного дискриминантного анализа пациентов трёх клинических групп и группы контроля

Table 1

Results of multivariate discriminant analysis of patients of three clinical groups and a control group

Группа	Квадрат расстояний Махаланобиса				p			
	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
Группа 1		3,2	3,77	1,3		0,001	0,001	0,04
Группа 2	3,2		4,84	3,9	0,001		0,001	0,001
Группа 3	3,77	4,84		8,48	0,001	0,001		0,001
Группа 4	1,3	3,9	8,48		0,04	0,001	0,001	

броплазии (примерно через 5 дней после травмы) фибробласты начинают производить основу коллагенового матрикса, который со временем должен будет заменить временный (фибриновый) субстрат.

Однако при формировании путей оттока ВГЖ после антиглаукомных операций фильтрующего типа положительный гипотензивный эффект достигается в случаях формирования ацеллюлярных субконъюнктивальных структур с неорганизованным расположением коллагеновых волокон [16]. То есть функциональная фильтрационная подушка формируется в случаях, когда заживление раны не соответствует типовому патофизиологическому процессу и идёт по сценарию формирования неполноценных фаз пролиферации и фиброплазии.

Существует ряд исследований, согласно которым влага передней камеры глаза, истекающая по вновь созданным в ходе антиглаукомной операции путям оттока ВГЖ, участвует в регуляции местного и системного воспалительного ответа на хирургическую травму, подавляя пролиферацию фибробластов, тем самым ограничивая стадию пролиферации и фиброплазии [16, 17]. Возможно, это является одним из проявлений феномена иммунного отклонения, связанного с передней камерой [10].

Таким образом, было предположено, что в области хирургического антиглаукомного вмешательства, под влиянием факторов, входящих в состав влаги передней камеры глаза, происходит нарушение трансформации временного внеклеточного матрикса в коллагеновый, что и лежит в основе формирования функциональной фильтрационной подушки.

Результаты проведённого нами исследования демонстрируют принципиальные отличия дооперационного состава влаги передней камеры глаза исследуемых групп. Так, в отличие от клинических групп, в группе контроля уровень TGF-β во влаге передней камеры и слезе был ниже чувствительности метода его определения.

У пациентов 1-й и 2-й группы отличия по составу исследуемых биологически активных молекул во влаге передней камеры были минимальны. Наиболее значимые различия наблюдались в содержании цитокинов и эндопептидов слёзной жидкости, что может быть обусловлено развитием токсико-аллергических реакций в ответ на длительное использование местной медикаментозной гипотензивной терапии.

Различия гипотензивного эффекта НГСЭ у пациентов 1-й и 3-й групп с максимальной значимостью интерпретировались показателями ИЛ-8 слёзной жидкости, TGF-β влаги и, в меньшей степени, TGF-β слезы, что подтверждает роль профиброгенного эффекта TGF-β в избыточном рубцевании и несостоятельности путей оттока ВГЖ после НГСЭ.

Наиболее информативными критериями, определяющими различия между 2-й и 3-й группой, были показатели VEGF A и ИЛ-8 слезы, а также TGF-β слезы и MMP-9 влаги передней камеры. Обращает на себя внимание высокий уровень значимости показателя VEGF A слезы. Возможно, именно данный сигнальный белок оказывает влияние на характер клинического течения послеоперационного периода, определяя степень состоятельности путей оттока ВГЖ по прошествии 12 месяцев после НГСЭ. Действительно, во 2-й группе, где с помощью комплекса лечебных мероприятий в раннем послеоперационном периоде удалось модифицировать течение неадекватного репаративного процесса и достигнуть гипотензивной эффективности хирургического вмешательства, наблюдался исходно повышенный уровень VEGF A слезы, практически в 2 раза превышающий значения 3-й группы. Известно, что VEGF A регулирует процессы лимфоангиогенеза [18, 19], которые, согласно исследованиям A.S. Huang et al. (2018), лежат в основе формирования фильтрационной подушки, являющейся матриксом, аккумулирующим оттекающую из передней камеры глаза внутриглазную влагу по каналу, созданному в ходе фильтрующей антиглаукомной операции [20].

С учётом полученных результатов можно предположить, что механизмы послеоперационного заживления у пациентов 2-й и 3-й группы регулируются комплексом факторов, определяющих степень воспалительной и пролиферативной активности, а также участием биологически активных молекул в лимфогенезе и деградации внеклеточного матрикса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ результатов проведённого исследования позволил установить определяющую роль исходного состава влаги передней камеры, а также слезы, а именно выявленного дисбаланса в содержании провоспалительных цитокинов, сигнальных белков с пролимфоангиогенной активностью и MMP-9 в процессах послеоперационного заживления после НГСЭ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Курышева Н.И., Марных С.А., Борзинок С.А., Бочкарев М.В., Долгина Е.Н., Кизеев М.В. Применение физиологических регуляторов репарации в хирургии глаукомы (клинико-иммунологическое исследование). *Вестник офтальмологии*. 2005; 121(6): 21-25.

2. Волкова Н.В., Щуко А.Г., Малышев В.В. Ретроспективный анализ факторов риска развития рубцовых изменений путей оттока внутриглазной жидкости после фистулизирующих антиглаукоматозных операций. Сообщение 1. *Глаукома*. 2010; 3: 35-40.

3. Волкова Н.В., Щуко А.Г., Малышева Ю.В., Юрьева Т.Н. Неадекватная репаративная регенерация в фистулизирующей хирургии глаукомы. *Офтальмохирургия.* 2014; 3: 60-66.

4. Chang MR, Cheng Q, Lee DA. Basic science and clinical aspects of wound healing in glaucoma filtering surgery. *J Ocul Pharmacol Ther*. 1998; 14(1): 75-95. doi: 10.1089/jop.1998.14.75

5. Chang L, Crowston JG, Cordeiro MF, Akbar AN, Khaw PT. The role of the immune system in conjunctival wound healing after glaucoma surgery. *Surv Ophthtalmol.* 2000; 45(1): 49-68. doi: 10.1016/s0039-6257(00)00135-1

6. Титов В.Н. Роль макрофагов в становлении воспаления, действие интерлейкина-1, интерлейкина-6 и активность гипоталамо-гипофизарной системы (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2003; 12: 3-10.

7. Reynolds AC, Skuta GL. Clinical perspectives on glaucoma filtering surgery. Antiproliferative agents. *Ophthalmol Clin North Am.* 2000; 13(3): 501-515. doi: 10.1016/s0896-1549(05)70210-8

8. Picht G, Welge-Luessen U, Grehn F, Lütjen-Drecoll E. Transforming growth factor beta 2 levels in the aqueous humor in different types of glaucoma and the relation to filtering bleb development. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2001; 239(3): 199-207. doi: 10.1007/s004170000252

9. Zenkel M, Lewczuk P, Jünemann A, Kruse FE, Naumann GO, Schlötzer-Schrehardt U. Proinflammatory cytokines are involved in the initiation of the abnormal matrix process in pseudoexfoliation syndrome/glaucoma. *Am J Pathol*. 2010; 176(6): 2868-2879. doi: 10.2353/ ajpath.2010.090914

10. Cone RE, Pais R. Anterior Chamber-Associated Immune Deviation (ACAID): An acute response to ocular insult protects from future immune-mediated damage? *Ophthalmol Eye Dis.* 2009; 1: 33-40. doi: 10.4137/oed.s2858

11. Фёдоров С.Н., Козлов В.И., Тимошкина Н.Т. Непроникающая глубокая склерэктомия при открытоугольной глаукоме. *Офтальмохирургия.* 1989; 3-4: 52-55.

12. Goldsmith JA, Ahmed IK, Crandall AS. Nonpenetrating glaucoma surgery. *Ophthalmol Clin North Am.* 2005; 18(3): 443-460. doi: 10.1016/j.ohc.2005.05.008

13. Волкова Н.В., Юрьева Т.Н., Щуко А.Г., Малышев В.В. Классификация путей оттока внутриглазной жидкости после фистулизирующих антиглаукоматозных операций. *Глаукома*. 2008; 3: 16-20.

14. Чекмарева Л.Т., Юрьева Т.Н., Волкова Н.В. Топическая локализация блоков в путях оттока методом ультразвуковой биомикроскопии. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2000; 4: 20-22.

15. Chester D, Brown AC. The role of biophysical properties of provisional matrix proteins in wound repair. *Matrix Biol.* 2017; 60-61: 124-140. doi: 10.1016/j.matbio.2016.08.004

16. Lama PJ, Fecthner RD. Antifibrotics and wound healing in glaucoma surgery. *Surv Ophthalmol*. 2003; 48(3): 314-346. doi: 10.1016/s0039-6257(03)00038-9

17. Takai Y, Tanito M, Ohira A. Multiplex cytokine analysis of aqueous humor in eyes with primary open-angle glaucoma, exfoliation glaucoma, and cataract. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012; 53(1): 241-247. doi: 10.1167/iovs.11-8434

18. Yücel YH, Johnston MG, Ly T, Patel M, Drake B, Gümüş E, et al. Identification of lymphatics in the ciliary body of the human eye: A novel "uveolymphatic" outflow pathway. *Exp Eye Res.* 2009; 89(5): 810-819. doi: 10.1016/j.exer.2009.08.010

19. Akiyama G, Saraswathy S, Bogarin T, Pan X, Barron E, Wong TT, et al. Functional, structural, and molecular identification of lymphatic outflow from subconjunctival blebs. *Exp Eye Res.* 2020; 196: 108049. doi: 10.1016/j.exer.2020.108049.

20. Huang AS, Penteado RC, Saha SK, Do JL, Ngai Ph, Hu Zh, et al. Fluorescein aqueous angiography in live normal human eyes. *J Glaucoma*. 2018; 27(11): 957-964. doi: 10.1097/IJG.0000000000001042

REFERENCES

1. Kurysheva HI, Marnykh SA, Borzinok SA, Bochkarev MV, Dolgina EN, Kizeev MV. Use of physiological reparation regulators in glaucoma surgery: A clinical immunological study. *The Russian Annals of Ophthalmology.* 2005; 121(6): 21-25. (In Russ.)

2. Volkova NV, Shchuko AG, Malyshev VV. Retrospective analysis of risk factors of intraocular fluid outflow pathways scar development after fistulasing antiglaucomatous surgery. Report 1. *National Journal Glaucoma.* 2010; 3: 35-40. (In Russ.)

3. Volkova NV, Shchuko AG, Malysheva UV, Iureva TN. Inadequate reparative regeneration in fistulazing glaucoma surgery. *Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery.* 2014; 3: 60-66. (In Russ.)

4. Chang MR, Cheng Q, Lee DA. Basic science and clinical aspects of wound healing in glaucoma filtering surgery. *J Ocul Pharmacol Ther*. 1998; 14(1): 75-95. doi: 10.1089/jop.1998.14.75

5. Chang L, Crowston JG, Cordeiro MF, Akbar AN, Khaw PT. The role of the immune system in conjunctival wound healing after glaucoma surgery. *Surv Ophthtalmol.* 2000; 45(1): 49-68. doi: 10.1016/s0039-6257(00)00135-1

6. Titov VN. The significance of macrophages in the onset of inflammation; the effects of interleukin-1, interleukin-6 and the activity of hypothalamo-hypophysis system (a survey). *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2003; 12: 3-10. (In Russ.)

7. Reynolds AC, Skuta GL. Clinical perspectives on glaucoma filtrering surgery. Antiproliferative agents. *Ophthalmol Clin North Am*. 2000; 13(3): 501-515. doi: 10.1016/s0896-1549(05)70210-8

8. Picht G, Welge-Luessen U, Grehn F, Lütjen-Drecoll E. Transforming growth factor beta 2 levels in the aqueous humor in different types of glaucoma and the relation to filtering bleb development. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2001; 239(3): 199-207. doi: 10.1007/s004170000252

9. Zenkel M, Lewczuk P, Jünemann A, Kruse FE, Naumann GO, Schlötzer-Schrehardt U. Proinflammatory cytokines are involved in the initiation of the abnormal matrix process in pseudoexfoliation syndrome/glaucoma. *Am J Pathol*. 2010; 176(6): 2868-2879. doi: 10.2353/ ajpath.2010.090914

10. Cone RE, Pais R. Anterior Chamber-Associated Immune Deviation (ACAID): An acute response to ocular insult protects from future immune-mediated damage? *Ophthalmol Eye Dis.* 2009; 1: 33-40. doi: 10.4137/oed.s2858

11. Fyodorov SN, Kozlov VI, Timoshkina NT. Non-penetrating deep sclerectomy for open-angle glaucoma. *Fyodorov Journal of Ophthalmic Surgery.* 1989; 3-4: 52-55. (In Russ.)

12. Goldsmith JA, Ahmed IK, Crandall AS. Nonpenetrating glaucoma surgery. *Ophthalmol Clin North Am.* 2005; 18(3): 443-460. doi: 10.1016/j.ohc.2005.05.008

13. Volkova NV, Iureva TN, Shchuko AG, Malyshev VV. Classification of intraocular fluid outflow pathways after fistulizing antiglaucomatous operations. *National Journal glaucoma.* 2008; 3: 16-20. (In Russ.)

14. Chekmareva LT, Iureva TN, Volkova NV. Topical localization of blocks in the outflow path by ultrasound biomicroscopy. *Bulletin ESSC RAMS*. 2000; 4: 20-22. (In Russ.)

15. Chester D, Brown AC. The role of biophysical properties of provisional matrix proteins in wound repair. *Matrix Biol.* 2017; 60-61: 124-140. doi: 10.1016/j.matbio.2016.08.004

16. Lama PJ, Fecthner RD. Antifibrotics and wound healing in glaucoma surgery. *Surv Ophthalmol*. 2003; 48(3): 314-346. doi: 10.1016/s0039-6257(03)00038-9

17. Takai Y, Tanito M, Ohira A. Multiplex cytokine analysis of aqueous humor in eyes with primary open-angle glaucoma, exfoliation glaucoma, and cataract. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012; 53(1): 241-247. doi: 10.1167/iovs.11-8434

18. Yücel YH, Johnston MG, Ly T, Patel M, Drake B, Gümüş E, et al. Identification of lymphatics in the ciliary body of the human eye: A novel "uveolymphatic" outflow pathway. *Exp Eye Res.* 2009; 89(5): 810-819. doi: 10.1016/j.exer.2009.08.010

19. Akiyama G, Saraswathy S, Bogarin T, Pan X, Barron E, Wong TT, et al. Functional, structural, and molecular identification of lymphatic outflow from subconjunctival blebs. *Exp Eye Res.* 2020; 196: 108049. doi: 10.1016/j.exer.2020.108049

20. Huang AS, Penteado RC, Saha SK, Do JL, Ngai Ph, Hu Zh, et al. Fluorescein aqueous angiography in live normal human eyes. *J Glaucoma.* 2018; 27(11): 957-964. doi: 10.1097/IJG.0000000000001042

Сведения об авторах

Колесников Сергей Иванович – доктор медицинских наук, академик РАН, заместитель главного учёного секретаря президиума РАН, советник РАН, профессор, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»

Малышева Юлия Витальевна – врач-офтальмолог второй категории, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России, e-mail: mal-julia@bk.ru, https://orcid.org/0000-0002-4200-5649

Юрьева Татьяна Николаевна – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе, Иркутский филиал ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России; профессор кафедры офтальмологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; профессор кафедры глазных болезней, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: tnyurieva@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-0547-7521

Волкова Наталья Васильевна – кандидат медицинских наук, заведующая научно-образовательным отделом, Иркутский филиал ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России; доцент кафедры офтальмологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; доцент кафедры глазных болезней, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: vnv-mntk@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-5170-2462

Information about the authors

Sergei I. Kolesnikov – Academician of the Russian Academy of Sciences, Deputy Chief of Scientific Secretary of the Presidium of the Russian Academy of Sciences, Counselor of the Russian Academy of Sciences, Professor, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems

Yulia V. Malysheva – Ophthalmologist, Irkutsk Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, e-mail: mal-julia@bk.ru, https://orcid.org/0000-0002-4200-5649

Tatiana N. Iureva – Dr. Sc. (Med.), Professor, Deputy Director for Science, Irkutsk Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; Professor at the Department of Ophthalmology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Professor at the Department of Eye Diseases, Irkutsk State Medical University, e-mail: tnyurieva@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-0547-7521

Natalia V. Volkova – Cand. Sc. (Med.), Head of Scientific and Educational Department, Irkutsk Branch of S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution; Associate Professor at the Department of Ophthalmology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Associate Professor at the Department of Eye Diseases, Irkutsk State Medical University, e-mail: vnv-mntk@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-5170-2462

Статья поступила: 01.02.2021. Статья принята: 07.04.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 01.02.2021. Accepted: 07.04.2021. Published: 15.06.2021.

ПЕДИАТРИЯ
PEDIATRICS

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.15

Оптимизация диагностики гипоксического поражения головного мозга у доношенных новорождённых

Панова М.С., Панченко А.С., Мудров В.А.

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

Автор, ответственный за переписку: Панова Марина Сергеевна, e-mail: merik2002@mail.ru

Резюме

Обоснование. *Проблема ранней диагностики повреждения центральной нервной системы у доношенного новорождённого ребёнка до появления клинических симптомов остаётся актуальной и в настоящее время.* ***Цель исследования.*** *Оптимизировать диагностику гипоксического повреждения головного мозга у доношенных новорождённых путём анализа концентрации цитокинов и нейронспецифической енолазы (НСЕ) в пуповинной крови.*

Материалы и методы. *В ходе I этапа исследования был выполнен проспективный анализ концентраций таких интерлейкинов, как ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ФНО-α, а также НСЕ, в сыворотке пуповинной крови у доношенных новорождённых детей испытавших внутриутробную гипоксию и/или асфиксию в родах. Во время II этапа исследования произведён ретроспективный анализ клинических данных и дополнительных инструментальных методов исследования. В качестве условного «золотого стандарта», объективно отражающего развитие гипоксического повреждения головного мозга у новорождённых, использовался метод ультразвуковой визуализации – нейросонография.*

Результаты. *О развитии гипоксического повреждения головного мозга свидетельствует повышение концентрации ИЛ-1β более 30,3 пг/мл, ИЛ-4 – более 1,7 пг/мл, ИЛ-6 – более 79,4 пг/мл, ИЛ-8 – более 107,7 пг/мл, НСЕ – более 10,3 нг/мл и ФНО-α – более 1,6 пг/мл в пуповинной крови у детей, рождённых на доношенном сроке.*

Заключение. *Результаты проведённого нами исследования подтвердили, что комплексная оценка концентрации цитокинов в пуповинной крови позволяет оптимизировать диагностику гипоксического повреждения головного мозга у доношенных новорождённых детей. Оценка данных маркеров непосредственно после рождения позволит оптимизировать тактику ведения новорождённых, перенёсших гипоксическое воздействие внутриутробно и/или интранатально.*

Ключевые слова: *гипоксическое повреждение, головной мозг, гипоксия, асфиксия, цитокины, интерлейкины, нейронспецифическая енолаза*

Для цитирования: Панова М.С., Панченко А.С., Мудров В.А. Оптимизация диагностики гипоксического поражения головного мозга у доношенных новорождённых. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 133-141. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.15.

Optimization of Hypoxic Brain Injuries Diagnostics in Full-Term Newborns

Panova M.S., Panchenko A.S., Mudrov V.A.

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

Corresponding author: Marina S. Panova, e-mail: merik2002@mail.ru

Abstract

The problem of early diagnosis of the central nervous system damage in newborn before the onset of clinical symptoms remains relevant at the present time.

The aim *of the study was to optimize the hypoxic brain damage diagnosis in full-term newborns by analyzing the concentration of cytokines in the umbilical cord blood.*

Materials and methods. *During the first stage of the study, a prospective analysis of concentrations of interleukins (IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10), TNF-α and neuron-specific enolase (NSE) in the umbilical cord blood serum of full-term newborns was performed. The second stage of the study included the retrospective analysis of clinical data and instrumental research methods. The main method for diagnosing in the development of hypoxic brain damage in newborns was neurosonography.*

Results. *The development of hypoxic brain damage is evidenced by the concentration of IL-1β over 30.3 pg/ml, IL-4 – over 1.7 pg/ml, IL-6 – over 79.4 pg/ml, IL-8 – over 107.7 pg/ml, NSE – more than 10.3 ng/ml and TNF-α – more than 1.6 pg/ml in umbilical cord blood.*

Conclusion. *The results of the study confirmed that the comprehensive assessment of the cytokines concentration in the umbilical cord blood improves the hypoxic brain damage diagnosis in newborns. Analysis of the level of these mar-*

kers immediately after the birth will optimize the management tactics of newborns who have undergone hypoxic exposure in antenatal and intranatal period.

Key words: *hypoxic damage, brain, hypoxia, asphyxia, cytokines, interleukins, neuron-specific enolase*

For citation: Panova M.S., Panchenko A.S., Mudrov V.A. Optimization of Hypoxic Brain Injuries Diagnostics in Full-Term Newborns. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 133-141. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.15.

ВВЕДЕНИЕ

Гипоксические события в жизни плода и новорождённого (внутриутробная гипоксия и асфиксия при рождении) являются важными факторами развития патологии центральной нервной системы (ЦНС). Разработанная Российской ассоциацией специалистов перинатальной медицины в 2000 г. и актуальная по настоящее время классификация перинатальных поражений нервной системы включает в себя гипоксические поражения головного мозга [1]. Проблема актуальна, поскольку последствия данных поражений варьируют от умеренно выраженных неврологических проявлений до тяжёлых форм, ярким примером которых является детский церебральный паралич (ДЦП). Неврологические нарушения приводят к ухудшению качества жизни, осложнению социализации ребёнка, в наихудшем случае всё может закончиться летальным исходом [2, 3, 4].

Воздействие гипоксии приводит к включению множества патогенетических реакций, заканчивающихся гибелью нервных клеток головного мозга [5, 6]. Про- и противовоспалительные цитокины, высвобождаемые микроглией, играют весомую роль в патогенезе, что подтверждается повышением концентраций этих цитокинов в крови у детей с церебральной ишемией (ЦИ), гипоксически-ишемической энцефалопатией (ГИЭ), судорогами и другими подобными состояниями, согласно данным большого числа исследователей [3, 7–10]. Кроме определения веществ, участвующих в патогенезе повреждения ЦНС, важным представляется определение специфических маркеров, указывающих на то, что повреждение состоялось. Одним из них является нейронспецифическая енолаза (НСЕ), которая также повышается при ишемии и травме мозга, эпилепсии, внутричерепных кровоизлияниях, судорогах и других неврологических заболеваниях [11, 12, 13].

Современными основными методами диагностики специфических морфологических нарушений при ГИЭ (Volpe J.J., 2001) являются: нейросонография (НСГ), компьютерная томография головного мозга (КТ), магнитно-резонансная томография головного мозга (МРТ) и электроэнцефалография (ЭЭГ), которые помогают идентифицировать и охарактеризовать точное местоположение, степень и тяжесть поражения головного мозга [1, 2, 6, 15, 16, 17]. НСГ представляет собой недорогой и мобильный метод, обладающий минимальной радиационной нагрузкой. Она помогает обнаружить внутричерепное кровоизлияние, гидроцефалию, перивентрикулярную лейкомаляцию и другие структурные изменения. Повышенный же индекс резистентности средней мозговой артерии, определенный с помощью допплерографии, в сочетании с диффузным повышением эхогенности мозговой паренхимы говорит о тяжёлом поражении [1, 2, 6, 14]. При лёгкой ЦИ показатели НСГ обычно не имеют значимых отклонений, при средней ЦИ выявляются локальные гиперэхогенные очаги, парасагиттальные инфаркты водораздела между передней/средней мозговой артерией и средней/задней церебральной артерией. Повреждение базальных ганглиев имеет худший прогноз для жизни [1, 2, 6, 14]. Совокупно с оценкой клинической симптоматики и структуры головного мозга, мониторинг активности коры методом ЭЭГ у новорождённых является важнейшим инструментом мониторинга состояния ЦНС, (его данные входят в классификацию тяжести ГИЭ по H.B. Sarnat, M.S. Sarnat, 1976). Результаты ЭЭГ-мониторинга полезны для прогнозирования течения заболевания, принятия решений по дальнейшей реабилитации детей. Данный метод неинвазивен, однако в большинстве клиник он встречает ряд ограничений: не всегда имеется в наличии специальное оборудование, наблюдается сложность интерпретации врачами неонатологами, не везде обеспечивается круглосуточное присутствие нейрофизиолога, методика трудоёмка. Для решения этой проблемы и упрощения применения в клинической практике была создана амплитудно-интегрированная электроэнцефалография (аЭЭГ), которую необходимо проводить всем детям со средним и тяжёлым поражением головного мозга [16, 17]. Полученное графическое отображение активности коры головного мозга легко распознается практикующими врачами.

Шкала тяжести ГИЭ по H.B. Sarnat, M.S. Sarnat нередко ограничена применением седативных препаратов, субъективностью оценки, наличием сопутствующей патологии, невозможностью адекватно оценить ряд рефлексов (например, Моро и сосания) у новорождённых на искусственной вентиляции лёгких [15]. Гипоксические поражения головного мозга сопровождаются угнетением электрической активности коры, судорожной активностью. При интерпретации ЭЭГ важно знать клинический анамнез, поскольку отёк, повышенное внутричерепное давление, а также используемые лекарственные средства могут оказывать существенное влияние на характер полученных данных. Исходя из вышеописанного, в настоящее время ЭЭГ не может расцениваться в качестве изолированного метода, позволяющего судить о прогнозе и исходе заболевания. Для того, чтобы составить максимально точный прогноз, данные ЭЭГ должны применяться вместе с данными других клинических, инструментальных и лабораторных методов диагностики [1, 15, 16].

Несмотря на большое количество методов оценки состояния ЦНС у новорождённых, остаётся актуальным поиск ранних маркеров поражения головного мозга, поскольку не всегда с помощью инструментальных методов диагностики удаётся распознать уже начавшийся патологический процесс.

Фактор некроза опухолей альфа (ФНО-α) является провоспалительным цитокином, стимулирующим выработку ИЛ-1β, регулирующим апоптоз клеток ЦНС, а также способствующим дифференцировке, пролиферации и последующему развитию лейкоцитов. Существует большое количество данных, подтверждающих роль ФНО-α в гипоксическом повреждении головного мозга у ново-

рождённых, как ишемического, так и геморрагического характера [5, 9, 20]. В эксперименте на новорождённых крысах было показано, что пик его активности в ЦНС наступает через 6–12 часов после гипоксически-ишемического повреждения [21]. Повышенные уровни данного цитокина в плазме крови и ликворе у доношенных детей с асфиксией связаны со структурными изменениями в головном мозге, неврологической симптоматикой в течение 1 года жизни и ДЦП в будущем [5, 9, 20]. Основной биологической функцией ИЛ-10 является подавление воспаления и иммунного ответа. Экспрессия рецепторов к ИЛ-10 в клетках мозга способствует выживанию нейронов и нейроглии посредством блокирования апоптоза данных клеток, снижения уровня провоспалительных цитокинов и экспрессии рецепторов к ним. Его снижение в пуповинной крови у детей с асфиксией наблюдается наряду с повышением уровня провоспалительных цитокинов. Между тем, согласно литературным данным, у детей с ГИЭ концентрация ИЛ-10 повышается [5, 22, 23]. НСЕ является специфичным маркером повреждения нервной ткани. Согласно некоторым литературным данным, референсные значения НСЕ в крови у детей разного возраста отличаются друг от друга, а в периоде новорождённости зависят от многих факторов, в том числе от срока гестации и метода родоразрешения [11, 12, 13]. Уровень НСЕ повышается при ишемии и травме мозга, эпилепсии, внутричерепных кровоизлияниях, неонатальных судорогах. Концентрация НСЕ остаётся высокой в течение длительного времени после острого периода церебральной ишемии, свидетельствуя о том, что патологический процесс, сопровождающийся структурными нарушениями мембран клеток мозга, продолжается и в грудном возрасте [11, 12, 13]. Интерлейкин-1β синтезируется макрофагами, дендритными, эпителиальными, эндотелиальными клетками, широко известен как один из основных маркеров ранних и поздних стадий повреждения головного мозга, связанных с воспалением после гипоксических и ишемических повреждений [8, 9, 10]. Его высокое содержание у детей с ЦИ говорит о его местном высвобождении в головном мозге после первоначального гипоксического повреждения и играет большую роль в продолжающемся нейроповреждении [9, 10]. Считается, что ИЛ-1β не опасен для олигодендроцитов, но может остановить пролиферацию и, как следствие, задержать развитие и восстановление белого вещества после повреждения [8, 9, 10].

Интерлейкин-4 относится к лигандам гамма-цепи рецепторного комплекса ИЛ-2 [8]. По мнению M. Ziemka-Nalecz et al., ИЛ-4 способствует эндогенной защите мозга новорождённого [24].

Интерлейкин-6 относится к провоспалительным цитокинам, является медиатором межклеточного взаимодействия Т- и В-лимфоцитов. Чем выше уровень ИЛ-6 у новорождённых детей после перенесённой асфиксии, тем тяжелее поражение ЦНС. Согласно данным большинства авторов, уровень таких провоспалительных цитокинов, как ИЛ-1β и ИЛ-6, отражает степень гипоксически-ишемического поражения головного мозга [9, 10, 20, 22].

Интерлейкин-8 относится к числу СХС-хемокинов, продуцентами которого являются активированные (при встрече с патогенами) эндотелиальные клетки, лимфоциты, нейтрофильные гранулоциты, фибробласты и др.

Высокое содержание ИЛ-8 в пуповинной и периферической крови новорождённых указывает на активацию факторов врождённого иммунитета и высокую вероятность реализации неврологической патологии [22, 23].

Поэтому **целью исследования** явилась оптимизация диагностики гипоксического повреждения головного мозга у доношенных новорождённых путём анализа концентрации цитокинов в пуповинной крови.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Первый этап исследования выполнен на базе ГУЗ «Забайкальский краевой перинатальный центр» и перинатального центра ГУЗ «Краевая клиническая больница» г. Чита в 2017–2020 гг., включал ретроспективный анализ историй родов и уровня цитокинов у 141 новорождённого. Было выделено три исследуемые группы: 1-я группа (контрольная) включала 52 здоровых новорождённых; 2-я группа – 39 новорождённых, перенёсших хроническую внутриутробную гипоксию; 3-я группа – 50 новорождённых, перенёсших асфиксию в процессе родоразрешения. Критериями включения в исследование явились: рождение на сроке гестации 37–41 неделя, внутриутробная гипоксия, асфиксия в интранатальном периоде, наличие информированного добровольного согласия родителей на участие в исследовании. Критериями исключения из исследования явились: недоношенность, переношенность и склонность к перенашиванию (срок гестации более 41 недели), наличие генерализованных инфекций, генетических и врождённых заболеваний, гемолитическая болезнь и интранатальный травматизм новорождённого, отказ родителей от участия в исследовании. Диагноз хронической гипоксии плода был выставлен на основании комплекса инструментальных методов обследования, включающего кардиотокографию, ультразвуковую допплерографию и биофизический профиль плода. Диагноз асфиксии был выставлен на основании клинико-лабораторных показателей, низкой оценки по шкале Апгар [17]. Сбор пуповинной крови осуществлялся непосредственно после рождения ребёнка, открытым способом самотёком из артерий и вены материнского конца пуповины после её пересечения между двумя зажимами и обработки стерильным раствором. Уровни интерлейкинов (ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10), ФНО-α и НСЕ в сыворотке пуповинной крови определяли методом ИФА («сэндвич»-методом) с использованием готовых наборов реактивов фирмы «Вектор-Бест» на аппарате Expert 96.

Второй этап исследования включал ретроспективный анализ историй развития данных новорождённых. Было выделено две исследуемые группы: 1-я группа (контрольная) включала 69 новорождённых, не имеющих структурных изменений головного мозга по данным нейросонографии; 2-я группа – 72 новорождённых, имеющих структурные изменения головного мозга по данным нейросонографии. Группы сопоставимы по частоте вредных привычек, экстра- и генитальной патологии у матери. Всем новорождённым проводились общие и специальные методы исследования в соответствии с рекомендациями, утверждёнными Минздравом России [17]. Весь спектр обследования выполнен авторами без дополнительных затрат бюджетных средств, в каждом случае получено отдельное информированное добровольное согласие родителей. Специальные мето-

ды исследования включали проведение НСГ с помощью системы ультразвукового сканирования Sonolin Q60s (Siemens, Германия) и ЭЭГ с помощью компьютерного 16-канального электроэнцефалографа «Нейроспектр-2» (Нейрософт, Россия) на 1–3-и сутки раннего неонатального периода. Для исключения значимой сопутствующей патологии использовали лабораторные методы исследования, ультразвуковое исследование внутренних органов, эхокардиографию с помощью системы ультразвукового сканирования Sonolin Q60s (Siemens, Германия), компьютерную томографию головного мозга с помощью аппарата «Aquilion 64» (Toshiba, Япония), рентгенологическое исследование органов грудной клетки и брюшной полости с помощью аппарата КРТ-«ОКО» (НИПК «Электрон», Россия), электрокардиографию с помощью аппарата «Nihon-konden cardiofax-C» (Nihon-konden, Япония). В качестве условного «золотого стандарта», объективно отражающего развитие гипоксического поражения головного мозга у новорождённых, использовалась НСГ.

При проведении статистического анализа авторы руководствовались принципами Международного комитета редакторов медицинских журналов (ICMJE) и рекомендациями «Статистический анализ и методы в публикуемой литературе» (SAMPL) [18, 19]. Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей, количественные данные – с указанием медианы, первого и третьего квартилей. Анализ статистической значимости различий количественных признаков для трех независимых групп определяли с помощью критерия Краскела – Уоллиса, для двух независимых групп – Манна – Уитни, качественные признаки оценивали с помощью критерия Хи-квадрат Пирсона. Во всех случаях $p < 0,05$ считали статистически значимым. Для определения силы связи между фактором риска и исходом использовался критерий Крамера (*V*). Оценка значимости различий показателей также проводилась за счёт определения отношения шансов. Для выявления связи между независимыми переменными (концентрация цитокинов) и зависимой бинарной переменной (факт гипоксического

Таблица 1

Значение изучаемых параметров в исследуемых группах (df = 2)

Table 1

The value of the studied parameters in the study groups (df = 2)

Параметр	Исследуемые группы			*p*
	1-я группа (*n* = 52)	2-я группа (*n* = 39)	3-я группа (*n* = 50)	
Срок гестации, недели	39,5 (39,2; 39,5)	39,5 (39,3; 39,6)	39,5 (39,1; 39,5)	*H* = 0,9 *p* = 0,6
Масса новорождённого, г	3360,0 (3336,6; 3468,5)	3240,0 (3068,5; 3252,5)	3320,0 (3187,3; 3356,5)	*H* = 3,8 *p* = 0,2
Рост новорождённого, см	52,0 (51,5; 52,2)	52,0 (50,7; 52,0)	52,0 (51,2; 52,1)	*H* = 0,4 *p* = 0,8
Плодово-плацентарный коэффициент	0,18 (0,18; 0,19)	0,18 (0,18; 0,19)	0,18 (0,18; 0,19)	*H* = 1,2 *p* = 0,6
Беременность по счёту	3,0 (2,5; 3,2)	2,0 (2,0; 3,0)	3,0(2,6; 3,4)	*H* = 0,05 *p* = 1,0
Роды по счёту	2,0 (1,8; 2,1)	2,0 (1,8; 2,3)	2,0 (1,8; 2,2)	*H* = 0,2 *p* = 0,9
Оценка по шкале Апгар в конце 1-й минуты, баллы	9,0 (8,8; 9,0)	8,0 (8,0; 8,6)	6,0 (5,3; 6,0)	*H* = 103,4 *p* < 0,001
Оценка по шкале Апгар в конце 5-й минуты, баллы	9,0 (9,0; 9,4)	9,8 (8,8; 9,0)	8,0 (7,2; 8,0)	*H* = 83,4 *p* < 0,001

Таблица 2

Концентрация цитокинов в исследуемых группах (df = 2)

Table 2

Concentration of cytokines in the study groups (df = 2)

Исследуемый цитокин	Исследуемые группы			*p*
	1-я группа (*n* = 52)	2-я группа (*n* = 39)	3-я группа (*n* = 50)	
НСЕ, нг/мл	8,2 (7,7; 9,0)	10,3 (10,0; 12,4)	10,9 (10,5; 13,6)	*H* = 5,4 *p* = 0,07
ИЛ-1β, пг/мл	6,3 (6,2; 12,7)	8,3 (8,0; 28,5)	62,2 (54,5; 91,5)	*H* = 13,1 *p* = 0,001
ИЛ-4, пг/мл	0,5 (0,5; 1,0)	1,1 (1,0; 2,1)	2,9 (2,5; 4,1)	*H* = 17,4 *p* < 0,001
ИЛ-6, пг/мл	29,3 (28,8; 69,9)	40,4 (35,2; 67,6)	122,0 (108,2; 170,2)	*H* = 13,9 *p* = 0,001
ИЛ-8, пг/мл	55,0 (53,8; 103,5)	52,9 (49,5; 89,7)	159,7 (142,5; 200,2)	*H* = 13,3 *p* = 0,001
ИЛ-10, пг/мл	4,1 (3,9; 5,1)	7,1 (6,9; 17,4)	5,3 (5,0; 8,3)	*H* = 1,8 *p* = 0,4
ФНО-α, пг/мл	0,9 (0,9; 1,7)	1,1 (1,0; 1,9)	1,8 (1,7; 2,5)	*H* = 5,6 *p* = 0,06

повреждения головного мозга) выполняли логистический регрессионный анализ. Диагностическая ценность разработанной модели, определена путём построения ROC-кривой с последующим определением площади под ней [16]. Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью пакета программ «IBM SPSS Statistics Version 25.0» (International Business Machines Corporation, license No. Z125-3301-14, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Группы, входящие в структуру I этапа исследования, не различались по большинству исследуемых параметров, за исключением оценки по шкале Апгар, что позволяет судить о значимости последующих выводов (табл. 1).

Между тем, несмотря на малую численность, данные группы статистически значимо отличались по большинству изучаемых цитокинов (табл. 2).

Несмотря на гипотетически функциональную связь между НСЕ, ИЛ-10, ФНО-α и фактом гипоксического поражения головного мозга, статистически значимых различий в ходе I этапа нашего исследования обнаружено не было ($H \leq 5{,}6$; df = 2; $p \geq 0{,}06$). Содержание ИЛ-1β в 3-й исследуемой нами группе было выше, чем в группе контроля в 9,9 (4,3; 14,8) раза ($U = 797{,}0$; $p = 0{,}001$), в сравнении со 2-й группой в 7,5 (1,9; 11,4) раза ($U = 704{,}5$; $p = 0{,}02$). Концентрация ИЛ-4 в 3-й группе нашего исследования превышала таковую в 1-й группе в 5,8 (5,0; 8,2) раза ($U = 739{,}0$; $p < 0{,}001$), во 2-й группе в 2,6 (1,2; 4,1) раза ($U = 703{,}5$; $p = 0{,}02$). Повышенные показатели этого цитокина у детей с гипоксическими событиями, вероятнее всего, говорят о включении защитных механизмов. Содержание ИЛ-6 в 3-й группе было выше, чем в группе контроля в 4,2 (1,5; 5,9) раза ($U = 771{,}5$; $p < 0{,}001$), в сравнении со 2-й группой в 3,0 (1,6; 4,8) раза ($U = 687{,}0$; $p = 0{,}02$). Уровень ИЛ-8 в 3-й исследуемой нами группе был выше в сравнении с 1-й группой в 2,9 (1,4; 3,7) раза ($U = 806{,}0$; $p = 0{,}001$), в сравнении со 2-й группой в 3,0 (1,6; 4,0) раза ($U = 633{,}0$; $p = 0{,}005$). Таким образом, оценка концентрации ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 в сыворотке пуповинной крови при рождении позволяет определить группу новорождённых, перенёсших асфиксию в интранатальном периоде. Между тем, оценка данных параметров не всегда позволяет выявить новорождённых, перенёсших хроническую гипоксию ($U \geq 800{,}0$; $p \geq 0{,}05$). По данным НСГ у 23,5 % (21/89) детей 2-й и 3-й группы встречался умеренный общий отёк, у 3,3 % (3/89) – выраженный отёк головного мозга, у 7,8 % (7/89) – внутрижелудочковые кровоизлияния I степени, у 4,4 % (4/89) – кисты, у 5,6 % (5/89) – расширение желудочков, у 1,1 % (1/89) – ишемические очаги в головном мозге.

Результаты II этапа исследования. Гипоксическое воздействие на ЦНС играет весомую роль в развитии перинатальной заболеваемости и наиболее значимым представляется ранняя диагностика повреждения головного мозга у новорождённых, так как наличие структурных изменений в перспективе связано со снижением качества жизни. Во 2-ю исследуемую группу включены новорождённые со струк-

Таблица 3

Частота осложнений беременности и родов в исследуемых группах (df = 1)

Table 3

The frequency of pregnancy's and childbirth's complications in the study groups (df = 1)

Осложнения беременности и родов	Исследуемые группы		p
	1-я группа (n = 69)	2-я группа (n = 72)	
Угрожающие преждевременные роды	4,3 % (3/69)	20,8 % (15/72)	$\chi^2 = 8{,}6$ $p = 0{,}003$
Анемия	49,3 % (34/69)	44,4 % (32/72)	$\chi^2 = 0{,}3$ $p = 0{,}6$
Отеки беременной	13,0 % (9/69)	9,7 % (7/72)	$\chi^2 = 0{,}4$ $p = 0{,}5$
Хроническая гипоксия плода	21,7 % (15/69)	80,6 % (58/72)	$\chi^2 = 48{,}8$ $p < 0{,}001$
Задержка роста плода	5,8 % (4/69)	20,8 % (15/72)	$\chi^2 = 6{,}8$ $p = 0{,}009$
Преэклампсия	5,8 % (4/69)	8,3 % (6/72)	$\chi^2 = 0{,}3$ $p = 0{,}6$
Преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты	1,4 % (1/69)	5,6 % (4/72)	$\chi^2 = 1{,}7$ $p = 0{,}2$
Дискоординация родовой деятельности	4,3 % (3/69)	1,4 % (1/72)	$\chi^2 = 1{,}1$ $p = 0{,}3$
Слабость родовой деятельности	5,8 % (4/69)	12,5 % (9/72)	$\chi^2 = 1{,}9$ $p = 0{,}2$
Быстрые роды	11,6 % (8/69)	6,9 % (5/72)	$\chi^2 = 0{,}9$ $p = 0{,}3$
Мекониальный характер околоплодных вод	4,3 % (3/69)	26,4 % (19/72)	$\chi^2 = 13{,}0$ $p < 0{,}001$
Хориоамнионит	0,0 % (0/69)	1,4 % (1/72)	$\chi^2 = 1{,}0$ $p = 0{,}3$
Дистоция плечиков плода	1,4 % (1/69)	5,6 % (4/72)	$\chi^2 = 1{,}7$ $p = 0{,}2$
Патология пуповины	26,1 % (18/69)	34,7 % (25/72)	$\chi^2 = 1{,}2$ $p = 0{,}3$
Дистресс плода	0,0 % (0/69)	13,9 % (10/72)	$\chi^2 = 10{,}3$ $p = 0{,}001$

турными изменениями головного мозга по данным НСГ, частота осложнений беременности и родов, которых статистически значимо отличались от результатов исследования 1-й группы только по ряду параметров (табл. 3).

Родоразрешение путём операции кесарева сечения в 1-й группе наблюдалось у 17,4 % (12/69), во 2-й группе – у 48,6 % (35/72) матерей ($\chi^2 = 15,5$; df = 1; $p < 0,001$). Частота рождения мальчиков в 1-й группе составила 43,5 % (30/69), во 2-й группе – 52,8 % (38/72) случаев ($\chi^2 = 1,2$; df = 1; $p = 0,3$).

Определенный интерес представляет не только оценка статистически значимых различий в исследуемых группах, но и определение степени связи между фактом развития гипоксического повреждения головного мозга и существенными факторами риска (табл. 4).

Указанные факторы риска обладают достаточной информативностью для врача акушера-гинеколога в рамках выбора метода родоразрешения, для врача-неонатолога являются факторами риска по развитию гипоксического повреждения головного мозга у новорождённых и позволят определить оптимальную тактику ведения новорождённого.

Клиническая картина неонатального периода в 1-й группе статистически значимо отличалась от таковой во 2-й исследуемой группе по ограниченному числу параметров (табл. 5).

Между тем, следует отметить, что между фактом развития гипоксического повреждения головного мозга и гипотонией новорождённого имеется слабо выраженная связь ($V = 0,26$; $p = 0,002$). Аналогичной силой связи отличается гиповолемия ($V = 0,17$; $p = 0,047$) и гипервозбудимость новорождённого ($V = 0,22$; $p = 0,008$), что не позволяет использовать клиническую симптоматику в качестве метода ранней диагностики гипоксического повреждения головного мозга у новорождённых.

Следует сказать, что согласно данным ЭЭГ изменение биоэлектрической активности мозга и судорожные признаки наблюдались у 2,8 % (2/72) детей 2-й исследуемой группы ($\chi^2 = 1,9$; df = 1; $p = 0,2$), что не позволяет считать ЭЭГ методом выбора для диагностики гипоксического повреждения головного мозга у новорождённых ($V = 0,2$; $p = 0,003$). По истечению раннего неонатального периода диагноз церебральная ишемия (ЦИ) II степени был выставлен 12,5 % (9/72) детям 2-й исследуемой группы, клинические признаки ЦИ I степени имели 87,5 % (63/72) новорождённых.

Исследование уровня большинства изученных интерлейкинов (ИЛ-1β, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8), ФНО-α и НСЕ

Таблица 4

Определение степени связи между фактом развития гипоксического повреждения головного мозга и существенными факторами риска

Table 4

Determination of the association's degree between the fact of the hypoxic brain damage development and significant risk factors

Осложнения беременности и родов	Коэффициент Крамера (V)	OR	95 % ДИ	*p*
Угрожающие преждевременные роды	0,25	5,8	1,6; 21,0	$p = 0,003$
Хроническая гипоксия плода	0,59	14,9	6,6; 33,8	$p < 0,001$
Задержка роста плода	0,22	4,3	1,3; 13,6	$p = 0,009$
Мекониальный характер околоплодных вод	0,30	7,9	2,2; 28,1	$p < 0,001$
Дистресс плода	0,27	> 11,0	> 1,4; 88,2	$p = 0,001$

Таблица 5

Клиническая картина неонатального периода в исследуемых группах, df = 1

Table 5

Clinical during the neonatal period in the test groups, df = 1

Клиническая картина	Исследуемые группы		*p*
	1-я группа (*n* = 69)	2-я группа (*n* = 72)	
Гипотония	36,2 % (25/69)	62,5 % (45/72)	$\chi^2 = 9,7$ $p = 0,002$
Гипорефлексия	55,1 % (38/69)	65,3 % (47/72)	$\chi^2 = 1,5$ $p = 0,2$
Гипертонус/дистония	10,1 % (7/69)	15,3 % (11/72)	$\chi^2 = 0,8$ $p = 0,4$
Гипервозбудимость	0,0 % (0/69)	9,7 % (7/72)	$\chi^2 = 7,1$ $p = 0,008$
Гиподинамия	8,7 % (6/69)	19,4 % (14/72)	$\chi^2 = 3,3$ $p = 0,07$
Арефлексия	1,4 % (1/69)	2,8 % (2/72)	$\chi^2 = 0,3$ $p = 0,6$
Угнетение ЦНС	4,3 % (3/69)	4,2 % (3/72)	$\chi^2 = 0,003$ $p = 1,0$
Очаговая симптоматика	1,4 % (1/69)	6,9 % (5/72)	$\chi^2 = 2,6$ $p = 0,1$
Гиповолемия	0,0 % (0/69)	5,6 % (4/72)	$\chi^2 = 3,9$ $p = 0,047$
Транзиторное тахипноэ	0,0 % (0/69)	1,4 % (1/72)	$\chi^2 = 1,0$ $p = 0,3$
Отёчность и снижение диуреза	0,0 % (0/69)	4,2 % (3/72)	$\chi^2 = 2,9$ $p = 0,09$

Таблица 6

Концентрация цитокинов в исследуемых группах

Table 6

Concentration of cytokines in the study groups

Исследуемый цитокин	Исследуемые группы		*p*
	1-я группа (*n* = 69)	2-я группа (*n* = 72)	
НСЕ, нг/мл	8,6 (8,4; 10,1)	10,8 (10,6; 12,7)	*U* = 1953,5 *p* = 0,03
ИЛ-1β, пг/мл	8,3 (8,3; 20,4)	40,8 (40,2; 67,1)	*U* = 1778,0 *p* = 0,003
ИЛ-4, пг/мл	0,7 (0,7; 1,2)	2,7 (2,1; 3,4)	*U* = 1611,5 *p* < 0,001
ИЛ-6, пг/мл	36,4 (36,1; 72,8)	89,3 (86,0; 129,9)	*U* = 1737,0 *p* = 0,002
ИЛ-8, пг/мл	65,0 (64,7; 106,1)	116,4 (109,3; 153,9)	*U* = 1975,5 *p* = 0,04
ИЛ-10, пг/мл	4,1 (4,1; 5,6)	6,8 (6,8; 12,8)	*U* = 2474,0 *p* = 0,97
ФНО-α, пг/мл	0,9 (0,9; 1,6)	1,6 (1,6; 2,3)	*U* = 1921,5 *p* = 0,02

Таблица 7

Значимость показателей в структуре разработанной модели

Table 7

Significance of indicators in the structure of the developed model

Модель	B	Среднеквадратичная ошибка	Вальд	*p*	Exp (B)	95% ДИ Exp(B)
Константа	–0,7	0,3	4,4	0,04	0,5	
НСЕ	0,04	0,03	2,0	0,16	1,05	1,0; 1,1
ИЛ-1β	0,005	0,06	0,8	0,4	1,05	1,0; 1,1
ИЛ-4	0,2	0,1	3,5	0,06	1,20	1,0; 1,5
ИЛ-6	0,001	0,002	0,7	0,4	1,05	1,0; 1,1
ИЛ-8	–0,001	0,002	0,2	0,7	1,05	1,0; 1,1
ФНО-α	–0,04	0,1	0,2	0,7	1,01	1,0; 1,2

в пуповинной крови позволяет эффективно провести раннюю диагностику гипоксического повреждения головного мозга (табл. 6).

Учитывая дихотомическое распределение зависимой переменной, для определения факта развития гипоксического повреждения головного мозга оценивалась значимость цитокинов, включённые в уравнение бинарной логистической регрессии (табл. 7).

Таким образом, путём бинарной логистической регрессии разработан способ ранней диагностики гипоксического повреждения головного мозга у новорождённого, выражающийся следующей формулой:

$$D = \frac{1}{1 + e^{0,7 - 0,001(5 \times ИЛ1\beta + ИЛ6 - ИЛ8) - 0,04(5 \times ИЛ4 - ФНО\alpha + НСЕ)}},$$

где *D* – коэффициент гипоксического поражения головного мозга, 0,7 – константа (регрессионный коэффициент b_0); 0,001, 0,04 и 5 – нестандартизованные коэффициенты b; $ИЛ_{1\beta}$ – концентрация ИЛ-1β, пг/мл; $ИЛ_6$ – концентрация ИЛ-6, пг/мл; $ИЛ_8$ – концентрация ИЛ-8, пг/мл; $ИЛ_4$ – концентрация ИЛ-4, пг/мл; ФНОα – концентрация ФНО-α, пг/мл; НСЕ – концентрация НСЕ, нг/мл; e – основание натурального логарифма (e ~ 2,72). Значение *D*, равное 0,5 и более, свидетельствует о развитии гипоксического повреждения головного мозга у новорождённого.

Чувствительность разработанной диагностической модели составляет 0,6, специфичность – 0,8. Площадь под ROC-кривой составляет 0,70 (95% ДИ: 0,61–0,79). Стандартная ошибка составляет 0,04 (рис. 1).

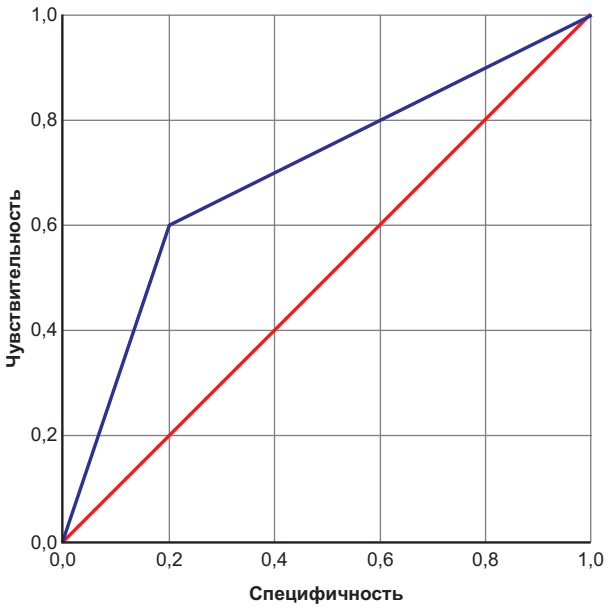


Рис. 1. Площадь под ROC-кривой

Fig. 1. Area under the ROC curve

Таким образом, у детей, имевших структурные изменения головного мозга, более часто встречалась различной степени выраженности неврологическая симптоматика. Данные НСГ и клинической картины были подтверждены повышенным уровнем цитокинов, участвующих в патогенезе гипоксических поражений ЦНС. Повышенный уровень НСЕ указывает на нейроповреждение. С целью ранней доклинической диагностики создан вышеописанный алгоритм, позволяющий не только своевременно назначить необходимый объём обследования, но и в перспективе скорректировать тактику ведения и лечения новорождённого.

Учитывая сложность необходимых расчётов, для упрощения использования способа в повседневной клинической практике создано приложение для Android в среде разработки Delphi (Delphi 10.3.3 Rio, Embarcadero Technologies, license No. 2UHK-Z9NG5B-DYPETV-3J8D, США), которое позволяет рассчитать вероятность гипоксического повреждения головного мозга у конкретного новорождённого в течение нескольких секунд.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведённого исследования подтвердили, что комплексная оценка концентрации цитокинов в пуповинной крови позволяет оптимизировать диагностику гипоксического повреждения головного мозга у доношенных новорождённых.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено без спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иванов Д.О., ред. *Руководство по перинатологии*. М.: Информ-Навигатор; 2019: 2528.

2. Барышева А.Ю., ред. *Неотложные состояния у новорождённых детей: руководство для врачей*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2020: 416.

3. Placha K, Luptakova D, Baciak L, Ujhazy E, Juranek I. Neonatal brain injury as a consequence of insufficient cerebral oxygenation. *Neuro Endocrinol.* 2016; 37(2): 79-96.

4. Петренкова Н.С., Сергеева В.А., Пахомов Д.А. Гемодинамические паттерны у новорождённых с гипоксически-ишемической энцефалопатией при проведении терапевтической гипотермии. *Забайкальский медицинский вестник*. 2017; (2): 72-77.

5. Massaro AN, Wu YW, Bammler TK, Comstock B, Mathur A, McKinstry RC, et al. Plasma biomarkers of brain injury in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Pediatr.* 2018; 194: 67-75. doi: 10.1016/j.jpeds.2017.10.060

6. Перлман Д.М. *Неврология. Проблемы и противоречия в неонатологии*. М.: Логосфера; 2015: 392.

7. Perrone S, Weiss MD, Proietti F, Rossignol C, Cornacchione S, Bazzini F, et al. Identification of a panel of cytokines in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy treated with hypothermia. *Cytokine.* 2018; 111: 119-124. doi: 10.1016/j.cyto.2018.08.011

8. Murray KN, Parry-Jones AR, Allan SM. Interleukin-1 and acute brain injury. *Front Cell Neurosci*. 2015; (9): 18. doi: 10.3389/fncel.2015.00018

9. Chaparro-Huerta V, Flores-Soto ME, Merin Sigala ME, Barrera de León JC, Lemus-Varela ML, Torres-Mendoza BM, et al. Proinflammatory cytokines, enolase and S-100 as early biochemical indicators of hypoxic-ischemic encephalopathy following perinatal asphyxia in newborns. *Pediatr Neonatol.* 2017; 58(1): 70-76. doi: 10.1016/j.pedneo.2016.05.001

10. Doll DN, Barr TL, Simpkins JW. Cytokines: their role in stroke and potential use as biomarkers and therapeutic targets. *Aging Dis.* 2014; 5(5): 294-306. doi: 10.14336/AD.2014.0500294

11. Ведунова М.В., Терентьева К.А., Щелчкова Н.А., Косарева М.А., Мищенко Т.А., Халецкая О.В., и др. Диагностическое значение определения концентрации нейротрофических факторов и нейронспецифической енолазы в крови новорождённых с нарушениями ЦНС. СТМ. 2015; 7(2): 25-32. doi: 10.17691/stm2015.7.2.03

12. Моргун А.В., Овчаренко Н.В., Таранушенко Т.Е., Устинова С.И., Окунева О.С., Антонова С.К., и др. Маркеры апоптоза и нейроспецифические белки в диагностике перинатальных поражений центральной нервной системы у новорождённых детей. *Сибирское медицинское обозрение.* 2013; 3: 3-11.

13. Mazarico E, Llurba E, Cabero L, Sánchez O, Valls A, Martin-Ancel A, et al. Associations between neural injury markers of intrauterine growth-restricted infants and neurodevelopment at 2 years of age. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2019; 32(19): 3197-3203. doi: 10.1080/14767058.2018.1460347

14. Шабалов Н.П. *Неонатология*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2016: 704.

15. Блинов Д.В. Диагностическое значение ЭЭГ и биохимических маркеров повреждения мозга при гипоксически-ишемической энцефалопатии. *Эпилепсия и пароксизмальные состояния.* 2016; 4: 91-98. doi: 10.17749/2077-8333.2016.8.4.091-098

16. Задворнов А.А., Голомидов А.В., Григорьев Е.В. Амплитудно-интегрированная электроэнцефалография у доношенных новорождённых с гипоксически-ишемической энцефалопатией. *Неонатология: новости, мнения, обучение.* 2018; 6(2): 52-63. doi: 10.24411/2308-2402-2018-00018

17. Методическое письмо № 15-4/И/2-2570 «Реанимация и стабилизация состояния новорождённых детей в родильном зале», утверждённое Министерством здравоохранения Российской Федерации 4 марта 2020 г.

18. International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals: writing and editing for biomedical publication, 2011. URL: https://www.icjme.org

19. Lang T, Altman D. Statistical analyses and methods in the published literature or the SAMPL guidelines. *Int J Nurs Stud*. 2014; 52(1): 1-11. doi: 10.1016/j.ijnurstu.2014.09.006

20. Якорнова Г.В., Ремизова И.И., Чистякова Г.Н., Устьянцева Л.С. Динамика провоспалительных цитокинов у детей, родившихся у женщин с осложнённой беременностью, в зависимости от течения раннего периода адаптации. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2015; 60(4): 50-56.

21. Bajnok A, Berta L, Orban C, Veres G, Zadori D, Barta H, et al. Distinct cytokine patterns may regulate the severity of neonatal asphyxia – an observational study. *J Neuroinflammation*. 2017; 14(1): 244. doi: 10.1186/s12974-017-1023-2

22. Симбирцев А.С. *Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека*. СПб.: Фолиант; 2018: 512.

23. Чистякова Г.Н., Ремизова Л.Л., Газиева Л.А., Бычкова С.В., Занина Е.В., Чарипова Б.Т. Про- и противовоспалительные медиаторы у новорождённых с перинатальной патологией. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2014; 59(2): 66-70. doi: 10.21508/1027-4065-2017-62-3-59-65

24. Ziemka-Nalecz M, Jaworska J, Zalewska T. Insights into the neuroinflammatory responsions after neonatal hypoxia-ischemia. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2017; 76(8): 644-654. doi: 10.1093/jnen/nlx046

REFERENCES

1. Ivanov DO, ed. *Guide to Perinatology*. Moscow: Inform-Navigator; 2019: 2528. (In Russ.)

2. Barysheva AYu, ed. *Emergencies in newborns: guide for doctors*. Moscow: GEOTAR-Media; 2020: 416. (In Russ.)

3. Placha K, Luptakova D, Baciak L, Ujhazy E, Juranek I. Neonatalbrain injury as a consequence of insufficient cerebral oxygenation. *Neuro Endocrinol*. 2016; 37(2): 79-96.

4. Petrenkova NS, Sergeeva VA, Pakhomov DA. Hemodynamic patterns in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy during therapeutic hypothermia. *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik*. 2017; (2): 72-77. (In Russ.)

5. Massaro AN, Wu YW, Bammler TK, Comstock B, Mathur A, McKinstry RC, et al. Plasma biomarkers of brain injury in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Pediatr.* 2018; 194: 67-75. doi: 10.1016/j.jpeds.2017.10.060

6. Perlman DM. Neurology. *Problems and contradictions in neonatology.* Moscow: Logosfera; 2015: 392. (In Russ.)

7. Perrone S, Weiss MD, Proietti F, Rossignol C, Cornacchione S, Bazzini F, et al. Identification of a panel of cytokines in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy treated with hypothermia. *Cytokine.* 2018; 111: 119-124. doi: 10.1016/j.cyto.2018.08.011

8. Murray KN, Parry-Jones AR, Allan SM. Interleukin-1 and acute brain injury. *Front Cell Neurosci*. 2015; 9: 18. doi: 10.3389/fncel.2015.00018

9. Chaparro-Huerta V, Flores-Soto ME, Merin Sigala ME, Barrera de León JC, Lemus-Varela ML, Torres-Mendoza BM, et al. Proinflammatory cytokines, enolase and S-100 as early biochemical indicators of hypoxic-ischemic encephalopathy following perinatal asphyxia in newborns. *Pediatr Neonatol.* 2017; 58(1): 70-76. doi: 10.1016/j.pedneo.2016.05.001

10. Doll DN, Barr TL, Simpkins JW. Cytokines: their role in stroke and potential use as biomarkers and therapeutic targets. *Aging Dis.* 2014; 5(5): 294-306. doi: 10.14336/AD.2014.0500294

11. Vedunova MV, Terentieva KA, Shchelchkova NA, Kosareva MA, Mishchenko TA, Khaletskaya OV, et al. Determining concentration of neurotrophic factors and neuron specific enolase in the blood of newborns with central nervous system damages as a new approach in clinical diagnostics. *Sovremennye tehnologii v medicine.* 2015; 7(2): 25-32. (In Russ.). doi: 10.17691/stm2015.7.2.03

12. Morgun AV, Ovcharenko NV, Taranushenko TE, Ustinova SI, Okuneva OS, Antonova SK, et al. Apoptosis markers and neurospecific proteins in the diagnosis of perinatal lesions of the central nervous system in newborns. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie.* 2013; 3: 3-11. (In Russ.)

13. Mazarico E, Llurba E, Cabero L, Sánchez O, Valls A, Martin-Ancel A. et al. Associations between neural injury markers of intrauterine growth-restricted infants and neurodevelopment at 2 years of age. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2019; 32(19): 3197-3203. doi: 10.1080/14767058.2018.1460347

14. Shabalov NP. *Neonatology*. Moscow: GEOTAR-Media; 2016: 704. (In Russ.)

15. Blinov DV. The diagnostic value of EEG and biochemical markers of brain injury in hypoxic-ischemic encephalopathy. *Epilepsy and paroxysmal conditions.* 2016; 8(4): 91-98. (In Russ.). doi: 10.17749/2077-8333.2016.8.4.091-098

16. Zadvornov AA, Golomidov AV, Grigor'ev EV. Amplitude-integrated electroencephalography in full-term newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Neonatologiya: novosti, mneniya, obuchenie.* 2018; 6(2): 52-63. (In Russ.). doi: 10.24411/2308-2402-2018-00018

17. Methodical guidance No. 15-4/I/2-2570 "Resuscitation and stabilization of the condition of newborns in the delivery room", authorized by Ministry of Health of Russian Federation, dated 04.03.2020. (In Russ.)

18. International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals: writing and editing for biomedical publication, 2011. URL: https://www.icjme.org

19. Lang T, Altman D. Statistical analyses and methods in the published literature or the SAMPL guidelines. *Int J Nurs Stud*. 2014; 52(1): 1-11. doi: 10.1016/j.ijnurstu.2014.09.006

20. Yakornova GV, Remizova II, Chistyakova GN, Ustyantseva LS. Time course of changes in proinflammatory cytokines in infants born to women with complicated pregnancy in relation to the course of an early adaptation period. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics*. 2015; 60(4): 50-56. (In Russ.)

21. Bajnok A, Berta L, Orban C, Veres G, Zadori D, Barta H, et al. Distinct cytokine patterns may regulate the severity of neonatal asphyxia – an observational study. *J Neuroinflammation*. 2017; 14(1): 244. doi: 10.1186/s12974-017-1023-2

22. Simbirtsev AS. Cytokines in the pathogenesis and treatment of human diseases. Saint-Petersburg: Folio; 2018: 512. (In Russ.)

23. Ust'janceva LS, Chistjakova GN, Remizova II, Zaharova SYu, Shamova KP, Bychkova SV. Features of innate and adaptive immunity in preterm infants with hypoxic-ischemic lesions of the central nervous system. *Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics.* 2017; 62(3): 59-65. (In Russ.). doi: 10.21508/1027-4065-2017-62-3-59-65

24. Ziemka-Nalecz M, Jaworska J, Zalewska T. Insights into the neuroinflammatory responsions after neonatal hypoxia-ischemia. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2017; 76(8): 644-654. doi: 10.1093/jnen/nlx046

Сведения об авторах

Панова Марина Сергеевна – ассистент кафедры пропедевтики детских болезней, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России; e-mail: merik2002@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-3144-4889

Панченко Александра Сергеевна – доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой пропедевтики детских болезней, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: sashawomen18@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-2313-3941

Мудров Виктор Андреевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии лечебного и стоматологического факультетов, ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, e-mail: mudrov_viktor@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-5961-5400

Information about the authors

Marina S. Panova – Teaching Assistant at the Department of Propedeutics of Childhood Diseases, Chita State Medical Academy, e-mail: merik2002@mail.ru; https://orcid.org/0000-0003-3144-4889

Alexandra S. Panchenko, – Dr. Sc. (Med.), Docent, Head of the Department of Propedeutics of Childhood Diseases, Chita State Medical Academy; e-mail: sashawomen@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-2313-3941

Viktor A. Mudrov – Cand. Sc. (Med.), Assistant Professor at the Department of Obstetrics and Gynecology of the Department of General Medicine and Dentistry Department, Chita State Medical Academy, e-mail: mudrov_viktor@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-5961-5400

Статья получена: 18.01.2021. Статья принята: 13.04.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 18.01.2021. Accepted: 13.04.2021. Published: 15.06.2021.

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА
PREVENTIVE MEDICINE

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.16

Важность создания абилитационных программ для детей с фетальным алкогольным синдромом и фетально-алкогольным спектром нарушений

Марянян А.Ю., Молчанова Е.В., Акудович Н.В., Калькова А.Н.

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

Автор, ответственный за переписку: Марянян Анаит Юрьевна, e-mail: anait_24@mail.ru

Резюме

***Цель исследования*:** *провести анализ данных исследований, направленных на изучение и обоснование острой необходимости создания в России комплексных абилитационных программ для людей с фетальным алкогольным синдромом, фетальным алкогольным спектром нарушений и другими психическими нарушениями.*

Методы. *Проанализированы результаты российских и зарубежных исследований, затрагивающих следующие проблемы: наблюдение и диагностика людей с фетальным алкогольным синдромом и фетальным алкогольным спектром нарушений; изучение опыта иностранных государств в решении вопросов профилактики и преодоления фетального алкогольного синдрома и фетального алкогольного спектра нарушений; изучение опыта российских специалистов (акушеров-гинекологов, неврологов, психиатров, психологов, коррекционных педагогов и др.), работающих с диагнозом «Алкогольный синдром у плода»; оценка социально-экономического влияния организации программ профилактики фетального алкогольного синдрома и фетального алкогольного спектра нарушений методом сравнения с аналогичными показателями в других странах.*

Результаты. *Представленный анализ данных свидетельствует о том, что существует острая необходимость своевременной диагностики заболевания, поиска/создания новых лекарств для лечения последствий алкогольного синдрома и организации подготовки специалистов в этой области. Показана важность оказания пожизненной медицинской и социальной помощи людям с фетальным алкогольным спектром нарушений, а также их семьям. Подтверждена эффективность создания системы мер профилактики фетального алкогольного синдрома и фетального алкогольного спектра нарушений (ФАС/ФАСН) по всей стране.*

Заключение. *Разработка на государственном уровне и внедрение программ профилактики позволит существенно снизить показатели рождаемости детей с диагнозом «алкогольный синдром у плода» и, таким образом, сократить расходы государства и общества на преодоление последствий ФАС/ФАСН. В то же время, своевременно и грамотно организованная абилитация людей с ФАС/ФАСН существенно улучшит социальную ситуацию в обществе в целом, а также снизит психологическую нагрузку на каждую семью, столкнувшуюся с данной проблемой.*

Ключевые слова: *алкогольный синдром у плода, фетальный алкогольный синдром, фетально-алкогольный спектр нарушений, психические нарушения, абилитация*

Для цитирования: Марянян А.Ю., Молчанова Е.В., Акудович Н.В., Калькова А.Н. Важность создания абилитационных программ для детей с фетальным алкогольным синдромом и фетально-алкогольным спектром нарушений. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 142-148. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.16.

The Importance of Creating Habilitation Programs for Children with Fetal Alcohol Syndrome and Fetal Alcohol Spectrum Disorders

Marianian A.Yu., Molchanova E.V., Akudovich N.V., Kalkova A.N.

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

Corresponding author: Anait Yu. Marianian, e-mail: anait_24@mail.ru

Abstract

Aim of the study: *to analyze the data of studies aimed at studying and substantiating the urgent need to create in Russia comprehensive habilitation programs for people with fetal alcohol syndrome, fetal alcohol spectrum disorders and other mental disorders.*

Methods. *The results of Russian and foreign studies have been analyzed concerning the following problems: observation and diagnosis of people with fetal alcohol syndrome and fetal alcohol spectrum disorders; studying the experience of foreign countries in addressing issues of prevention and overcoming of fetal alcohol syndrome and fetal alcohol spectrum disorders; studying the experience of Russian specialists (obstetricians-gynecologists, neurologists, psychiatrists, psychologists, correctional teachers, etc.) working with the diagnosis of "Alcohol syndrome in the fetus"; assess-*

ing the socio-economic impact of organizing programs for the prevention of fetal alcohol syndrome and fetal alcohol spectrum disorders by comparison with similar indicators in other countries.
Results. *The presented analysis of the data indicates that there is an urgent need for timely diagnosis of the disease, the search/creation of new drugs, for the treatment of the consequences of alcohol syndrome and the organization of training of specialists in this area. The article shows the importance of providing lifelong medical and social assistance to people with fetal alcohol spectrum disorders, as well as to their families. The effectiveness of the creation of a system of measures for the prevention of fetal alcohol syndrome and fetal alcohol spectrum disorders throughout the country has been confirmed.*
Conclusion. *The development at the state level and implementation of prevention programs will significantly reduce the birth rate of children diagnosed with "Alcohol syndrome in the fetus" and, thus, reduce the costs of the state and society on overcoming the consequences of FAS/FASD. At the same time, timely and well-organized habilitation of people with FAS/FASD will significantly improve the social situation in society as a whole, as well as reduce the psychological burden on every family faced with this problem.*

Key words: *fetal alcohol syndrome, fetal alcohol syndrome, fetal alcohol spectrum disorders, mental disorders, habilitation*

For citation: Marianian A.Yu., Molchanova E.V., Akudovich N.V., Kalkova A.N. The Importance of Creating Habilitation Programs for Children with Fetal Alcohol Syndrome and Fetal Alcohol Spectrum Disorders. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 142-148. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.16.

На сегодняшний день одним из актуальных вопросов современного общества является создание системы помощи семьям, воспитывающим детей с особенностями психического развития. Как известно, в России неоднократно проводились реформы образования. Отмечено, что основной упор делается на помощь одарённым детям, целеустремлённым личностям, повышение требований к успеваемости, усложнение образовательной программы. В то же время семьи, воспитывающие детей с задержкой психического развития, оказываются в стороне: не учитываются их интересы и потребности, не просчитывается социально-экономический эффект такой политики [1]. В крупных городах вопросами адаптации таких семей в основном занимаются некоммерческие организации и благотворительные фонды [2]. Важно отметить, что решающее значение в решении социальных проблем имеет позиция государства. Интересы государства должны быть направлены на разработку и утверждение специальных программ, позволяющих семьям, воспитывающим особых детей, вовремя получать психологическую помощь, иметь возможность давать своим детям образование в соответствии с реальными возможностями детей, получать поддержку необходимых специалистов с момента рождения детей, проходить специальные тренинги, получать информацию о вариантах трудоустройства в будущем и многое другое. Важно также разработать и утвердить методики присвоения семье особого статуса, который позволил бы родителям получать бесплатное психологическое сопровождение, особые привилегии в процессе обучения или трудоустройства.

По данным исследовательской группы профилактики ФАС [3], семьи, столкнувшиеся с необходимостью воспитывать ребёнка с особенностями психического развития, не получают необходимую медицинскую, психологическую и педагогическую поддержку. При этом также не учитываются те факты, что при задержке психического развития ребёнка мама не сможет выйти на работу на полный рабочий день; ребёнку будет требоваться постоянная помощь коррекционных педагогов с рождения и до момента получения профессии. В течение первого десятилетия с момента рождения, либо усыновления особого ребёнка многие семьи оказываются за чертой бедности. Приёмные семьи оказываются в лучших условиях по сравнению с кровными, так как получают дополнительные денежные выплаты от государства. Также им предоставляют поддержку фонды, реализующие свои программы за счёт средств благотворителей и грантов. Кровная семья вынуждена рассчитывать исключительно на собственные силы и ресурсы [3].

Таким образом, по данным исследователей [1–3], дети, имеющие задержку психического развития, но не получившиеся диагноз «Умственная отсталость», попадают в систему российского образования наравне с детьми без ограниченных возможностей здоровья (ОВЗ) и вынуждены учиться по тем же образовательным стандартам и сдавать те же экзамены. Даже если в Заключении Центральной психолого-медико-педагогической комиссии (ЦПМПК) написано, что ребёнку полагается тьютор, то по факту у образовательной организации нет ресурсов для выделения отдельного специалиста такому ученику. Такая ситуация ставит родителей перед выбором – частная школа или семейное обучение с тьютором. В любом случае, речь идёт о больших финансовых вложениях. Следует отметить, что системой не предусмотрена даже частичная компенсация средств родителям, выбравшим негосударственное образование. Можно сделать вывод, что в школе остаются учиться большинство особых детей просто потому, что у родителей нет выхода. В свою очередь, ребёнок с задержкой психического развития не в состоянии осваивать стандартную образовательную программу, он очень быстро теряет мотивацию к обучению и его психическое состояние ухудшается. Ухудшение психического состояния ребёнка влияет на внутрисемейную обстановку. Это обстоятельство приводит к замкнутому кругу: даже ранее благополучные заботливые родители оказываются не в состоянии помочь ребёнку вырасти успешным, уверенным и счастливым человеком [4, 5].

Как известно, этиловый спирт и его метаболиты даже в низкой концентрации негативно влияют на организм эмбриона, плода, новорождённого. При прямом химическом воздействии этанола на плод может возникнуть фетальный алкогольный синдром. Вместе с тем исходное состояние метаболических систем матери часто упрощённо рассматривается как индифферентный фон, на котором происходит формирование разнообразных пороков развития, в том числе развития ФАС/ФАСН, и который мало изменяется при употреблении незначительных количеств алкоголя [6–16].

Распространённость ФАС оценивается примерно 2 случая на 1000 живорождённых, однако в странах и подгруппах населения с большим употреблением алкоголя распространённость ФАС составляет от 3 до 5 на 1000 живорождённых [3, 5]. Литературные данные показывают, что по сравнению со многими другими врождёнными нарушениями, например с синдромом Дауна, ФАС имеет более высокую распространённость. Изучено, что в семьях, имеющих одного ребёнка с ФАС, у последующих детей заболевание встречается в 771 случае на 1000 живорождённых [17]. Наиболее высокая распространённость была выявлена в винодельческих провинциях ЮАР, где распространённость достигала 40 и более случаев на 1000 детей школьного возраста [18]. Менее выраженные нарушения фетального алкогольного спектра (ФАСН) встречаются примерно в 10 раз чаще, чем ФАС [19].

По данным исследований CDC выявлено, что распространённость ФАС составляет от 0,2 до 1,5 случая на 1000 рождений по различным группам населения. Среди приблизительно 4 млн младенцев, рождающихся каждый год, от 1000 до 6000 будут рождены с ФАС [20, 21]. Исследования распространённости ФАС среди особенно уязвимых групп населения дают оценки, значительно превышающие оценки частоты встречаемости других врождённых заболеваний [22–24].

При анализе литературных данных выявлено, что медицинские работники и другие специалисты, которые занимаются и работают с детьми, не идентифицируют детей с ФАС/ФАСН. Данное обстоятельство затрудняет возможность предоставления этим детям традиционной системы помощи, как это принято при врождённых дефектах и нарушениях, связанных с развитием [8, 18].

Литературные данные свидетельствуют, что диагностика ФАС и диагностический процесс, в большей степени нейропсихологическая оценка, являются частью целостной сферы обслуживания, которая идентифицирует и облегчает проведение соответствующих услуг здравоохранения, образования и сообщества. Следует отметить, что среди индивидуумов в зависимости от воздействовавшего количества алкоголя и выбора времени и модели воздействия, а также в зависимости от нынешнего и прошлого окружения каждого индивидуума, познавательные и жизненные навыки, на которые оказывают влияние внутриутробные воздействия, очень различны [25, 26]. В результате, услуги, необходимые для индивидуумов с ФАС и их семей, различаются в зависимости от того, какие части мозга затронуты, возраста или уровня зрелости человека, здоровья или функционирования семьи и общего окружения, в котором живёт человек. Таким образом, потребности в обслуживании любого конкретного индивидуума и его/её семьи могут быть весьма индивидуальными [27].

В настоящее время проблема употребления алкоголя женщинами детородного возраста представляет особую важность для общественного здравоохранения во всём мире, поскольку от этого зависит здоровье будущих поколений [1, 28]. Согласно первым исследованиям, пренатальное воздействие алкоголя наносит непоправимый вред организму человека – врождённые пожизненные психические и физические нарушения [29–32]. По данным современных исследователей, дети с ФАС/ФАСН имеют дефицит роста и веса, характерные особенности лица – лицевые аномалии [33–35]; могут иметь проблемы со слухом и зрением [36]; значительно хуже и позже других детей осваивают навыки самообслуживания [37, 38]; имеют проблемы с памятью и вниманием, гиперактивны или заторможены; испытывают большие трудности в обучении; очень слабо контролируют свои эмоции и поведение, часто недостаточно осознают последствия своих поступков [39, 40]. Такие дети требуют специальных условий обучения, медицинской помощи, постоянного психологического сопровождения и повышенного контроля со стороны родителей. Семья, воспитывающая ребёнка с ФАС, живёт в особом режиме. Возникает вторичное нарушение – социальная депривация. Этот период растягивается на десятилетия. При этом страдают также и другие дети, воспитывающиеся в этой семье. При анализе литературных данных выявлено, что на сегодняшний день существует острая необходимость создания особой лечебно-образовательной среды для семей, воспитывающих детей с особенностями психического развития – с такими диагнозами, как ФАС/ФАСН, а также синдром дефицита внимания (СДВГ), расстройство аутистического спектра (РАС), задержка психоречевого развития (ЗПРР) и другие. Показана необходимость комплексной абилитации (лечебных, педагогических, психологических и социальных мероприятий) по отношению к людям с психическими нарушениями, которая будет направлена на восстановление физических и умственных способностей в раннем детстве и адаптации к социальной среде во взрослом возрасте [41, 42].

За последние 10 лет в нашей стране создан Координационный совет по профилактике вреда здоровью от алкоголя и фетального алкогольного синдрома, и ежегодно проводятся конференции на базе Центрального НИИ организации и информатизации Министерства Здравоохранения РФ [41]. Многие члены Координационного совета ведут просветительскую и научную работу с целью популяризации идеи создания лечебно-образовательной среды для семей, воспитывающих детей с ФАС/ФАСН. Так, в 2018 г. Кудрявцевой Мариной Игоревной и Молчановой Еленой Владимировной была создана группа поддержки родителей в социальной сети Facebook [42]. Группа создана для обмена опытом, знаниями, полезной информацией в целях поддержки тех, кто сталкивается с ФАС/ФАСН, воспитывая, обучая или профессионально поддерживая детей и взрослых с таким нарушением. К сожалению, на сегодняшний день, наша команда не имеет постоянного финансирования, и большинство специалистов работает на волонтёрских началах. Это существенно замедляет ход исследований, мы не имеем возможности запустить такие важные для нас проекты, как поиск лекарственных средств для преодоления психических нарушений, возникающих у людей с диагнозом ФАС/ФАСН.

Кроме того, до сих пор не запущена программа профилактики, которую мы неоднократно представляли на международных, российских, региональных научно-практических конференциях, семинарах, симпозиумах. Своевременная профилактика в формате ознакомительных бесед и раздачи разъяснительных материалов, проведённая среди женщин детородного возраста, способна существенно снизить показатели рождаемости детей с диагнозом «алкогольный синдром у плода» и, таким образом, сократить расходы государства и общества на преодоление последствий ФАС/ФАСН [43].

В настоящее время проблема организации программ комплексной профилактики фетального алкогольного синдрома и фетального алкогольного спектра нарушений у детей представляет особую важность в общественном здравоохранении, отражает социально-экономическую целесообразность с точки зрения интересов всего общества по следующим причинам: программа профилактики ФАС нацелена на оздоровление общества в целом; большинство мероприятий по профилактике может быть организовано в групповом формате, что существенно сокращает временные и финансовые затраты по сравнению с программами реабилитации; мероприятия по профилактике носят периодический характер (более активно в период планирования беременности и вынашивания ребёнка), в то время как реабилитация требуется постоянно с момента рождения ребёнка с признаками ФАС/ФАСН [41, 42].

Программа комплексной профилактики фетального алкогольного синдрома у детей включает в себя: создание рабочей группы ФАС/ФАСН; обучение специалистов (педагогов и психологов, медицинских работников, сотрудников органов соцзащиты, волонтёров); проведение тематических мероприятий для целевой аудитории; сбор и обработку данных; разработку и внедрение программы диагностики ФАС/ФАСН.

Отправными точками для реализации проекта профилактики могут стать города: Москва, Санкт-Петербург, Иркутск, Нижний Новгород, Екатеринбург – все города, в которых уже проводились научные исследования по теме ФАС. Целевые группы проекта – женщины (до 45 лет), ученики старших классов и студенты, медицинские работники. Ожидаемые результаты проекта: создание онлайн-школы для обучения специалистов и информирования населения, запуск социально-ориентированной рекламы, повышение уровня информированности населения о последствиях употребления алкоголя в период беременности.

По мнению некоторых исследователей, существует необходимость реализовывать программы профилактики ФАС/ФАСН и абилитации по следующим направлениям: диагностика (разработка и утверждение чётких критериев) и разработка индивидуальных маршрутов развития в раннем возрасте – ранняя психо-физическая коррекция; специальные программы медицинской помощи; дошкольное и школьное развитие: физическое и психическое, в том числе и получение обязательного школьного образования по индивидуально разработанным маршрутам; школа взаимопонимания – профилактика асоциального поведения: детские, подростковые и взрослые группы, ресурсные группы для родителей; профессиональное мастерство: профориентационная диагностика, симуляционные тренинги, подготовка к поступлению в колледж/ВУЗ и дальнейшее сопровождение; система помощи в трудоустройстве; абилитационный туризм для семей; комплексная система медицинской помощи детям и взрослым с диагнозом ФАС/ФАСН; разработка и внедрение системы льгот для данной категории: медицина, пенсионное обеспечение, и т. п. Своевременно и грамотно организованная абилитация людей с ФАС/ФАСН существенно улучшит социальную ситуацию в обществе в целом, а также снизит психологическую нагрузку на каждую семью, столкнувшуюся с данной проблемой [4, 5, 27, 39, 41].

Согласно исследованию, проведённому в 2020 г., ежегодные затраты на реабилитацию (медицинское обслуживание и коррекцию нарушений) одного ребёнка с ФАС/ФАСН в России составят в среднем 385 133 руб., в то время как общая сумма затрат до достижения ребёнком совершеннолетия составит 6 932 400 руб. Исходя из оценки канадских исследователей, данные категории расходов составляют около 40 % от общего экономического эффекта [44–46]. Важно отметить, что в таких развитых странах, как США, Израиль, Канада, Голландия, уже много лет реализуются аналогичные программы профилактики и абилитации людей с ФАС/ФАСН [45]. Мы видим необходимость в привлечении внимания общества к существующей проблеме, а также проведении более глубокого экономического анализа для расчёта расходов по всем предложенным направлениям.

Таким образом, комплексный системный подход в организации профилактики ФАС/ФАСН позволит, в первую очередь, существенно снизить количество случаев рождения детей с ФАС/ФАСН. Это приведёт к экономии средств государства на медицинское обслуживание, воспитание и образование таких детей, а также повысит уровень безопасности и психологического комфорта в обществе в целом. Финансирование программ по профилактике ФАС/ФАСН является экономически эффективным и выгодным вложением для общества страны.

Благодарности

Выражаем признательность нашим коллегам: д.м.н., профессору, академику РАН, академику РАМН Владимиру Ивановичу Стародубову, к.м.н., вед.н.с., руководителю координационного совета по профилактике вреда здоровью от алкоголя и фетального алкогольного синдрома ФГБУ «ЦНИИОИЗ» Елене Алексеевне Варавиковой, членам координационного совета по профилактике вреда здоровью от алкоголя и фетального алкогольного синдрома ФГБУ «ЦНИИОИЗ» Наталье Евгеньевне Гурьяновой, Ольге Евгеньевне Семёновой и Ирине Анатольевне Крюковой за их многолетнюю поддержку и участие в исследованиях, научному сотруднику ФГБУ «ЦНИИОИЗ» Марине Игоревне Кудрявцевой, за психологическую помощь и идею создания группы поддержки семей в социальных сетях.

ЛИТЕРАТУРА

1. World Health Organization. Global status report on alcohol and health. World Health Organization 2018. URL: https://www.who.int/publications/i/item/9789241565639

2. Bertrand J, Floyd RL, Weber MK, O'Connor M, Riley EP, Johnson KA, et al. National Task Force on FAS/FAE. Fetal alcohol syndrome: Guidelines for referral and diagnosis. Atlanta: GA: Centers for Disease Control and Prevention; 2004. URL: https://www.cdc.gov/ncbddd/fasd/modules/FAS_guidelines_accessible-P.pdf

3. Balachova T, Bonner B, Chaffin M, Bard D, Isurina G, Tsvetkova L, et al. Women's alcohol consumption and risk for alcohol-exposed pregnancies in Russia. *Addiction*. 2012; 107(1): 109-111. doi: 10.1111/j.1360-0443.2011.03569.x

4. Varavikova EA, Balachova TN. Strategies to implement physician training in FAS prevention as a part of preventive care in primary health settings. *Alcohol Clin Exp Res.* 2010; 34(8): 119A.

5. Пальчик А.Б., Легонькова С.В. Фетальный алкогольный синдром: манифестация и динамика. *Обозрение психиатрии и медицинской психологии имени В.М. Бехтерева*. 2011; 3: 17-20.

6. Kosyh EA, Balachova T, Bonner B, Volkova E. Alcohol consumption by pregnant women in the Nizhny Novgorod region, Russia. *Alcohol Clin Exp Res*. 2010, 34: 111A.

7. May PA, Gossage JP. Maternal risk factors for fetal alcohol spectrum disorders: Not as simple as it might seem. *Alcohol Res Health*. 2011; 34(1): 15-26.

8. Robert M, Carceller A, Domken V, Ramos F, Dobrescu O, Simard M, et al. Physical and neurodevelopmental evaluation of children adopted from Eastern Europe. *Can J Clin Pharmacol*. 2009; 16: 432-440.

9. Skagerstrym J, Chang G, Nilsen P. Predictors of drinking during pregnancy: A systematic review. *J Womens Health*. 2011; 20(6): 901-913. doi: 10.1089/jwh.2010.2216

10. Suttie M, Foroud T, Wetherill L, Jacobson JL, Molteno CD, Meintjes EM, et al. Facial dysmorphism across the fetal alcohol spectrum. *Pediatric*s. 2013; 131. 3: e779-e788. doi: 10.1542/peds.2012-1371

11. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Kolesnikov SI. Free radical oxidation: A view of a pathophysiologist. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16(4): 16-29.

12. Darenskaya MA, Kolesnikov SI, Rychkova LR, Grebenkina LA, Kolesnikova LI. Oxidative stress and antioxidant defense parameters in different diseases: Ethnic aspects. *Free Radic Biol Med.* 2018; 120(20): 60.

13. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Labygina AV, Suturina LV, Dolgikh MI, et al. Activity of lipid peroxidation in infertile women from different populations. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2012; 154(2): 203-205.

14. Alvik A, Haldorsen T, Groholt B, Lindemann R. Alcohol consumption before and during pregnancy comparing concurrent and retrospective reports. *Alcohol Clin Exp Res*. 2006; 30(3): 510-515. doi: 10.1111/j.1530-0277.2006.00055.x

15. Burina EA, Kulieva AK, Marianian AY. The risk of fetal alcohol syndrome in pregnant women and women planning pregnancy. *Alcohol Clin Exp Res.* 2018; 42(6): 75. doi: 10.1111/acer.13833

16. Marianian A, Atalyan A, Bohora S, Darenskaya M, Grebenkina L, Kolesnikova L, et al. The effect of low alcohol consumption during pregnancy on the lipid peroxidation-antioxidant defense system of women, their alcohol-exposed infants, and growth, health, and developmental outcomes. *Birth Defects Res*. 2019; (1): 40-53. doi: 10.1002/bdr2.1582

17. Марянян А.Ю., Протопопова Н.В., Колесникова Л.И., Крупская Т.С. Алкоголь как один из факторов, влияющих на плод. Распространённость фетального алкогольного синдрома. *Сибирский медицинский журнал*. 2013; 122(7): 5-9.

18. Subramoney S, Eastman E, Adnams C, Stein DJ, Donald KA. The early developmental outcomes of prenatal alcohol exposure: A review. *Front Neurol*. 2018; (9): 1108. doi: 10.3389/fneur.2018.01108

19. May PA, Brooke LE, Gossage JP. Epidemiology of fetal alcohol syndrome in a South African Community in the Western Cape Province. *Am J Publ Health*. 2000; 90(12): 1905-1912.

20. CDC and Prevention. Saving Lives/Protecting People. Data and statistics. 2011–2018; 24/7. URL: https://www.cdc.gov/ncbddd/fasd/data.html

21. CDC. Fetal alcohol syndrome – Alaska, Arizona, Colorado, and New York, 1995–1997. 2002; (5)1: 433-435.

22. CDC. Surveillance for fetal alcohol syndrome using multiple sources – Atlanta, Georgia, 1981–1989. 1997; (4)6: 1118-1120.

23. CDC. Update: trends in fetal alcohol syndrome – United States, 1979–1993. 1995; (4)4: 249-251.

24. Cook JL, Green CR, Lilley CM, Anderson SM, Baldwin ME, Chudley AE, et al. Fetal alcohol spectrum disorder: A guideline for diagnosis across the lifespan. *CMAJ*. 2016; 188(3): 191-197. doi: 10.1503/cmaj.141593

25. CDC. Fetal alcohol syndrome – United States, 1979-1992. MMWR 1993; (42): 239-241.

26. Mattson SN, Crocker N, Tanya T. Fetal alcohol spectrum disorders: Neuropsychological and behavioral features. *Neuropsychol Review*. 2011; 21(2): 81-101. doi: 10.1007/s11065-011-9167-9

27. Mattson JT, Thorne JC, Kover ST. Relationship between task-based and parent report-based measures of attention and executive function in children with fetal alcohol spectrum disorders (FASD). *J Pediatr Neuropsychol*. 2020; 6(3): 176-188.

28. Moore EM, Glass L, Infante MA, Coles CD, Kable JA, Jones KL, et al. Cross-sectional analysis of spatial working memory development in children with histories of heavy prenatal alcohol exposure. *Alcohol Clin Exp Res.* 2021; 45(1): 215-223. doi: 10.1111/acer.14506

29. Дикке Г.Б., Ерофеева Л.В. Фетальный алкогольный синдром и спектр нарушений. *Фарматека*. 2012; (12): 26-30.

30. Jones KL, Smith DW. Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. *Lancet.* 1973; (2): 999-1001.

31. Popova S, Yaltonskaya A, Yaltonsky V, Kolpakov Y, Abrosimov I, Pervakov K, et al. What research is being done on prenatal alcohol exposure and fetal alcohol spectrum disorders in the Russian research community? *Alcohol and alcoholism (Oxford, Oxfordshire).* 2014; 49(1): 84-89. doi: 10.1093/alcalc/agt156

32. Popova S, Lange S, Probst C, Gmel G, Rehm J. Estimation of national, regional, and global prevalence of alcohol use during pregnancy and fetal alcohol syndrome: A systematic review and meta-analysis. *The Lancet Global Health.* 2017; 5(3). 290-299. doi: 10.1016/S2214-109X(17)30021-9

33. Ялтонская А.В., Ялтонский В.М., Колпаков Я.В. Потребление алкоголя во время беременности и фетальный алкогольный спектр нарушений в России: систематический обзор литературы. *Наркология*. 2014; (6): 81-90.

34. Bandoli G, Coles CD, Kable JA, Wertelecki W, Yevtushok L, Zymak-Zakutnya N, et al. Patterns of prenatal alcohol use that predict infant growth and development. *Pediatrics*. 2019; (143)2: e20182399. doi: 10.1542/peds.2018-2399

35. Hemingway SJA, Bledsoe JM, Brooks A, Davies JK, Jirikowic TM, Olson E, et al. Twin study confirms virtually identical prenatal alcohol exposures can lead to markedly different fetal alcohol spectrum disorder outcomes – fetal genetics influences fetal vulnerability. *Adv Pediatr Res.* 2018; 5(03): 23. doi: 10.24105/apr.2019.5.23

36. Vernescu RM, Adams RJ, Courage ML. Children with fetal alcohol spectrum disorder show an amblyopia-like pattern of vision deficit. *Dev Med Child Neurol*. 2012; 54: 557-562. doi: 10.1111/j.1469-8749.2012.04254.x

37. Молчанова Е.В. *Об опыте работы с детьми с ФАС*. 2016 г. URL: https://old.mednet.ru/images/stories/files/obrachenie__mednet.pdf

38. Молчанова Е.В. *Опыт усыновления ребёнка с ФАС*. 2013 г. URL: https://old.mednet.ru/images/stories/files/fas/Molchanova_fas_09_09_2013.pdf

39. Протопопова Н.В., Колесникова Л.И., Марянян А.Ю. Влияние алкоголя на плод и исход беременности. Фетальный алкогольный синдром и фетальный алкогольный спектр нарушений. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2013; 6(94): 187-192.

40. Hoyme HE, Kalberg WO, Elliott AJ, Blankenship J, Buckley D, Marais AS, et al. Updated clinical guidelines for diagnosing fetal alcohol spectrum disorders. *Pediatrics.* 2016; 138(2): e20154256. doi: 10.1542/peds.2015-4256

41. Стародубов В.И., Варавикова Е.А. URL: https://mednet.ru/mezhdunarodnaya-deyatelnost/koordinatsionnyj-sovet-fasn [Дата обращения: 09.04.2021]

42. Фетальный алкогольный синдром: группа поддержки родителей. URL: https://www.facebook.com/groups/1263627697115550/?ref=group_header

43. Marianian AYu, Molchanova EV. Social and economic effect of comprehensive prevention of fetal alcohol syndrome and fetal alcohol spectrum disorders in children: A review. *J Pharm Res Int.* 2020; 32(23): 115-123.

44. Popova S, Lange S, Burd L, Rehm J. The economic burden of fetal alcohol spectrum disorder in Canada in 2013. *Alcohol and Alcoholism*. 2016; 51(3): 367-375. doi: 10.1093/alcalc/agv117

45. Chudley AE, Conry J, Cook JL, Loock C, Rosales T, Le Blanc N. Fetal alcohol spectrum disorder: Canadian guidelines for diagnosis. *CMAJ*. 2005; 172(5): 1-21. doi: 10.1503/cmaj.1040302

46. Popova S, Lange S, Temple V, Poznyak V, Chudley AE, Burd L, et al. Profile of mothers of children with fetal alcohol spectrum disorder: A population-based study in Canada. *Int J Environ Res Publ Health*. 2020, 17(21): 7986. doi: 10.3390/ijerph17217986

REFERENCES

1. World Health Organization. Global status report on alcohol and health. World Health Organization 2018. URL: https://www.who.int/publications/i/item/9789241565639

2. Bertrand J, Floyd RL, Weber MK, O'Connor M, Riley EP, Johnson KA, et al. National Task Force on FAS/FAE. Fetal alcohol syndrome: Guidelines for referral and diagnosis. Atlanta: GA: Centers for Disease Control and Prevention; 2004. URL: https://www.cdc.gov/ncbddd/fasd/modules/FAS_guidelines_accessible-P.pdf

3. Balachova T, Bonner B, Chaffin M, Bard D, Isurina G, Tsvetkova L, et al. Women's alcohol consumption and risk for alcohol-exposed pregnancies in Russia. *Addiction*. 2012; 107(1): 109-111. doi: 10.1111/j.1360-0443.2011.03569.x

4. Varavikova EA, Balachova TN. Strategies to implement physician training in FAS prevention as a part of preventive care in primary health settings. *Alcohol Clin Exp Res.* 2010; 34(8): 119A.

5. Palchik AB, Legonkova SV. Fetal alcohol syndrome: manifestation and dynamics. *Obozrenie psihiatrii i medicinskoj psihologii imeni V.M. Bekhtereva*. 2011; 3: 17-20. (In Russ.)

6. Kosyh EA, Balachova T, Bonner B, Volkova E. Alcohol consumption by pregnant women in the Nizhny Novgorod region, Russia. *Alcohol Clin Exp Res*. 2010, 34: 111A.

7. May PA, Gossage JP. Maternal risk factors for fetal alcohol spectrum disorders: Not as simple as it might seem. *Alcohol Res Health*. 2011; 34(1): 15-26.

8. Robert M, Carceller A, Domken V, Ramos F, Dobrescu O, Simard M, et al. Physical and neurodevelopmental evaluation of children adopted from Eastern Europe. *Can J Clin Pharmacol*. 2009; 16: 432-440.

9. Skagerstrym J, Chang G, Nilsen P. Predictors of drinking during pregnancy: A systematic review. *J Womens Health*. 2011; 20(6): 901-913. doi: 10.1089/jwh.2010.2216

10. Suttie M, Foroud T, Wetherill L, Jacobson JL, Molteno CD, Meintjes EM, et al. Facial dysmorphism across the fetal alcohol spectrum. *Pediatrics*. 2013; 131. 3: e779-e788. doi: 10.1542/peds.2012-1371

11. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Kolesnikov SI. Free radical oxidation: A view of a pathophysiologist. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16(4): 16-29.

12. Darenskaya MA, Kolesnikov SI, Rychkova LR, Grebenkina LA, Kolesnikova LI. Oxidative stress and antioxidant defense parameters in different diseases: Ethnic aspects. *Free Radic Biol Med.* 2018; 120(20): 60.

13. Kolesnikova LI, Darenskaya MA, Grebenkina LA, Labygina AV, Suturina LV, Dolgikh MI, et al. Activity of lipid peroxidation in infertile women from different populations. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2012; 154(2): 203-205.

14. Alvik A, Haldorsen T, Groholt B, Lindemann R. Alcohol consumption before and during pregnancy comparing concurrent and retrospective reports. *Alcohol Clin Exp Res*. 2006; 30(3): 510-515. doi: 10.1111/j.1530-0277.2006.00055.x

15. Burina EA, Kulieva AK, Marianian AY. The risk of fetal alcohol syndrome in pregnant women and women planning pregnancy. *Alcohol Clin Exp Res.* 2018; 42(6): 75. doi: 10.1111/acer.13833

16. Marianian A, Atalyan A, Bohora S, Darenskaya M, Grebenkina L, Kolesnikova L, et al. The effect of low alcohol consumption during pregnancy on the lipid peroxidation-antioxidant defense system of women, their alcohol-exposed infants, and growth, health, and developmental outcomes. *Birth Defects Res*. 2019; (1): 40-53. doi: 10.1002/bdr2.1582

17. Marianian AY, Protopopova NV, Kolesnikova LI, Krupskaya TS. Alcohol as one of the adverse factors affecting the fetus: The prevalence of fetal alcohol syndrome. *Sibirskij medicinskij zhurnal*. 2013; 122(7): 5-9. (In Russ.)

18. Subramoney S, Eastman E, Adnams C, Stein DJ, Donald KA. The early developmental outcomes of prenatal alcohol exposure: A review. *Front Neurol*. 2018; (9): 1108. doi: 10.3389/fneur.2018.01108

19. May PA, Brooke LE, Gossage JP. Epidemiology of fetal alcohol syndrome in a South African Community in the Western Cape Province. *Am J Publ Health*. 2000; 90(12): 1905-1912.

20. CDC and Prevention. Saving Lives/Protecting People. Data and statistics. 2011–2018; 24/7. URL: https://www.cdc.gov/ncbddd/fasd/data.html

21. CDC. Fetal alcohol syndrome – Alaska, Arizona, Colorado, and New York, 1995–1997. 2002; (5)1: 433-435.

22. CDC. Surveillance for fetal alcohol syndrome using multiple sources – Atlanta, Georgia, 1981–1989. 1997; (4)6: 1118-1120.

23. CDC. Update: trends in fetal alcohol syndrome – United States, 1979–1993. 1995; (4)4: 249-251.

24. Cook JL, Green CR, Lilley CM, Anderson SM, Baldwin ME, Chudley AE, et al. Fetal alcohol spectrum disorder: A guideline for diagnosis across the lifespan. *CMAJ*. 2016; 188(3): 191-197. doi: 10.1503/cmaj.141593

25. CDC. Fetal alcohol syndrome – United States, 1979-1992. MMWR 1993; (42): 239-241.

26. Mattson SN, Crocker N, Tanya T. Fetal alcohol spectrum disorders: Neuropsychological and behavioral features. *Neuropsychol Review*. 2011; 21(2): 81-101. doi: 10.1007/s11065-011-9167-9

27. Mattson JT, Thorne JC, Kover ST. Relationship between task-based and parent report-based measures of attention and executive function in children with fetal alcohol spectrum disorders (FASD). *J Pediatr Neuropsychol*. 2020; 6(3): 176-188.

28. Moore EM, Glass L, Infante MA, Coles CD, Kable JA, Jones KL, et al. Cross-sectional analysis of spatial working memory development in children with histories of heavy prenatal alcohol exposure. *Alcohol Clin Exp Res.* 2021; 45(1): 215-223. doi: 10.1111/acer.14506

29. Dicke GB, Erofeeva LV. Fetal alcohol syndrome and spectrum of disorders. *Farmateka.* 2012; 12: 26-30. (In Russ.)

30. Jones KL, Smith DW. Recognition of the fetal alcohol syndrome in early infancy. *Lancet.* 1973; 2: 999–1001

31. Popova S, Yaltonskaya A, Yaltonsky V, Kolpakov Y, Abrosimov I, Pervakov K, et al. What research is being done on prenatal alcohol exposure and fetal alcohol spectrum disorders in the Russian research community? *Alcohol and alcoholism (Oxford, Oxfordshire).* 2014; 49(1): 84-89. doi: 10.1093/alcalc/agt156

32. Popova S, Lange S, Probst C, Gmel G, Rehm J. Estimation of national, regional, and global prevalence of alcohol use during pregnancy and fetal alcohol syndrome: A systematic review and meta-analysis. *The Lancet Global Health.* 2017; 5(3). 290-299. doi: 10.1016/S2214-109X(17)30021-9

33. Yaltonskaya AV, Yaltonsky VM, Kolpakov YaV. Alcohol consumption during pregnancy and fetal alcohol spectrum disorders in Russia: A systematic literature review. *Narkologiya.* 2014; 6: 81-90. (In Russ.)

34. Bandoli G, Coles CD, Kable JA, Wertelecki W, Yevtushok L, Zymak-Zakutnya N, et al. Patterns of prenatal alcohol use that predict infant growth and development. *Pediatrics*. 2019; (143)2: e20182399. doi: 10.1542/peds.2018-2399

35. Hemingway SJA, Bledsoe JM, Brooks A, Davies JK, Jirikowic TM, Olson E, et al. Twin study confirms virtually identical prenatal alcohol exposures can lead to markedly different fetal alcohol spectrum disorder outcomes – fetal genetics influences fetal vulnerability. *Adv Pediatr Res.* 2018; 5(03): 23. doi: 10.24105/apr.2019.5.23

36. Vernescu RM, Adams RJ, Courage ML. Children with fetal alcohol spectrum disorder show an amblyopia-like pattern of vision deficit. *Dev Med Child Neurol.* 2012; 54: 557-562. doi: 10.1111/j.1469-8749.2012.04254.x

37. Molchanova EV. *On the experience of working with children with FAS*. 2016. URL: https://old.mednet.ru/images/stories/files/obrachenie__mednet.pdf. (In Russ.)

38. Molchanova EV. *Experience of adopting a child with FAS.* 2013. URL: https://old.mednet.ru/images/stories/files/fas/Molchanova_fas_09_09_2013.pdf. (In Russ.)

39. Protopopova NV, Kolesnikova LI, Marianian AYu. Influence of alcohol on the fetus and pregnancy outcome. Fetal alcohol syndrome and fetal alcohol spectrum of disorders. *Byulleten' VSNC SO RAMN.* 2013; 6(94): 187-192. (In Russ.)

40. Hoyme HE, Kalberg WO, Elliott AJ, Blankenship J, Buckley D, Marais AS, et al. Updated clinical guidelines for diagnosing fetal alcohol spectrum disorders. *Pediatrics.* 2016; 138(2): e20154256. doi: 10.1542/peds.2015-4256

41. Starodubov VI, Varavikova EA. URL: https://mednet.ru/mezhdunarodnaya-deyatelnost/koordinatsionnyj-sovet-fasn. (In Russ.)

42. Fetal alcohol syndrome: parent support group. URL: https://www.facebook.com/groups/1263627697115550/?ref=group_header. (In Russ.)

43. Marianian AYu, Molchanova EV. Social and economic effect of comprehensive prevention of fetal alcohol syndrome and fetal alcohol spectrum disorders in children: A review. *J Pharm Res Int*. 2020; 32(23): 115-123.

44. Popova S, Lange S, Burd L, Rehm J. The economic burden of fetal alcohol spectrum disorder in Canada in 2013. *Alcohol and Alcoholism*. 2016; 51(3): 367-375. doi: 10.1093/alcalc/agv117

45. Chudley AE, Conry J, Cook JL, Loock C, Rosales T, Le Blanc N. Fetal alcohol spectrum disorder: Canadian guidelines for diagnosis. *CMAJ*. 2005; 172(5): 1-21. doi: 10.1503/cmaj.1040302

46. Popova S, Lange S, Temple V, Poznyak V, Chudley AE, Burd L, et al. Profile of mothers of children with fetal alcohol spectrum disorder: A population-based study in Canada. *Int J Environ Res Publ Health*. 2020, 17(21): 7986. doi: 10.3390/ijerph17217986

Сведения об авторах

Марянян Анаит Юрьевна – доктор медицинских наук, акушер-гинеколог, руководитель лаборатории социально значимых проблем репродуктологии, ведущий научный сотрудник, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; доцент кафедры акушерства и гинекологии, доцент кафедры акушерства и гинекологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; член координационного совета по профилактике вреда здоровью от алкоголя и фетального алкогольного синдрома, ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения» Минздрава России, e-mail: anait_24@mail.ru, iphr@sbamsr.irk.ru, https://orcid.org/0000-0002-9544-2172

Молчанова Елена Владимировна – специалист по коррекционно-логопедической работе с детьми с речевыми нарушениями, логопед-дефектолог; член координационного совета по профилактике вреда здоровью от алкоголя и фетального алкогольного синдрома, ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения» Минздрава России; координатор проекта помощи семьям, воспитывающим детей с ФАС; e-mail: e-molchanova@ya.ru, https://orcid.org/0000-0001-9504-9517

Акудович Наталья Витальевна – кандидат медицинских наук, акушер-гинеколог, лаборант-исследователь, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»; ассистент кафедры акушерства и гинекологии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: meloman00@bk.ru, iphr@sbamsr.irk.ru, https://orcid.org/0000-0003-2790-6681

Калькова Анастасия Николаевна – лаборант-исследователь, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, https://orcid.org/0000-0002-7626-020X

Information about the authors

Anait Yu. Marianian – Dr. Sc. (Med.), Head of the Laboratory of Socially Important Problems of Reproductology, Leading Research Officer, Obstetrician Gynecologist, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; Associate Professor at the Department of Obstetrics and Gynecology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; Member of the Coordinating Center for Health Harm Prevention from Alcohol and Fetal Alcohol Syndrome, Central Scientific Research Institute in Organization and Informatization of Health Care, e-mail: anait_24@mail.ru, iphr@sbamsr.irk.ru; https://orcid.org/0000-0002-9544-2172

Elena V. Molchanova – Speech Therapist, Member of the Coordinating Center for Health Harm Prevention from Alcohol and Fetal Alcohol Syndrome, Central Scientific Research Institute in Organization and Informatization of Health Care; Project coordinator at the project "Families, raising children with FAS", e-mail: e-molchanova@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0001-9504-9517

Natalya V. Akudovich – Cand. Sc. (Med.), Obstetrician Gynecologist, Laboratory Research Assistant at the Laboratory of Socially Important Problems of Reproductology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems; Teaching Assistant at the Department of Obstetrics and Gynecology, Irkutsk State Medical University, e-mail: meloman00@bk.ru, iphr@sbamsr.irk.ru, https://orcid.org/0000-0003-2790-6681

Anastasia N. Kalkova – Research Assistant at the Laboratory of Socially Important Problems of Reproductology, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru, https://orcid.org/0000-0002-7626-020X

Статья получена: 06.04.2021. Статья принята: 06.05.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 06.04.2021. Accepted: 06.05.2021. Published: 15.06.2021.

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.17

Деятельность врачебной комиссии при диспансеризации спортсменов

Власова И.А. [1], **Губин Д.Г.** [2]

[1] Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664079, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия); [2] ГБУЗ «Иркутский областной врачебно-физкультурный диспансер "Здоровье"» (664003, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 12, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Власова Ирина Андреевна, e-mail: irk_via@mail.ru

Резюме

Обоснование. *Сохранение здоровья населения, в том числе лиц, занимающихся спортом, является одним из приоритетных направлений государственной политики Российской Федерации. В соответствии с существующей законодательно-нормативной базой, в учреждениях здравоохранения реализуется система контроля качества и безопасности медицинской помощи, что касается и врачебно-физкультурной службы. Одним из уровней функционирования такой системы является деятельность врачебной комиссии. Интенсивные тренировочные и соревновательные нагрузки предъявляют организму повышенные требования и считаются фактором риска относительно здоровья спортсменов, что служит основанием для их углублённого медицинского обследования и диспансерного наблюдения. Поэтому первостепенной задачей врачебной комиссии при диспансеризации спортсменов является вынесение экспертного заключения в сложных случаях по поводу тренировочной и соревновательной деятельности лиц, имеющих отклонения в состоянии здоровья.*

Цель исследования: *изучение деятельности врачебной комиссии при диспансеризации спортсменов в условиях врачебно-физкультурной службы на основе научного анализа результатов её работы за два года.*

Материалы и методы. *Изучалась медицинская документация спортсменов, прошедших врачебную комиссию за два года (2018–2019 гг.; n = 82 и n = 81 соответственно). Анализировался характер принятых решений и структура их причин с использованием критерия хи-квадрат Пирсона с поправками.*

Результаты. *Показана доля положительных и отрицательных решений комиссии, а также временных отстранений от занятий спортом по годам, их статистические зависимости и сила связи между результатами. Выявлена стабильность отрицательных заключений комиссии, а также структуры их причин ($p > 0,05$). При этом на втором году наблюдений чаще временно отстраняли от спорта по поводу заболеваний опорно-двигательного аппарата и реже – в результате полученных травм ($p < 0,05$).*

Заключение. *Выявлены основные закономерности распределения и формирования экспертных решений врачебной комиссии по изучаемым годам. Отмечена необходимость её деятельности для врачебно-физкультурной службы при диспансеризации спортсменов, а также указаны факторы, препятствующие этому.*

Ключевые слова: *спорт, диспансеризация, медицинская помощь, качество, безопасность, врачебная комиссия, врачебно-физкультурная служба*

Для цитирования: Власова И.А., Губин Д.Г. Деятельность врачебной комиссии при диспансеризации спортсменов. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 149-153. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.17.

Activities of the Medical Commission during the Prophylactic Medical Examination of Athletes

Vlasova I.A. [1], **Gubin D.G.**[2]

[1] Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education – Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (664079, Irkutsk, Yubileyniy, 100, Russian Federation); [2]Irkutsk Regional Medical and Physical Education Clinic "Zdorovye" (664003, Irkutsk, Karla Marksa str. 12, Russian Federation)

Corresponding author: Irina A. Vlasova, e-mail: irk_via@mail.ru

Abstract

Background. *Preserving the health of the population, including those involved in sports, is one of the priority directions of the state policy of the Russian Federation. In accordance with the existing legislative and regulatory framework, a system for monitoring the quality and safety of medical care is being implemented in health care institutions, which also applies to medical and physical training services. One of the levels of functioning of such a system is the activity of the medical commission. Intensive training and competitive loads make increased demands on the body and are considered a risk factor for the health of athletes, which serves as the basis for their in-depth medical examination and dispensary observation. Therefore, the primary task of the medical commission during the prophylactic medical examination of athletes is to issue an expert opinion in difficult cases regarding the training and competitive activity of persons with deviations in the state of health.*

The objective of the research *was to study of the activities of the medical commission during the prophylactic medical examination of athletes in the conditions of a medical and physical service on the basis of a scientific analysis of the results of its work for two years.*

Materials and methods. *We studied the medical documentation of athletes who passed the medical commission for two years (2018–2019; n = 82 and n = 81, respectively). The nature of the decisions made and the structure of their reasons were analyzed using the Pearson chi-square test with amendments.*

Results. *The share of positive and negative decisions of the commission, as well as temporary suspension from sports by years, their statistical dependences and the strength of the connection between the results are shown. The stability of the negative conclusions of the commission, as well as the structure of their reasons, was revealed ($p > 0.05$). At the same time, in the second year of observation, they were more often temporarily suspended from sports due to musculoskeletal system diseases and less often as a result of injuries ($p < 0.05$).*

Conclusion. *The main regularities of the distribution and formation of expert decisions of the medical commission for the years under study were revealed. The necessity of its activity for the medical and physical training service during the medical examination of athletes is noted, as well as the factors that prevent this are indicated.*

Key words*: sports, medical examination, medical care, quality, safety, medical commission, medical and physical education service*

For citation: Vlasova I.A., Gubin D.G. Activities of the Medical Commission during the Prophylactic Medical Examination of Athletes. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 149-153. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.17.

ОБОСНОВАНИЕ

В соответствии с Федеральным законом РФ от 21.11.2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан РФ» одним из ведущих направлений деятельности организаторов здравоохранения является реализация системы контроля качества и безопасности медицинской помощи. Внутренний контроль качества обязана проводить каждая медицинская организация [1, 2, 3]. В данном контексте не являются исключением и учреждения врачебно-физкультурной службы. Одним из важных звеньев системы качества медицинской помощи является продуктивная деятельность такого коллегиального органа, как врачебная комиссия (ВК), организация и работа которой регламентируются приказами Минздравсоцразвития от 05.05.2012 г. № 502н «Об утверждении Порядка создания и деятельности врачебной комиссии медицинской организации» и Минздрава РФ от 10.05.2017 г. № 203 «Об утверждении критериев оценки качества медицинской помощи». Однако применение существующих нормативных документов не учитывает специфики врачебно-физкультурной службы, что требует их адаптации к особенностям данного рода деятельности.

Первостепенным фактором в процессе проведения углублённого медицинского обследования (УМО) лиц, занимающихся физической культурой и спортом, при принятии решения относительно их допуска к заявленному виду тренировочной и соревновательной деятельности выступает состояние здоровья, поскольку интенсивные мышечные нагрузки предъявляют организму человека повышенные требования и являются фактором риска относительно безопасности жизни спортсменов. Поэтому при создании ВК в условиях врачебно-физкультурной службы, её ведущей функцией считается вынесение экспертного заключения в сложных или проблемных случаях по поводу тренировочной и соревновательной деятельности лиц, имеющих различные отклонения в состоянии здоровья, рекомендаций по лечению, реабилитации, а также наиболее оптимальным видам физической активности с целью профилактики возникновения ситуаций, угрожающих безопасности жизни атлетов.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение деятельности врачебной комиссии при диспансеризации спортсменов в условиях врачебно-физкультурной службы на основе научного анализа результатов её работы за два года.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом для изучения служили данные УМО представителей циклических, сложнокоординационных видов спорта, единоборств и спортивных игр, зафиксированные в медицинской документации (врачебно-контрольная карта физкультурника и спортсмена ф. 061/у и разработанный для врачебно-физкультурной службы протокол ВК, содержащий установленный диагноз с шифром МКБ-10, заключение врачебной комиссии о допуске, рекомендации относительно лечения или реабилитации при необходимости), поданной специалистами на рассмотрение ВК в условиях ГБУЗ «Иркутский областной врачебно-физкультурный диспансер “Здоровье”» (ОВФД) за 2018–2019 гг. Экспертиза представленных сведений проводилась с учётом приказа Минздрава РФ от 1 марта 2016 г. № 134н. «О порядке организации оказания медицинской помощи лицам, занимающимся физической культурой и спортом (в том числе при подготовке и проведении физкультурных мероприятий и спортивных мероприятий), включая порядок медицинского осмотра лиц, желающих пройти спортивную подготовку, заниматься физической культурой и спортом в организациях и (или) выполнить нормативы испытаний (тестов) комплекса «Готов к труду и обороне»», а также методических рекомендаций «Медицинские противопоказания к учебно-тренировочному процессу и участию в спортивных соревнованиях» [4]. По результатам экспертных решений врачебной комиссии формировались три изучаемые группы: 1-я – лица, допущенные к спортивной деятельности (Доп.); 2-я – не допущенные (Н/доп.); 3-я – временно не допущенные (Вн/доп.). Статистический анализ осуществлялся на ресурсе https://medstatistic.ru с использованием критерия хи-квадрат (χ^2) Пирсона. Рассчитывались поправки Йейтса, на правдоподобие, точный критерий Фишера (двусторонний), а также проводилась оценка силы связи между полученными результатами согласно рекомендациям L.M. Rea, R.A. Parker [5] с помощью критерия φ, коэффициента сопряжённости Пирсона (C) и нормированного значения коэффициента Пирсона (C'). За критическое значение уровня статистической значимости (p) принималась величина 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На базе ОВФД в 2018 г. углублённое медицинское обследование прошли 32 069 спортсменов, в 2019 г. – 38 168 человек. На рассмотрение врачебной комиссии в 2018 г. представлено 82 медицинских дела и в 2019 г. – 81, что составило 0,26 % и 0,21 % соответственно

Таблица 1

Распределение спортсменов в зависимости от экспертного решения врачебной комиссии, n (%)

Table 1

Distribution of athletes depending on the expert decision of the medical commission, n (%)

Группа	2018 г. (*n* = 82)	2019 г. (*n* = 81)	χ^2
1-я (Доп.)	37 (45,1)	23 (28,4)	1–2; 0,888; *p* = 0,346 (> 0,05)
2-я (Н/доп.)	33 (40,2)	29 (35,8)	1–3; 10,235; *p* = 0,002 (< 0,01)
3-я (Вн/доп.)	12 (14,6)	29 (35,8)	2—3; 5,758; *p* = 0,017 (< 0,05)

Таблица 2

Критерии оценки значимости различий и силы связи решений врачебной комиссии между группами спортсменов

Table 2

Criteria for assessing the significance of differences and the strength of the connection between the decisions of the medical commission between groups of athletes

Критерий	Значение критерия и уровень значимости (1-я и 3-я группы)	Значение критерия и уровень значимости (2-я и 3-я группы)
χ^2 с поправкой Йейтса	8,979; *p* = 0,003 (< 0,01)	4,825; *p* = 0,029 (< 0,05)
χ^2 с поправкой на правдоподобие	10,474; *p* = 0,002(< 0,01)	5,879; *p* = 0,016 (< 0,05)
Точный критерий Фишера (двусторонний)	0,00219; *p* < 0,005	0,02509; *p* < 0,005
	Сила связи	
Критерий φ	0,318; средняя	0,236; средняя
Коэффициент сопряжённости Пирсона (C)	0,303; средняя	0,230; средняя
Нормированное значение коэффициента Пирсона (C')	0,429; относительно сильная	0,325; средняя

и является благоприятным признаком относительно безопасности лиц, занимающихся спортом, поскольку большая часть атлетов не имели противопоказаний к тренировочной и соревновательной деятельности. Распределение спортсменов по изучаемым группам представлено в таблице 1.

Из таблицы 1 видно, что в 2019 г. относительно 2018 г. произошло перераспределение количественных показателей при снижении числа положительных решений и недопусков к спорту в сторону увеличения заключений о временном отстранении от тренировочной и соревновательной деятельности. Статистический анализ в целом показал значимую связь между результатами в группах относительно принятых решений врачебной комиссией ($\chi^2 = 10{,}568$; $p = 0{,}006$). В то же время результаты экспертиз ВК между группами не носили однозначного характера. Так, по годам стабильно на одном уровне находилось число решений о допуске и не допуске к спорту. Однако статистически значимо увеличилось число лиц, временно отстранённых от тренировочной и соревновательной деятельности. Причём сила связи или величина эффекта (effect size) по принятым решениям между 1-й и 3-й группами была более выраженной, чем у 2-й и 3-й групп (табл. 2).

Самой благополучной можно назвать первую группу за счёт положительного характера решений врачебной комиссии относительно допуска к тренировочной и соревновательной деятельности, несмотря на то, что некоторые из них могут содержать рекомендации ограничительного свойства и индивидуальные схемы медицинского наблюдения с периодическими дополнительными или контрольными обследованиями. В отдельных случаях рассматривались варианты допуска пациентов к тренировочной деятельности без участия в соревнованиях.

Наиболее сложной как с медицинских, так и психологических позиций, является вторая группа, когда в соответствии с существующими противопоказаниями необходимо принять отрицательное решение о допуске к тренировочной и соревновательной деятельности. Такое заключение, как правило, рассматривается после изучения с особой скрупулёзностью всех результатов обследований и учётом рисков относительно здоровья пациента, с которым проводится соответствующая беседа или с его официальными представителями. Однако при этом в большинстве случаев со стороны спортсмена и его официальных представителей, а также тренерского состава наблюдается неприятие отрицательного решения ВК, что нередко сопровождается усилением всеми способами давления сначала персонально на специалиста по профилю проблемы и затем на врачебную комиссию. Данная ситуация усугубляется противоречивостью отдельных позиций по медицинскому обеспечению тренировочной и соревновательной деятельности в документах министерства здравоохранения и спорта [6], что может приводить к двоякости их трактовки. Поэтому тщательное проведение экспертизы медицинских документов различными специалистами, входящими в состав врачебной комиссии, и принятие именно коллегиального решения является целесообразной процедурой. Тем более, что в ряде случаев пациентам в медицинских учреждениях выдаются справки с рекомендациями относительно занятий спортом, не соответствующими существующим противопоказаниям.

Статистический анализ структуры причин отрицательных заключений врачебной комиссии, за два года показал их стабильность и однородность, несмотря на независимость изучаемых данных спортсменов, прошедших углублённое медицинское обследование (табл. 3).

Таблица 3

Структура причин отрицательных решений врачебной комиссии, n (%)

Table 3

The structure of the causes of negative decisions of the medical commission, n (%)

Класс по МКБ-10	2018 г. (*n* =33)	2019 г. (*n* = 29)
II. Новообразования	–	1 (3,4)
III. Болезни крови	2 (6,1)	1 (3,4)
IV. Болезни эндокринной системы	3 (9,0)	3 (10,3)
VI. Болезни нервной системы	4 (12,1)	6 (21,0)
VII. Болезни глаза	15 (45,5)	12 (41,3)
VIII. Болезни уха	2 (6,1)	1 (3,4)
IX. Болезни системы кровообращения	1 (3,0)	–
XIII. Болезни костно-мышечной системы	5 (15,2)	5 (17,2)
XIV. Болезни мочеполовой системы	1 (3,0)	–
$\chi^2 = 0{,}879$; $p = 0{,}645$ (> 0,05)		

Как следует из представленных табличных данных, наибольшая доля отстранений от заявленного вида спорта приходится на болезни глаза и его придаточного аппарата, в частности на нарушения рефракции и аккомодации (H52), когда даже их небольшая степень является противопоказанием, например, к боксу. Следующую категорию отстранений от спорта составляют болезни костно-мышечной системы и соединительной ткани, в частности сколиоз (M41) и особенно высоких степеней. Далее идут болезни нервной системы, включающие эпилепсию (G40), последствия черепно-мозговых травм, изменения головного мозга при магнитно-резонансной томографии (МРТ) [6]. Развитие такого современного и эффективного метода лучевой диагностики, как МРТ существенно дополняет картину результатов дополнительного обследования атлетов, особенно ударных видов спорта. Однако в настоящее время отсутствуют чёткие критерии допуска к ним по МРТ-изменениям, что затрудняет экспертную оценку состояния здоровья и особенно при отсутствии клинических проявлений. И, наконец, болезни эндокринной системы, сахарный диабет 1-го типа (E10). В каждом случае при составлении протокола врачебной комиссии формулируются обязательные рекомендации по адекватной состоянию здоровья пациента двигательной активности.

В третью группу вошли спортсмены, временно не допущенные к спорту на период лечения и реабилитации после заболеваний или травм опорно-двигательного аппарата (ОДА), а также лица, которым требовались дополнительные обследования с целью уточнения диагноза с последующим вынесением заключения относительно тренировочной и соревновательной деятельности (табл. 4).

Таблица 4

Структура причин решений врачебной комиссии в третьей группе, n (%)

Table 4

The structure of the reasons for the decisions of the medical commission in the third group, n (%)

Класс по МКБ-10	2018 г. (*n* = 12)	2019 г. (*n* = 29)
XIII. Болезни костно-мышечной системы	–	10 (34,5)
XIX. Травмы ОДА	7 (58,3)	8 (27,6)
XXI. Факторы, влияющие на состояние здоровья населения и обращения в учреждения здравоохранения	5 (41,7)	11 (37,9)
$\chi^2 = 6{,}362$; $p = 0{,}042$ (< 0,05)		

Таблица 4 демонстрирует тот факт, что в целом на фоне увеличения числа решений врачебной комиссии о временном отстранении от тренировочной и соревновательной деятельности в 2019 г. относительно 2018 г. значимо превалировали причины, связанные с болезнями костно-мышечной системы (M93), но уменьшилось число заключений по поводу травм опорно-двигательного аппарата. Необходимость в дополнительных обследованиях практически находилась на стабильном уровне (Z00). Для уточнения полученных результатов проведён статистический анализ по классам причин в данной группе (табл. 5).

Из представленных данных видно, что в 2019 г. по сравнению с 2018 г. статистически значимо и с достаточно сильной величиной effect size показан всплеск временных отстранений от спорта по поводу заболеваний опорно-двигательного аппарата (M93), что стало основанием для изучения причин выявленного феномена, составления не только программы лечения и реабилитации, а также

Таблица 5

Критерии оценки значимости различий и силы связи решений врачебной комиссии между классами причин временных отстранений от спорта

Table 5

Criteria for assessing the significance of differences and the strength of the connection between the decisions of the medical commission between the classes of reasons for temporary suspension from sports

Критерий	Значение критерия и уровень значимости (XIII и XIX классы)	Значение критерия и уровень значимости (XIX и XXI классы)
χ^2	6,481; $p = 0{,}011$(< 0,05)	0,776; $p = 0{,}379$ (> 0,05)
χ^2 с поправкой Йейтса	4,373; $p = 0{,}037$ (< 0,05)	0,262; $p = 0{,}609$ (> 0,05)
χ^2 с поправкой на правдоподобие	$p = 1{,}000$	0,778; $p = 0{,}378$ (> 0,05)
Точный критерий Фишера (двусторонний)	0,02019; $p < 0{,}05$	0,47255; $p > 0{,}05$
	Сила связи	
Критерий φ	0,509; относительно сильная	0,158; слабая
Коэффициент сопряжённости Пирсона (C)	0,454; относительно сильная	0,156; слабая
Нормированное значение коэффициента Пирсона (C')	0,642; сильная	0,221; средняя

анализа и коррекции тренировочного процесса, как возможного источника риска возникших патологических состояний. В то же время решения врачебной комиссии об отстранении от тренировочной и соревновательной деятельности на период восстановления после травм выносились реже в 2019 г., чем в 2018 г., что свидетельствовало о реализации в рамках подготовительного процесса мер, предупреждающих спортивный травматизм. На стабильном уровне находилась ситуация и с необходимостью дополнительных обследований спортсменов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённое исследование показало, что подавляющее большинство спортсменов, прошедших углублённое медицинское обследование в 2018–2019 гг. и состоящих на диспансерном наблюдении в ОВФД, не имели противопоказаний к тренировочной и соревновательной деятельности. Доля проблемных случаев, требующих комиссионного рассмотрения, находилась практически на постоянном уровне в изучаемые периоды времени, что, очевидно, отражает общую тенденцию в популяции спортсменов. Стабильными оставались как частота отрицательных решений врачебной комиссии, так и их причин. Причём преобладание в структуре последних нарушений рефракции и аккомодации глаз может свидетельствовать о типичности данной ситуации. Перераспределение на втором изучаемом году частот заключений ВК в сторону уменьшения положительных решений и увеличения временных отстранений от тренировочной и соревновательной деятельности, связано с допуском к спорту лиц ещё на предкомиссионном уровне, при выполнении ими сделанных ранее рекомендаций в первом случае и увеличения внимания к заболеваниям опорно-двигательного аппарата во втором случае. И, наконец, положительным фактом являлось отсутствие роста спортивного травматизма в процессе подготовки атлетов.

Таким образом, врачебная комиссия в условиях врачебно-физкультурной службы является научно-обоснованным и необходимым инструментом повышения качества и безопасности медицинского обеспечения спорта. Коллегиальное рассмотрение сложных и проблемных случаев, а также принятие экспертного решения способствуют не только разработке индивидуальных рекомендаций по лечению, реабилитации и двигательной активности, но и снижению внешнего давления на специалистов, обусловленное как отдельными противоречиями в официальных документах, так их отставанием от развития диагностических методов. Поэтому в целом совершенствование законодательно-нормативной базы необходимо считать важным условием в деятельности врачебно-физкультурной службы.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гайдаров Г.М., Алексеева Н.Ю., Сафонова Н.Г., Маевская И.В. Опыт организации внутреннего контроля качества медицинской помощи (на примере факультетских клиник ИГМУ). *Acta biomedica scientifica*. 2017; 2(3): 63-69. doi: 10.12737/article_59f035fc5ccd07.84317377

2. Пивень Д.В., Кицул И.С., Иванов И.В. Новые задачи и направления работы врачебной комиссии в системе обеспечения и контроля качества и безопасности медицинской деятельности. *Менеджер здравоохранения*. 2017; 2: 6-13.

3. Пивень Д.В., Кицул И.С., Иванов И.В. Требования к внутреннему контролю качества и безопасности медицинской деятельности по приказу Минздрава России от 07.06.2019 г. № 381н: как обеспечить координацию работы службы по внутреннему контролю и врачебной комиссии. *Менеджер здравоохранения*. 2019; 10: 7-11.

4. Макарова Г.А., Мирошникова Ю.В., Дидур М.Д., Парастаев С.А., Самойлов А.С. Медицинские противопоказания к учебно-тренировочному процессу и участию в спортивных соревнованиях: Методические рекомендации. 2014: 52 с.

5. Rea LM, Parker RA. Designing and conducting survey research: A comprehensive guide. (Jossey Bass Public Administration Series); 2005: 283 p.

6. Власова И.А., Губин Д.Г. К вопросу медицинского обеспечения занятий боксом. *Лечебная физкультура и спортивная медицина*. 2019; 4(154): 35-39.

REFERENCES

1. Gaidarov GM, Alekseeva NY, Safonova NG, Mayevskaya IV. Experience in organizing internal quality control of medical care (using the example of faculty clinics of IGMU). *Acta biomedica scientifica*. 2017; 2(3): 63-69. (In Russ.). doi: 10.12737/article_59f035fc5ccd07.84317377

2. Piven DV, Kitsul IS, Ivanov IV. New tasks and directions of the work of the medical commission in the system of ensuring and monitoring the quality and safety of medical activities. *Manager of Health Care*. 2017; 2: 6-13. (In Russ.)

3. Piven DV, Kitsul IS, Ivanov IV. Requirements for internal control of quality and safety of medical activities by order of the Ministry of Health of Russia N 381n dated 07.06.2019: how to ensure coordination of the work of the internal control service and the medical commission. *Manager of Health Care*. 2019; 10: 7-11. (In Russ.)

4. Makarova GA, Miroshnikova YuV, Didur MD, Parastaev SA, Samolov AS. *Medical contraindications to the educational and training process and participation in sports competitions: Methodological recommendations.* 2014: 52 p. (In Russ.)

5. Rea LM, Parker RA. Designing and conducting survey research: A comprehensive guide. (Jossey Bass Public Administration Series); 2005: 283 p.

6. Vlasova IA, Gubin DG. On the issue of medical support for boxing classes. *Exercise therapy and Sports Medicine*. 2019; 4(154): 35-39. (In Russ.)

Сведения об авторах

Власова Ирина Андреевна – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры медицинской реабилитации, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, e-mail: irk_via@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-0455-7581

Губин Дмитрий Георгиевич – главный врач, ГБУЗ «Иркутский областной врачебно-физкультурный диспансер "Здоровье"», e-mail: ovfd@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7698-5008

Information about authors

Irina A. Vlasova – Cand. Sc, (Med.), Docent, Associate Professor at the Department of Medical Rehabilitation, Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education – Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, e-mail: irk_via@mail.ru; ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0455-7581

Dmitry G. Gubin – Chief Physician, Irkutsk Regional Medical and Physical Education Clinic "Zdorovye", e-mail: ovfd@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-7698-5008

Статья получена: 22.01.2021. Статья принята: 21.04.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 22.01.2021. Accepted: 21.04.2021. Published: 15.06.2021.

ТРАВМАТОЛОГИЯ
TRAUMATOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.18

Анализ степени вовлечённости мышц нижних конечностей в патологический процесс у подростков с идиопатическим сколиозом

Щурова Е.Н., Сайфутдинов М.С., Долганова Т.И., Ахмедова М.А., Горбач А.П.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России (640014, г. Курган, ул. М. Ульяновой, 6, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Щурова Елена Николаевна, e-mail: elena.shurova@mail.ru

Резюме

Обоснование. *Вопрос о влиянии на функциональное состояние мышц нижних конечностей подросткового идиопатического сколиоза остаётся недостаточно освещённым.*

Цель. *Анализ степени вовлечённости мышц нижних конечностей в патологический процесс у подростков с идиопатическим сколиозом.*

Методы. *Выполнен сравнительный анализ результатов обследования 209 подростков: основная группа – 25 подростков с идиопатическим сколиозом, контрольная группа – 170 здоровых подростков, группа сравнения – 14 подростков с врождённым сколиозом. Оценка моментов силы мышц нижних конечностей была произведена с помощью динамометрических стендов. Методом глобальной и стимуляционной электронейромиографии регистрировали электрофизиологические характеристики мышц нижних конечностей.*

Результаты. *У подростков с идиопатическим и врождённым сколиозом снижение амплитуды произвольной ЭМГ мышц бедра сопровождается падением моментов силы относительно значений контрольной группы. Для мышц голени характерно сохранение величин моментов силы на уровне здоровых испытуемых в условиях сниженной произвольной ЭМГ высокой частоты, что указывает на поддержание необходимого уровня мышечного сокращения за счёт рекрутирования большего числа двигательных единиц, состоящих из меньшего числа мышечных волокон. Перестройка двигательных единиц не сопровождается атрофией элементов нейромоторного аппарата, на что указывает сохранность амплитуды М-ответов мышц-индикаторов и значений скорости распространения возбуждения по моторным волокнам. При идиопатическом сколиозе отсутствуют статистически значимые корреляционные связи между величиной угла деформации позвоночника с одной стороны и значениями асимметрии силовых и активационных характеристик мышц нижних конечностей.*

Заключение. *У подростков с идиопатическим сколиозом снижена функция мышц бедра, и отсутствует взаимосвязь между величиной деформации позвоночника и значениями асимметрии силовых и активационных характеристик мышц нижних конечностей. Аналогичный характер изменений функции мышц у подростков с идиопатическим и врождённым сколиозом может свидетельствовать о том, что причиной наблюдаемых изменений является не этиология заболевания, а недостаточный уровень моторной активности.*

Ключевые слова: *подростковый возраст, нижние конечности, сила мышц, биоэлектрическая активность мышц, деформации позвоночника, идиопатический сколиоз, врождённый сколиоз*

Для цитирования: Щурова Е.Н., Сайфутдинов М.С., Долганова Т.И., Ахмедова М.А., Горбач А.П. Анализ степени вовлечённости мышц нижних конечностей в патологический процесс у подростков с идиопатическим сколиозом. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 154-165. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.18.

Analysis of the Degree of Involvement of the Lower Limb Muscles in the Pathological Process in Adolescents with Idiopathic Scoliosis

Shchurova E.N., Saifutdinov M.S., Dolganova T.I., Akhmedova M.A., Gorbach A.P.

National Ilizarov Medical Research Centre for Traumatology and Orthopaedics (M. Ulianova str. 6, Kurgan 640014, Russian Federation)

Corresponding author: Elena N. Shchurova, e-mail: elena.shurova@mail.ru

Abstract

Background. *The problem of the effect of adolescent idiopathic scoliosis on the functional condition of the lower limb muscles is still highlighted insufficiently.*

Aim. *Analysis of the degree of involvement of the lower limb muscles in the pathological process in adolescents with idiopathic scoliosis.*

Methods. *A comparative analysis has been made on the results of examination of 209 adolescents: 25 adolescents with idiopathic scoliosis; 170 normal adolescents; 14 adolescents with congenital scoliosis. The moments of force of the lower limb muscles were evaluated using dynamometric stands. Electrophysiological characteristics of the lower limb muscles were registered by the method of global and stimulation electroneuromyography.*

Results. *The decrease in the amplitude of voluntary EMG of the femoral muscles in adolescents with idiopathic and congenital scoliosis is accompanied by dropping the moments of force relative to the values of the control group. The leg muscles are characterized by the preservation of the values of force at the level of normal test subjects under the conditions of the reduced voluntary EMG of high frequency. The amplitude of the M-responses of the indicator muscles and the values of the excitation propagation velocity along the motor fibers were also preserved. There are no statistically significant correlations between the amount of the spine deformity, on the one hand, and the values of asymmetry of the characteristics of the muscles in adolescents with idiopathic scoliosis.*

Conclusion. *In adolescents with idiopathic scoliosis the function of femoral muscles is decreased, and there is no relationship between the amount of the spine deformity and the values of asymmetry of the characteristics of the lower limb muscles. The similar character of muscle function changes in adolescents with idiopathic and congenital scoliosis can testify that the cause of the observed changes is not the disease etiology, but the insufficient level of motor activity.*

Key words: *adolescence, lower limbs, muscle strength, bioelectric activity of muscles, spinal deformities, idiopathic scoliosis, congenital scoliosis*

For citation: Shchurova E.N., Saifutdinov M.S., Dolganova T.I., Akhmedova M.A., Gorbach A.P. Analysis of the Degree of Involvement of the Lower Limb Muscles in the Pathological Process in Adolescents with Idiopathic Scoliosis. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 154-165. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.18.

ОБОСНОВАНИЕ

Идиопатический сколиоз – это трёхмерная деформация позвоночника неизвестной этиологии, характеризующаяся боковым отклонением во фронтальной плоскости, осевым вращением в горизонтальной плоскости и аномальным сагиттальным искривлением позвоночника [1, 2]. Подростковый идиопатический сколиоз (с углом Кобба более 10°) встречается в общей популяции населения различных регионов мира в достаточно широком диапазоне – от 0,93 до 12 % [1, 3].

Помимо того, что идиопатический сколиоз характеризуется трёхмерными изменениями в позвоночнике, он имеет отклонения в позиционировании и биомеханике других сегментов (плеч, лопаток, таза), которые связаны с развитием деформации позвоночника [4, 5]. Данные факты могут свидетельствовать о том, что мускулатура, вовлечённая в работу этих сегментов, находится под угрозой, либо вследствие различных компенсаторных изменений, вызванных деформацией, либо в результате первоначальных (этиологических) структурных изменений [6–8].

Большинство авторов считают идиопатический сколиоз многофакторным заболеванием [3, 9, 10], и среди причин развития данной патологии мышечный фактор является предметом продолжающихся дискуссий и интенсивных исследований [11–13].

У подростков с идиопатическим сколиозом наблюдается нарушение биомеханического баланса тела и его контроля [5, 14, 15], сенсомоторной адаптации и интеграции [16, 17].

По мнению D.P. Lédio Alves et al. [18], множество различных изменений опорно-двигательного аппарата (деформация позвоночника, отклонения в позиционировании и биомеханики плеч, лопаток, таза и т. д.), обнаруженных у этих подростков, заставляет поставить вопрос о степени их влияния на функцию мышц. Точно неизвестно, в какой момент мышцы лопатки и нижних конечностей начинают страдать вследствие структурных и биомеханических изменений, вызванных подростковым идиопатическим сколиозом [17, 18, 19]. Имеется мало данных о влиянии подросткового идиопатического сколиоза на функцию мышц нижних конечностей [17, 18, 20].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ степени вовлечённости мышц нижних конечностей в патологический процесс у подростков с идиопатическим сколиозом.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие 209 подростков (по классификации ВОЗ) [21]. Обследуемые подростки были разделены на три группы: 1) основная группа – 25 пациентов с идиопатическим сколиозом; 2) контрольная группа – 170 здоровых детей (обследуемые с отсутствием сколиоза и нарушения осанки, клинических признаков неврологического дефицита, травм и хирургических вмешательств на нижних конечностях, позвоночнике, спинном мозге); 3) группа сравнения – 14 пациентов с врождённым сколиозом (табл. 1). Сравнительный анализ антропометрических показателей определил (табл. 1), что подростки с идиопатическим сколиозом имеют рост, вес и индекс массы тела (ИМТ) такой же, как у здоровых сверстников. Обследуемые в группе сравнения (врождённый сколиоз) были ниже (–7,2 %, $p = 0{,}00035$) и имели меньший вес (–13,4 %, $p = 0{,}041$), чем здоровые дети и подростки с идиопатическим сколиозом, хотя ИМТ не отличался от значений других групп обследуемых.

Величина угла основной дуги в группе пациентов с идиопатическим сколиозом статистически значимо не отличалась от значений этого показателя у подростков с врождённым сколиозом. Хотя компенсаторная дуга была меньше на 42 % ($p = 0{,}016$) (табл. 1).

У подростков с идиопатическим сколиозом в неврологическом статусе не было выявлено двигательных, рефлекторных и чувствительных нарушений. Основная дуга деформации располагалась на уровне позвонков Th_{VII}–Th_{XII}, компенсаторная – на уровне позвонков L_{I}–L_{III}. При компьютерно-томографическом исследовании (КТ) были определены варианты изменения позвонков на вершине деформации: истончение дуг, ротация, деформация тел. Ни в одном случае не диагностировано уменьшение размеров позвоночного канала или компрессии его структур. Проведённые МРТ-исследования свидетельствуют об отсутствии изменений структуры спинного мозга (по типу миелопатии, сирингомиелии).

Таблица 1

Характеристика обследуемых подростков (M ± m)

Table 1

Characteristics of the examined adolescents (M ± m)

Показатели	Группы подростков		
	здоровые (*n* = 170)	с идиопатическим сколиозом (*n* = 25)	с врождённым сколиозом (*n* = 14)
Возраст, годы	14,7 ± 1,5 (11–18)	15,0 ± 0,36 (12–18)	14,0 ± 0,6 (11–17)
Пол	мальчики – 89 девочки – 81	мальчики – 7 девочки – 18	мальчики – 8 девочки – 6
Рост, см	161,3 ± 1,0 (137–182)	161,2 ± 1,6 (155–177)	150,0 ± 3,0* (131–164) –7,2 % (p = 0,00035)
Вес, кг	55,0 ± 1,1 (33–87)	53,2 ± 2,3 (40–90)	46,1 ± 2,2* (37–60) –13,4 % (p = 0,041)
ИМТ, кг/см^2	20,8 ± 0,3 (15,4–28,0)	20,6 ± 0,9 (14,3–35,2)	20,5 ± 0,8 (16,4–27) (p = 0,589)
Величина угла основной дуги деформации, °	–	52,0 ± 3,1 (32–85)	61,5 ± 4,9 (40–81) (p = 0,131)
Величина угла компенсаторной дуги деформации, °	–	30,07 ± 3,5 (15–65) *n* = 16	52,6 ± 5,0* (35–80) *n* = 9 (p = 0,016)

Примечание. * – статистическая значимость отличий от показателей здоровых подростков ($p < 0,05$).

Пациенты с врождённым сколиозом имели ряд аномалий развития позвоночника: нарушение сегментации и развития позвонков, наличие полупозвонка, сверхкомплектного позвонка, блока позвонков, клиновидных и бабочкообразных позвонков и др. Обследованные пациенты не имели внутриспинальных аномалий. Тем не менее, были зарегистрированы двигательные нарушения у 3 (21 %) больных: нижний монопарез справа, правосторонний гемипарез, нижний спастический парапарез. Основная дуга деформации располагалась на уровне позвонков Th_{VI}–L_{IV}, компенсаторная – на уровне позвонков Th_{IX}–L_{III}.

У всех обследуемых подростков было проведено исследование максимальных моментов силы мышц нижних конечностей с помощью динамометрических стендов для бедра [22] и голени [23]. Регистрацию моментов силы осуществляли при произвольном сокращении мышц в режиме, близком к изометрическому. Производили расчёт сначала абсолютного максимального момента силы (Н·м), а потом – относительного (с учётом массы тела) момента силы мышц нижних конечностей (Н·м/кг).

Также осуществляли оценку амплитуды моторных (М-ответов), рефлекторных (Н-ответов) вызванных потенциалов и интерференционной электромиограммы (ЭМГ) при максимальном произвольном напряжении мышц нижних конечностей. В качестве индикаторов, отражающих функциональное состояние моторной системы пациентов, использовались поверхностно расположенные мышцы нижних конечностей, доступные для использования поверхностных отводящих электродов и чрескожного возбуждения через соответствующий двигательный нерв супрамаксимальным электрическим импульсом длительностью 1 миллисекунда. М-ответы регистрировались униполярно («belly-tendon») слева и справа в отведениях от *m. tibialis anterior* (L_V), *m. gastrocnemius lat.* (S_1), *m. rectus femoris* (L_{IV}), *m. extensor digitorum brevis* (L_V), *m. flexor digitorum brevis* (S_1). Рассчитывалась максимальная скорость распространения возбуждения (СРВ) по моторным волокнам малоберцового нерва, как отношение длины между проксимальной (подколенная ямка) и дистальной (лодыжка) точками стимуляции нерва к разности латентных периодов М-ответов, при раздражении в соответствующих точках. ЭМГ-обследования проводились по схеме, разработанной А.П. Шеиным [24], с использованием цифровой системы Viking EDX (Natus Medical Incorporated, США). В качестве нормы использованы ранее опубликованные данные [25].

Данное исследование выполнено в соответствии с этическими стандартами, изложенными в Хельсинкской декларации с последующими изменениями. Пациенты, достигшие 18 лет, а также родители детей или их законные представители подписали информированное добровольное согласие на проведение диагностических исследований и публикацию данных без идентификации личности.

Математическую обработку полученных данных выполняли с помощью пакета программ Microsoft Excel 2010. Проверка характера статистического распределения значений анализируемых параметров осуществлялась с помощью критерия Шапиро – Уилка. Для оценки статистической значимости различий анализируемых параметров при их нормальном распределении использовали t-критерий Стьюдента, в остальных случаях применяли непараметрические критерии. Различия считались значимыми при $p < 0,05$. Рассчитывали коэффициенты асимметрии (As) физиологических характеристик тестируемых мышечных групп по формуле:

$$As = \frac{(X_{max} - X_{min}) \times 100\%}{X_{max}} \quad (1),$$

где X_{max} – максимальное; X_{min} – минимальное значение параметра.

Для оценки вариативности ЭМГ-параметров рассчитывали коэффициенты вариации (KV) по формуле:

$$KV = \frac{\sigma \times 100}{M}\% \quad (2),$$

где *M* – средняя арифметическая; σ – стандартное (среднее квадратическое) отклонение. Для количественной оценки возможной степени влияния асимметрии физиологических характеристик тестируемых мышечных групп на выраженность деформации позвоночника рассчитывали коэффициент корреляции Пирсона (*r*).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ результатов исследований показал, что у подростков с идиопатическим сколиозом в сравнении с показателями здоровых сверстников (табл. 2), снижены только максимальные моменты силы мышц бедра (разгибателей и сгибателей голени). Так абсолютный и относительный момент силы разгибателей голени был на 26,8 % (p = 0,004) и 23,6 % (p = 0,005) соответственно меньше, чем показатели контрольной группы. Моменты силы сгибателей голени имеют тот же уровень снижения (абсолютный момент силы – 26,1 % (p = 0,008), относительный момент силы – 24,6 % (p = 0,006)). Силовые характеристики мышц голени (тыльные и подошвенные сгибатели стопы) у подростков с идиопатическим сколиозом соответствуют показателям здоровых сверстников (табл. 2).

При врождённом сколиозе также наблюдается снижение моментов силы мышц бедра, и уровень падения относительных моментов соответствует значениям подростков с идиопатическим сколиозом (разгибатели голени снижены на 24,2 % (p = 0,007), сгибатели голени – на 20 % (p = 0,02)), хотя величина снижения абсолютных моментов была выше: разгибателей голени – на 36,6 % (p = 0,002), сгибателей голени – на 33,3 % (p = 0,003).

Анализ силовых показателей тыльных сгибателей стопы показал, что у подростков с врождённым сколиозом отсутствовали статистически значимые отличия от значений контрольной группы (табл. 2). Абсолютный момент силы подошвенных сгибателей стопы был снижен на 19,5 % (p = 0,028) относительно показателей здоровых сверстников и на 16,9 % (p = 0,033) – подростков с идиопатическим сколиозом. Хотя относительный момент силы статистически значимо не отличался от уровня нормы.

Также следует обратить внимание на то, что абсолютные и относительные моменты силы разгибателей и сгибателей голени, тыльных сгибателей стопы и относительный момент подошвенных сгибателей стопы статистически значимо не различаются в группах подростков с идиопатическим и врождённым сколиозом (табл. 2).

У подростков с идиопатическим сколиозом степень асимметрии силовых показателей на правой и левой нижней конечности соответствует уровню нормы (табл. 3).

Степень асимметрии моментов силы нижних конечностей у пациентов с врождённым сколиозом статистически значимо не отличалась от величин подростков с идиопатическим сколиозом (табл. 3).

Показатель асимметрии абсолютных максимальных моментов силы мышц нижних конечностей у подростков с идиопатическим сколиозом не коррелирует с величиной угла основной и компенсаторной дуги деформации позвоночника (табл. 4). Значения коэффициентов корреляции составляли 0,1–0,21 при $p > 0,05$. Также отсутствует корреляция и в группе с наличием основной и компенсаторной дуг деформации позвоночника. При этом значения коэффициентов корреляции колебались от –0,051 до –0,33 и от –0,43 до 0,22 соответственно, при $p > 0,05$.

Таблица 2

Показатели абсолютного (Н·м) и относительного (Н·м/кг) максимального момента силы мышц нижних конечностей у подростков в норме, с идиопатическим и врождённым сколиозом (M ± m)

Table 2

Indicators of absolute (N·m) and relative (N·m/kg) maximum strength of muscles of the lower extremities in adolescents in normal, with idiopathic and congenital scoliosis (M ± m)

Группы мышц	Моменты силы	Группы подростков		
		здоровые (*n* =170)	с идиопатическим сколиозом (*n* = 25)	с врождённым сколиозом (*n* = 14)
Разгибатели голени	АМС	94,6 ± 4,0	69,3 ± 3,1* (2*n* = 50)	60,0 ± 7,5* (2*n* = 28), $p_{2,3}$ = 0,087
	ОМС	1,78 ± 0,06	1,36 ± 0,07* (2*n* = 50)	1,35 ± 0,16* (2*n* = 28)
Сгибатели голени	АМС	68,7 ± 3,0	50,8 ± 2,5* (2*n* = 50)	45,8 ± 5,3* (2*n* = 28) $p_{2,3}$ = 0,198
	ОМС	1,30 ± 0,05	0,98 ± 0,05* (2*n* = 50)	1,04 ± 0,11* (2*n* = 28) $p_{2,3}$ = 0,799
Подошвенные сгибатели стопы	АМС	73,7 ± 5,4	71,4 ± 3,4 (2*n* = 50)	59,3 ± 4,6* # (2*n* = 28) $p_{2,3}$ = 0,033
	ОМС	1,4 ± 0,10	1,4 ± 0,07 (2*n* = 50)	1,37 ± 0,10 (2*n* = 28)
Тыльные сгибатели стопы	АМС	30,4 ± 2,6	32,2 ± 2,1 (2*n* = 50)	30,4 ± 3,5 (2*n* = 28)
	ОМС	0,56 ± 0,06	0,63 ± 0,04 (2*n* = 50)	0,68 ± 0,07 (2*n* = 28)

Примечание. * – статистическая значимость отличий показателей от уровня нормы ($p < 0,05$); # – статистическая значимость отличий показателей при идиопатическом и врождённом сколиозе ($p < 0,05$); АМС – абсолютный момент силы; ОМС – относительный момент силы; $p_{2,3}$ – статистическая значимость отличий показателей при идиопатическом и врождённом сколиозе; 2*n* – количество обследованных конечностей.

Таблица 3

Асимметрия максимальных моментов силы мышц нижних конечностей у подростков с идиопатическим и врождённым сколиозом

Table 3

Asymmetry of the maximum moments of strength of the muscles of the lower extremities in adolescents with idiopathic and congenital scoliosis

Группы мышц	Идиопатический сколиоз (*n* = 25)			Врождённый сколиоз (*n* = 14)		
	Правая конечность	Левая конечность	Асимметрия (%)	Правая конечность	Левая конечность	Асимметрия (%)
Разгибатели голени	69,3 ± 4,3	69,2 ± 4,5	12,1 ± 1,6	55,4 ± 10,9	64,3 ± 10,8	16,3 ± 3,7 ***p*** = 0,34
Сгибатели голени	53,1 ± 3,2	50,3 ± 3,7	13,0 ± 2,4	45,0 ± 7,4	46,7 ± 8,1	10,3 ± 1,9 ***p*** = 0,96
Подошвенные сгибатели стопы	72,7 ± 4,9	70,1 ± 4,7	9,9 ± 1,4	62,8 ± 5,5	57,1 ± 6,7	10,5 ± 3,8 ***p*** = 0,94
Тыльные сгибатели стопы	33,1 ± 2,7	31,3 ± 2,9	11,9 ± 1,8	31,1 ± 5,1	30,0 ± 4,9	15,0 ± 4,8 ***p*** = 0,85

Таблица 4

Отсутствие взаимосвязи величины угла основной и компенсаторной дуги деформации и асимметрии силы мышц нижних конечностей у подростков с идиопатическом сколиозом (n = 25)

Table 4

Lack of correlation between the angle of the main and compensatory arc of deformation and the asymmetry of the strength of the muscles of the lower extremities in adolescents with idiopathic scoliosis (n = 25)

Группы мышц	Взаимосвязь угла основной дуги деформации и степени асимметрии силы мышц нижних конечностей		Взаимосвязь угла основной и компенсаторной деформации дуги и степени асимметрии силы мышц нижних конечностей			
			Основной дуги		Компенсаторной дуги	
	r	*p*	*r*	*p*	*r*	*p*
Разгибатели голени	0,10	0,65	–0,23	0,37	–0,25	0,35
Сгибатели голени	0,21	0,36	–0,33	0,21	–0,43	0,09
Подошвенные сгибатели стопы	0,13	0,54	0,204	0,48	0,22	0,45
Тыльные сгибатели стопы	0,18	0,36	–0,051	0,86	0,212	0,47

Коэффициент отношения моментов силы разгибателей и сгибателей голени на правой и левой конечности у пациентов с идиопатическим сколиозом соответствует значениям здоровых подростков. Так, если у здоровых подростков коэффициент отношения момента силы разгибателей и сгибателей голени составил 1,38 ± 0,06, у пациентов с идиопатическим сколиозом – 1,38 ± 0,04. У подростков с идиопатическим сколиозом эти коэффициенты статистически значимо не различаются на правой (1,31 ± 0,05) и левой (1,43 ± 0,06, $p = 0,055$) нижних конечностях. Также этот показатель не коррелировал с величиной основной дуги деформации (справа – $r = –0,15$, $p = 0,480$; слева – $r = 0,231$, $p = 0,278$). Отсутствовала корреляция и в группе с наличием основной и компенсаторной дуг: 1) основная дуга – $r = –0,16$ ($p = 0,560$); 2) компенсаторная дуга – $r = –0,12$ ($p = 0,672$).

Таким образом, у подростков с идиопатическим сколиозом моменты силы мышц разгибателей и сгибателей голени были значительно снижены относительно показателей здоровых сверстников. Хотя коэффициент асимметрии и отношения моментов силы разгибателей к сгибателям голени соответствовали уровню нормы. Силовые характеристики тыльных и подошвенных сгибателей стопы статистически значимо не отличались от значений подростков контрольной группы. Такая же картина изменений наблюдалась и при врождённом сколиозе. Показатель асимметрии моментов силы на правой и левой конечностях и коэффициент отношения моментов силы разгибателей и сгибателей голени статистически значимо не отличались от уровня нормы и не коррелировали с величиной угла основной и компенсаторной дуг деформации позвоночника.

Исследование нейромышечного аппарата определило, что средние величины выборки амплитуды М-ответов мышц нижних конечностей (табл. 5) у подростков с идиопатическим сколиозом и врождённым сколиозом имеют близкие значения ($p > 0,05$; см. табл. 5). Их отклонения от уровня нормы носят разнонаправленный характер, а степень вариативности колеблется от умеренного до среднего уровня. Коэффициент асимметрии данного параметра в большинстве случаев соответствует норме. У здоровых людей он не превышает 18 %, но чаще бывает ближе к 10 % [25]. Только в группе пациентов с врождённым сколиозом, в одном случае, *m. extensor digitorum brevis* имела асимметрию амплитуды М-ответов 25 % (умеренная степень асимметрии).

Амплитуда ЭМГ при максимальном произвольном напряжении мышц нижних конечностей существенно снижена как у подростков с идиопатическим, так и с врождённым сколиозом (табл. 6). Степень угнетения произвольной ЭМГ-активности имеет близкие значения в этих двух группах ($p > 0,05$; см. табл. 6). Вариативность данного параметра можно отнести к среднему уровню, диапазон колебания значений, для большинства мышц, находится: при идиопатическом сколиозе – между 20–30 %; при врождённом сколиозе – между 30–40 %. Этот показатель был больше при врождённом сколиозе и, в целом, существенно выше вариативности амплитуды М-ответа.

Таблица 5

***Статистические характеристики амплитуды М-ответов (мВ) мышц нижних конечностей подростков с идиопатическим и врождённым сколиозом** (M ± m)*

Table 5

***Statistical characteristics of the amplitude of M-responses (mV) of the muscles of the lower extremities of adolescents with idiopathic and congenital scoliosis** (M ± m)*

Мышца-индикатор	Нижняя конечность								As
	левая				правая				
	n	*M ± m*	N %	KV	*n*	*M ± m*	N %	KV	
				Идиопатический сколиоз					
m. rectus fem.	23 P	19,3 ± 0,8 [1]0,770; [2]0,638	89,0	20,1	23	19,6 ± 0,6 [1]0,770; [2]0,692	90,3	15,4	9,2
m. tibialis ant.	23 P	8,5 ± 0,4 [1]0,909; [2]0,518	111,3	16,5	23	8,5 ± 0,3 [1]0,909; [2]0,743	107,7	16,2	12,2
m. ext. dig. br.	23 P	8,9 ± 0,6 [1]0,653; [2] 0,322	81,7	34,5	23	8,5 ± 0,5 [1]0,653; [2]0,612	82,2	26,0	18,8
m. gastr.	23 P	30,2 ± 1,7 [1]0,218; [2]0,126	94,8	26,8	23	27,4 ± 1,5 [1]0,218; [2]0,419	87,5	26,8	12,5
m. flex. dig. br.	23 P	19,2 ± 1,1 [1]0,670; [2]0,622	119,0	27,2	23	19,8 ± 1,1 [1]0,670; [2]0,798	111,4	27,1	12,6
				Врождённый сколиоз					
m. rectus fem.	12 P	19,9 ± 1,05 [1]0,593; [2]0,638	91,9	18,3	12	19,0 ± 1,38 [1]0,593; [2]0,692	87,5	25,3	10,8
m. tibialis ant.	12 P	8,9 ± 0,61 [1]0,828; [2]0,518	117,2	23,9	12	8,7 ± 0,58 [1]0,828; [2]0,743	110,4	23,1	12,1
m. ext. dig. br.	11 P	7,7 ± 1,04 [1]0,814; [2]0,322	70,3	44,9	10	8,0 ± 0,95 [1]0,814; [2]0,612	76,9	37,5	25,1
m. gastr.	12 P	23,6 ± 3,72 [1]0,899; [2]0,126	74,1	54,5	12	24,3 ± 3,42 [1]0,899; [2]0,419	77,6	48,8	13,7
m. flex. dig. br.	11 P	17,5 ± 3,09 [1]0,710; [2]0,622	108,7	58,6	10	19,1 ± 2,73 [1]0,710; [2]0,798	107,1	45,2	18,0

Примечание. *n* – количество наблюдений; N % – процент от уровня нормы; KV – коэффициент вариации (формула 2); As – коэффициент асимметрии (формула 1); под значениями средних арифметических приведены величины *p* при сравнении контралатеральных (первое значение) и межгрупповых (второе значение) различий; все $p > 0,05$, т. е. различия статистически незначимы.

Таблица 6

Статистические характеристики ЭМГ-параметров мышц нижних конечностей подростков с идиопатическим и врождённым сколиозом (M ± m)

Table 6

Statistical characteristics of EMG parameters of lower limb muscles in adolescents with idiopathic and congenital scoliosis (M ± m)

Мышца-индикатор		Нижняя конечность								As
		левая				правая				
		n	*M ± m*	N %	KV	*n*	*M ± m*	N %	KV	
					Идиопатический сколиоз					
m. rectus fem.	A	23 P	0,4 ± 0,03 [1]0,500; [2]0,658	46,8	41,4	23 P	0,4 ± 0,03 [1]0,500; [2]0,938	54,4	40,3	20,0
	f	19 P	258 ± 19 [1]0,328; [2]**0,004**		31,4	19 P	235 ± 14 [1]0,328; [2]**0,002**		25,3	
m. tibialis ant.	A	23 P	0,5 ± 0,03 [1]0,908; [2]0,838	64,8	34,7	23 P	0,5 ± 0,03 [1]0,908; [2]0,332	63,7	29,9	21,3
	f	19 P	349 ± 18 [1]0,361; [2]0,260		22,7	19 P	375 ± 21 [1]0,361; [2]0,770		24,5	
m. gastr.	A	23 P	0,2 ± 0,02 [1]0,987; [2]0,155	44,7	47,1	23 P	0,2 ± 0,02 [1]0,987; [2]0,366	43,7	35,0	23,6
	f	18 P	349 ± 27 [1]0,823; [2]0,545		32,6	18 P	357 ± 26 [1]0,823; [2]0,518		30,4	
					Врождённый сколиоз					
m. rectus fem.	A	12 P	0,4 ± 0,05 [1]0,983; [2]0,658	50,3	46,6	12 P	0,4 ± 0,06 [1]0,983; [2]0,938	53,7	51,5	18,3
	f	7 P	364 ± 25 [1]0,503; [2]**0,004**		17,9	7 P	392 ± 33 [1]0,503; [2]**0,002**		22,4	
m. tibialis ant.	A	12 P	0,5 ± 0,06 [1]0,388; [2]0,838	66,9	46,7	12 P	0,4 ± 0,06 [1]0,388; [2]0,332	54,3	54,8	34,6
	f	7 P	428 ± 61 [1]0,765; [2]0,260		38,0	7 P	399 ± 74 [1]0,765; [2]0,770		48,8	
m. gastr.lat.	A	11	0,3 ± 0,04 [1]0,747; [2]0,155	59,1	47,9	11 P	0,3 ± 0,05 [1]0,747; [2]0,366	53,6	62,1	27,9
	f	7 P	395 ± 68 [1]0,396; [2]0,545		45,5	7 P	324 ± 43 [1]0,396; [2]0,518		35,4	

Примечание. A – амплитуда (мВ); f – частота (турн./с); *n* – количество наблюдений; N % – процент от уровня нормы; KV – коэффициент вариации (формула 2); As – коэффициент асимметрии амплитуды (формула 1); под значениями средних арифметических приведены величины *p* при сравнении контралатеральных (первое значение) и межгрупповых (второе значение) различий; статистически значимые различия ($p < 0,05$) выделены полужирным.

Для большинства отведений асимметрия произвольной ЭМГ может быть отнесена к умеренному типу. Она выше, чем для амплитуды М-ответа, но не является выраженным признаком патологии.

Все записи произвольной ЭМГ-активности условно разделены на насыщенные и ненасыщенные паттерны. Во втором случае электрограмма выглядит как череда всплесков активности и периодов молчания. В нашей выборке они регистрировались в симметричных отведениях. В большинстве случаев пациент демонстрировал для всех тестируемых мышц ненасыщенные паттерны активности. В группе с идиопатическим сколиозом они составляли для *m. rectus femoris* и *m. tibialis anterior* 17,4 %, а для *m. gastrocnemius lateralis* – 21,7 %. У подростков с врождёнными деформациями эти паттерны наблюдались в 41,7 и 36,4 % наблюдений в аналогичных мышцах. Для насыщенных паттернов ЭМГ средние значения частотных характеристик (количество турнов в секунду) произвольной ЭМГ в группах сравнения отличаются несущественно ($p > 0,05$; см. табл. 6). У пациентов с врождённым сколиозом чаще регистрируются более высокочастотные ЭМГ-паттерны, чем у пациентов с идиопатическим сколиозом (рис. 1). Для *m. rectus femoris* повышение частоты статистически значимо ($p < 0,05$; см. табл. 6).

На рисунке 1 представлены корреляционные поля, отражающие сложную связь амплитуды и частоты ЭМГ при максимальном произвольном напряжении. Каждой точке на графике соответствует одно наблюдение. Анализ характеристик *m. rectus femoris* показал, что данные пациентов с идиопатическим сколиозом (тёмные кружки) равномерно распределены по всему диапазону параметров, в то время как все ЭМГ-показатели больных с врождённым сколиозом (белые кружки) группируются в правой (более высокочастотной) зоне графика. При этом диапазоны амплитуды ЭМГ обеих групп практически совпадают.

При анализе *m. tibialis anterior* было определено, что в группе пациентов с врождённым сколиозом намечается кластеризация данных, в то время как у подростков с идиопатическим сколиозом наблюдается равномерное распределение множества точек по всему графику. Основной массив белых кружков (врождённый сколиоз) по-прежнему группируется в правой части графика. Отчётливо видны отдельные группы данных: 1) низкоамплитудная, низкочастотная – патологическая ЭМГ (в левом нижнем углу); 2) низкоамплитудная ЭМГ при средних значениях частот; 3) ЭМГ с умеренно сниженной амплитудой и частотой. Данные обособленные кластеры выделены пунктирной линией.

При анализе показателей *m. gastrocnemius lateralis* было выявлено, что феномен усиления кластеризации данных в группе подростков с врождённым сколиозом выражен в большей степени. Фактически вся совокупность наблюдений распадается на маленькие кластеры, большая часть которых сгруппирована в центре и на правой стороне анализируемого частотного диапазона. В левой части графика остаются единичные записи низкочастотной ЭМГ со значительно и умеренно сниженной амплитудой. У подростков с идиопатическим сколиозом, как и для остальных тестируемых мышц (*m. rectus femoris*, *m. tibialis anterior*), электрограммы произвольной ЭМГ *m. gastrocnemius lateralis* относительно

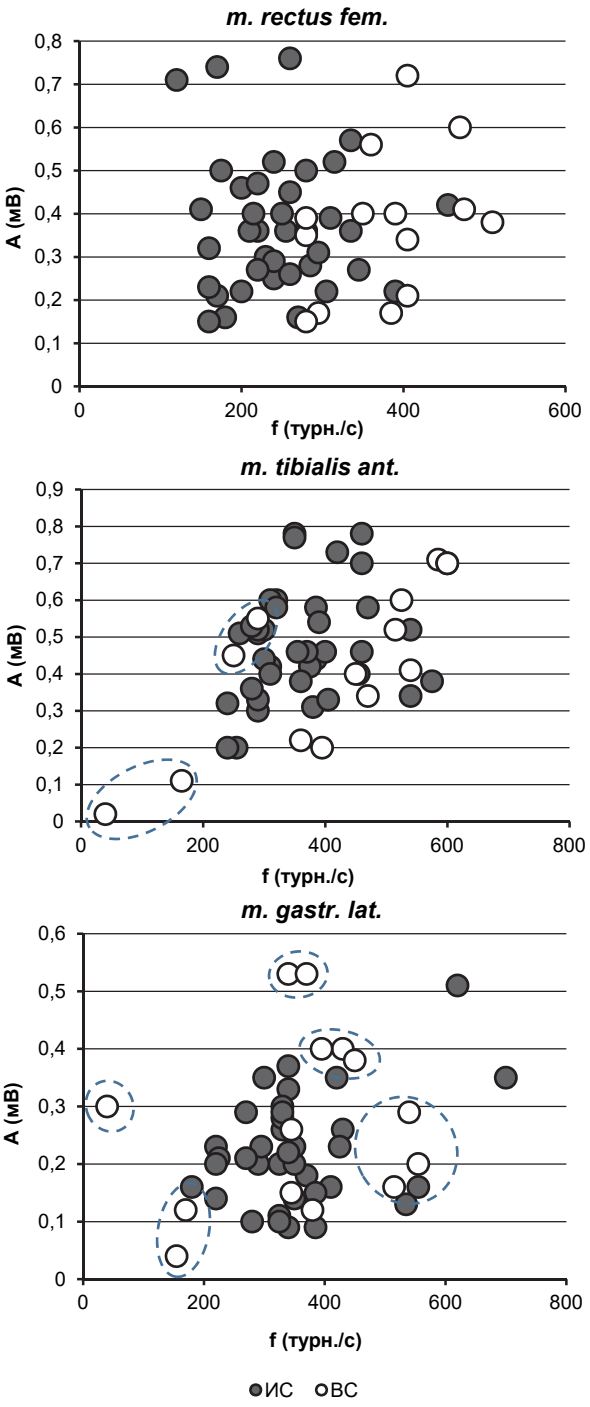


Рис. 1. Параметры ЭМГ при максимальном произвольном напряжении для насыщенных паттернов активности в группах сравнения: А – амплитуда (мВ); f – частота (турн./с); ИС –идиопатический сколиоз; ВС – врождённый сколиоз

Fig. 1. EMG parameters at maximum voluntary stress for saturated patterns of activity in comparison groups: A – amplitude (mV); f – frequency (turn/sec); ИС – idiopathic scoliosis; ВС – congenital scoliosis

равномерно распределены по анализируемой области корреляционного поля (за исключением двух «выскакивающих» наблюдений).

Исследование максимальной СРВ (скорости распространения возбуждения) по моторным волокнам *n. tibialis* у подростков с идиопатическим, врождённым сколиозом и контрольной группы определило отсутствие статистически значимых отличий.

У пациентов с идиопатическим сколиозом средние значения СРВ по моторным волокнам *n. tibialis* составили слева 52,6 ± 1,29 м/с и справа 53,4 ± 1,39 м/с. В группе с врождённым сколиозом данный параметр был аналогичным: слева – 53,4 ± 2,08 м/с, справа – 55,9 ± 2,33 м/с. Вариативность СРВ для групп сравнения была невысокой и составляла слева 10,7 и 12,3 %, а справа 11,3 и 13,2 % соответственно. Все значения статистически значимо не отличаются от уровня нормы, билатеральные и межгрупповые различия между ними статистически незначимы ($p = 0{,}655$, $p = 0{,}439$ и $p = 0{,}370$ соответственно). Средняя асимметрия СРВ в группе с идиопатическим сколиозом составила 7,8 ± 1,48 %, а при врождённых деформациях позвоночника – 5,8 ± 1,75 % ($p > 0{,}05$). Не выявлена корреляционная связь между величиной СРВ и её асимметрией, с одной стороны, и величиной деформации, с другой.

Анализ и обобщение амплитуды рефлекторных потенциалов (Н-ответов) у подростков со сколиотической деформацией позвоночника определили статистически значимое снижение относительно показателей здоровых сверстников. Средние значения амплитуды Н-ответа *m. gastrocnemius lateralis* в группе пациентов с идиопатическим сколиозом составляли 5,1 ± 0,5 мВ (на 29,2 % ниже нормы; $p = 0{,}007$), для подростков с врождённым сколиозом – 6,3 ± 0,2 мВ (на 12,5 % ниже нормы; $p = 0{,}04$). Межгрупповые различия статистически незначимы ($p = 0{,}210$). Относительный уровень моносинаптической возбудимости спинальных моторных ядер *m. gastrocnemius lat.* (H_{max}/M_{max}%) составлял для идиопатического сколиоза 17,4 ± 1,45 %, для врождённой деформации позвоночника – 25,8 ± 4,63 %. Межгрупповые различия статистически незначимы ($p = 0{,}100$). Наблюдалось умеренное снижение относительно нормы, более выраженное для идиопатического сколиоза. Асимметрия данного параметра может считаться умеренно повышенной. При идиопатическом сколиозе она составляла 29,9 ± 4,01 %, при врождённом – 31,1 ± 8,55 % ($p = 0{,}743$). Кроме того, обобщение полученных данных показало отсутствие корреляционной связи между степенью асимметрии амплитуды Н-ответов, величиной деформации позвоночника и асимметрией абсолютного и относительного моментов подошвенных сгибателей стопы.

Таким образом, амплитуда ЭМГ при максимальном произвольном напряжении мышц нижних конечностей существенно снижена во всех отведениях у подростков как при идиопатическом, так и врождённом сколиозе. Степень угнетения произвольной ЭМГ-активности имеет близкие значения. Также наблюдается сохранность амплитуды М-ответов мышц индикаторов и нормальные величины скорости распространения возбуждения по моторным волокнам. Снижение относительно нормы в обеих группах сравнения средних значений амплитуды Н-ответа, а также показателя H_{max}/M_{max}% указывают на уменьшение моносинаптической возбудимости соответствующих спинальных мотонейронов, выраженной в большей степени для группы с идиопатическим сколиозом.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проблемы консервативного лечения идиопатического сколиоза, в частности его недостаточность, неспособность избежать хирургического этапа, связаны с неопределённостями в понимании механизмов возникновения и прогрессирования заболевания [26, 27]. В настоящее время, собран и опубликован большой массив информации, показывающий, что возникновение и прогрессирование идиопатического сколиоза – сложный многокомпонентный процесс. В этом процессе важную роль могут играть изменения в центральной нервной системе (ЦНС) [15, 28, 29], проприоцептивном аппарате [16, 17], мышцах [11, 30, 31], костной и соединительной тканях [32], которые возможно связаны с некоторыми особенностями генома, влияющими на миогенез [33, 34], и условиями жизни людей [35].

Морфологические изменения в мышцах [11, 30, 31] носят преимущественно неспецифический [36], диффузный [30, 37] характер, поэтому могут быть как в числе причин возникновения сколиоза, так и его последствий. Такая же неопределённость констатируется и для изменений, наблюдаемых в ЦНС [29].

Таким образом, в настоящее время по-прежнему остаётся неясным, какие из вышеперечисленных феноменов являются ведущими, а какие вторичными, усиливающими или ослабляющими патологические процессы. Это хорошо видно на примере развития нарушения биомеханического баланса тела у подростков с идиопатическим сколиозом, идущего параллельно с нарушениями в системе соответствующего сенсорного контроля и сенсомоторной интеграции [5, 14, 15]. Процесс должен развиваться циклично по механизму положительной обратной связи. Ведущим звеном такого цикла может быть инфантильность системы мышечного веретена [16, 17].

Развитие разного рода нарушений осанки в процессе роста и развития детского организма не может рассматриваться в качестве надёжного предиктора возникновения идиопатического сколиоза, поскольку далеко не всегда заканчивается таковым (в 27–50 % случаев) [26]. Однако нарушение осанки в сочетании с некоторыми специфическими изменениями физиологических характеристик моторной системы вполне могут оказаться прогностически перспективными. В качестве перспективных кандидатов на роль таких параметров мы предлагаем рассматривать соотношение силовых и активационных свойств мышц-антагонистов, поскольку именно малозначимые сбои в координации тонической и фазной активности мышечных групп могут быть ключевым звеном замкнутого через положительные обратные связи цикла накопления патологических изменений (рис. 2).

В данном случае мы говорим о цикле, потому что последовательность причин и следствий замыкается в кольцо, которое при движении вдоль оси времени превращается в спираль. Данный цикл является итерационным, потому что результат предыдущего движения по кольцу обратных связей становится исходным пунктом для нового повторения цикла, в результате чего патологические изменения накапливаются в опорно-двигательной системе.

Полученные в нашем исследовании данные указывают на значимое снижение средних величин моментов силы мышц бедра у подростков с идиопатическим сколиозом, по сравнению со здоровыми сверстниками и сопоставимое с пациентами с врождённым сколиозом. Однако в последнем случае снижение связано с отставанием в развитии, корни которого уходят в пренатальную гипоксию тканей плода. При взрослении, особенно в процессе ростового скачка, детский организм пытается компенсировать это

Рис. 2. Многократно повторяющийся итерационный цикл накопления структурно-функциональных микронарушений в опорно-двигательной системе подростков в процессе развития идиопатического сколиоза

Fig. 2. Repeated iterative cycle of accumulation of structural and functional microdisorders in the musculoskeletal system of adolescents during the development of idiopathic scoliosis

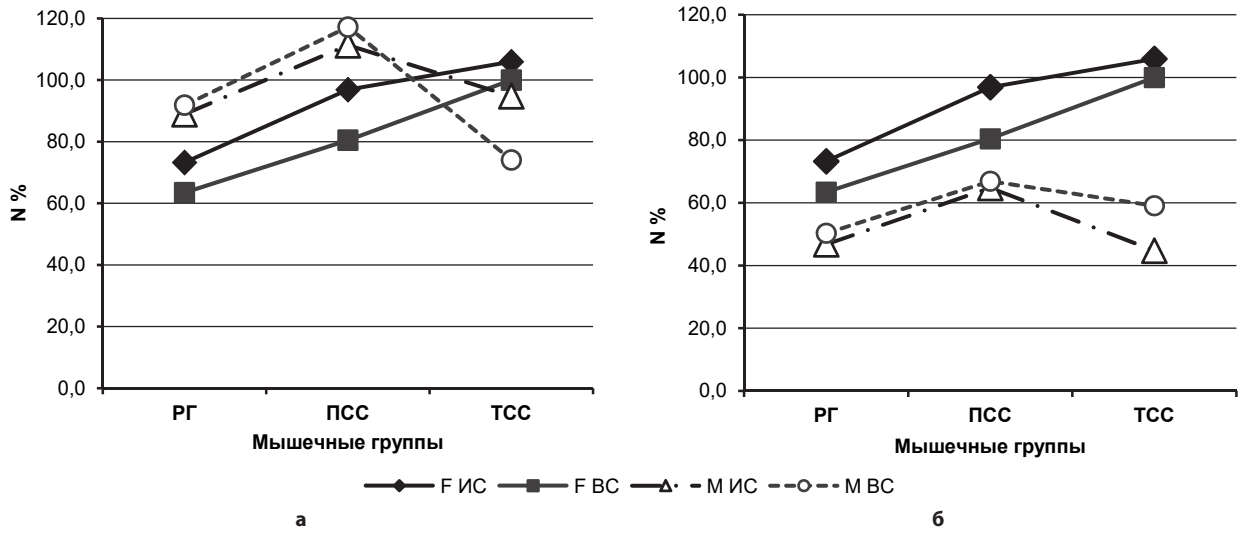


Рис. 3. Взаимосвязь моментов силы и амплитуды вызванной (**а**) и произвольной (**б**) электрической активности мышц подростков в группах сравнения: РГ – разгибатели голени; ПСС – подошвенные сгибатели стопы и тыльные сгибатели стопы; F ИС – момент силы при идиопатическом сколиозе; F ВС – момент силы при врождённом сколиозе; M ИС– амплитуда электрической активности при идиопатическом сколиозе; M ВС – амплитуда электрической активности при врождённом сколиозе

Fig. 3. The relationship between the moments of force and amplitude of evoked (**a**) and voluntary (**б**) electrical activity of the muscles of adolescents in the comparison groups: РГ – leg extensors; ПСС – plantar flexors of the foot and dorsal flexors of the foot; N % – the degree of decrease in parameters relative to the norm; F IS – moment of force in idiopathic scoliosis; F BC – moment of force in congenital scoliosis; M IS – amplitude of electrical activity in idiopathic scoliosis; M BC – amplitude of electrical activity in congenital scoliosis

отставание, что проявляется в уменьшении степени снижения моментов силы мышц бедра относительно нормы у подростков по сравнению с детьми [38].

Сходство распределения средних значений относительных моментов силы мышц нижних конечностей в группах сравнения (идиопатический и врождённый сколиоз), выраженных в процентах от уровня нормы (рис. 3, тренды F ИС и F ВС), позволяет предположить, что ведущим фактором его формирования является ограничение моторной активности (гиподинамия и гипокинезия), а не этиология.

Разная степень снижения данного показателя – существенная для мышц бедра и незначительная для мышц голени в обеих группах – указывает на то, что определяющую роль играет функция конкретных мышечных групп. Сохранение амплитуды М-ответов практически на уровне нормы (рис. 3А, тренды М ИС и М ВС) указывает на то, что общее количество мышечных волокон близко соответствующему объёму мышечной ткани здоровых подростков. Однако снижение амплитуды ЭМГ при максимальном произвольном напряжении показывает, что активация мышечных

волокон в процессе реализации моторных актов носит изменённый характер.

При исследовании мышц бедра было определено, что снижение амплитуды произвольной ЭМГ коррелирует с падением силы. Для мышц голени характерен тот факт, что момент силы сохранён на уровне здоровых испытуемых в условиях сниженной произвольной ЭМГ высокой частоты, что указывает на поддержание необходимого уровня мышечного сокращения за счёт рекрутирования большего числа двигательных единиц, состоящих из меньшего числа мышечных волокон. Формирование такого рода двигательных единиц в мышцах голени пациентов обеих групп сравнения указывает на ведущую роль сниженного уровня моторной активности детей с ортопедической патологией. Такого рода перестройка двигательных единиц не сопровождается атрофией элементов нейромоторного аппарата, на что указывает сохранность амплитуды М-ответов мышц-индикаторов и значений скорости распространения возбуждения по моторным волокнам *n. peroneus*.

Снижение относительно нормы в обеих группах сравнения средних значений амплитуды Н-ответа *m. gastrocnemius lateralis*, а также показателя H_{max}/M_{max}% указывают на уменьшение моносинаптической возбудимости соответствующих спинальных мотонейронов, выраженной в большей степени для группы с идиопатическим сколиозом. Это входит в некоторое противоречие с данными литературы относительно повышения возбудимости мотонейронов спинного мозга, иннервирующих мышцы как верхних, так и нижних конечностей [39]. Данное рассогласование отчасти связано с тем, что речь идёт о средних значениях показателей возбудимости, в то время как её характеристики значительно варьируют. Во-вторых, степень возбудимости зависит от метода тестирования. Использование метода Н-рефлекса ограничено небольшим количеством мышц голени и стопы и отражает в большей степени уровень активности аппарата возвратного торможения с участием клеток Реншоу.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У подростков с идиопатическим сколиозом снижена функция мышц бедра, и отсутствуют корреляционные связи между величиной деформации позвоночника и значениями асимметрии силовых и активационных характеристик мышц нижних конечностей. Аналогичный характер изменений физиологических параметров, характеризующих функциональное состояние сенсомоторной системы у пациентов с идиопатическим и врождённым сколиозом, может свидетельствовать о том, что причиной наблюдаемых изменений является не этиология заболевания, а недостаточный уровень моторной активности (гиподинамии и гипокинезии) и процессы, связанные с развитием деформации позвоночника.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Благодарность

Мы благодарим доктора биологических наук, профессора А.П. Шеина и Г.А. Криворучко за предоставление первичной информации по ЭМГ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Negrini S, Donzelli S., Aulisa AG, Czaprowski D. Schreiber S., Claude de Mauroy J, et al. 2016 SOSORT guidelines: orthopaedic and rehabilitation treatment of idiopathic scoliosis during growth. *Scoliosis Spinal Disord*. 2018; 13: 3. doi: 10.1186/s13013-017-0145-8

2. Kuznia AL, Hernandez AK, Lee LU. Adolescent idiopathic scoliosis: Common questions and answers. *Am Fam Physician*. 2020; 101(1): 19-23.

3. Trobisch P, Suess O, Schwab F. Idiopathic scoliosis. *Dtsch Arztebl Int*. 2010; 107(49): 875-884. doi: 10.3238/arztebl.2010.0875

4. Stuart L, Weinstein MD. The natural history of adolescent idiopathic scoliosis. *Pediatr Orthop*. 2019; 39(6): S44-S46. doi: 10.1097/BPO.0000000000001350

5. Yagci G, Yakut Y, Simsek E. The effects of exercise on perception of verticality in adolescent idiopathic scoliosis. *Physiother Theory Pract*. 2018; 34(8): 579-588. doi: 10.1080/09593985.2017.1423429

6. Fabry G. Clinical practice: the spine from birth to adolescence. *Eur J Pediatr*. 2009; 168(12): 1415-1420. doi: 10.1007/s00431-009-0998-9

7. de Seze M, Cugy E. Pathogenesis of idiopathic scoliosis: A review. *Ann Phys Rehabil Med*. 2012; 55(2): 128-138. doi: 10.1016/j.rehab.2012.01.003

8. Chwała W, Koziana A, Kasperczyk T, Walaszek R, Płaszewski M. Electromyographic assessment of functional symmetry of paraspinal muscles during static exercises in adolescents with idiopathic scoliosis. *Biomed Res Int*. 2014; 573276. doi: 10.1155/2014/573276

9. Yaman O, Dalbayrak S. Idiopathic scoliosis. *Turk Neurosurg*. 2014; 24: 646–657. doi: 10.5137/1019-5149.JTN.8838-13.0

10. Latalski M, Danielewicz-Bromberek A, Fatyga M, Latalska M, Krober M, Zwolak P. Current insights into the aetiology of adolescent idiopathic scoliosis. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2017; 137: 1327-1333. doi: 10.1007/s00402-017-2756-1

11. Paz ACD, Brandao ICS, Silveira EBD, Gomes CR. Morphological and morphometric analysis of paraspinal and intercostal musculature on adolescent idiopathic scoliosis. *J Spine*. 2015; 4: 206. doi: 10.4172/2165-7939.1000206

12. Wajchenberg M, Astur N, Kanas M, Martins DE. Adolescent idiopathic scoliosis: Current concepts on neurological and muscular etiologies. *Scoliosis Spinal Disord*. 2016; 11: 4. doi: 10.1186/s13013-016-0066-y

13. Долганова Т.И., Долганов Д.В., Рябых С.О. Диагностическая информативность огибающей ЭМГ поверхностных паравертебральных мышц в постуральных стереотипах у пациентов со сколиозом III–IV степени. *Гений ортопедии*. 2018; 24(1): 57-63. doi: 10.18019/1028-4427-2018-24-1-57-63

14. Herman R, Mixon J, Fisher A, Maulucci R, Stuyck J. Idiopathic scoliosis and the central nervous system: A motor control problem. The Harrington lecture, 1983. Scoliosis research society. *Spine*. 1985; 10(1): 1-14. doi: 10.1097/00007632-198501000-00001

15. Domenech J, García-Martí G, Martí-Bonmatí L, Barrios C, Tormos JM, Pascual-Leone A. Abnormal activation of the motor cortical network in idiopathic scoliosis demonstrated by functional MRI. *Eur Spine J*. 2011; 20(7): 1069-1078. doi: 10.1007/s00586-011-1776-8

16. Yekutiel M, Robin GC, Yarom R. Proprioceptive function in children with adolescent idiopathic scoliosis. *Spine*. 1981; 6(6): 560-566. doi: 10.1097/00007632-198111000-00006

17. Pingot M, Czernicki J, Kubacki J. Assessment of muscle strength of hip joints in children with idiopathic scoliosis. *Ortop Traumatol Rehabil*. 2007; 9(6): 636-643.

18. Lédio Alves DP, Araújo B. Muscle disorders in adolescent idiopathic scoliosis: Literature review. *Coluna/Columna*. 2016; 15(1): 73-77. doi: 10.1590/S1808-185120161501151839

19. Lin JJ, Chen WH, Chen PQ, Tsauo JY. Alteration in shoulder kinematics and associated muscle activity in people with idiopathic scoliosis. *Spine*. 2010; 35(11): 1151-1157. doi: 10.1097/BRS.0b013e3181cd5923

20. Zabjek KF, Leroux MA, Coillard C, Prince F, Rivard CH. Postural characteristics of adolescents with idiopathic sco-

liosis. *J Pediatr Orthop*. 2008; 28(2): 218-224. doi: 10.1097/BPO.0b013e3181651bdc

21. Здоровье матерей, новорождённых, детей и подростков. Развитие подростков. Сайт ВОЗ. URL: https://www.who.int/maternal_child_adolescent/topics/adolescence/dev/ru/

22. Shchurov VA, Dolganova TI, Dolganov DV. Femoral muscle dynamometer. *Biomedical Engineering*. 2014; 48(1): 30-32. doi: 10.1007/s10527-014-9410-9

23. Shchurov VA, Dolganova TI, Dolganov DV. Device for measuring lower leg muscle strength. *Biomedical Engineering*. 2016; 50(2): 124-127. doi: 10.1007/s10527-016-9602-6

24. Шеин А.П., Криворучко Г.А., Рябых С.О. Реактивность и резистентность спинномозговых структур при выполнении инструментальной коррекции деформаций позвоночника. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 2016; 102(12): 1495-1506.

25. Шеин А.П., Сайфутдинов М.С., Криворучко Г.А. *Локальные и системные реакции сенсомоторных структур на удлинение и ишемию конечностей*. Курган: ДАММИ; 2006.

26. Szwed A, Kołban M, Jałoszewski M. Results of SpineCor dynamic bracing for idiopathic scoliosis. *Ortop Traumatol Rehabil.* 2009; 11(5): 427-432.

27. Николаев В.Ф., Барановская И.А., Андриевская А.О. Результаты применения функционально-корригирующего корсета типа Шено в комплексной реабилитации детей и подростков с идиопатическим сколиозом. *Гений ортопедии*. 2019; 25(3): 368-377. doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-3-368-377

28. Pinchuk D, Dudin M, Bekshayey S, Pinchuk O. Peculiarities of brain functioning in children with adolescence idiopathic scoliosis (AIS) according to EEG studies. *Studies in Health Technology and Informatics*. 2012; 176: 87-90.

29. Wang D, Shi L, Chu WCW, Burwell RG, Cheng JCY, Ahuja AT. Abnormal cerebral cortical thinning pattern in adolescent girls with idiopathic scoliosis. *NeuroImage*. 2012; 59(2): 935-942. doi: 10.1016/j.neuroimage.2011.07.097

30. Sahgal V, Shah A, Flanagan N, Schaffer M, Kane W, Subramani V, et al. Morphologic and morphometric studies of muscle in idiopathic scoliosis. *Acta Orthop Scand.* 1983; 54: 242-251. doi: 10.3109/17453678308996564

31. Wajchenberg M, Martins DE, Luciano R de P, Puertas EB, Del Curto D, Schmidt B, et al. Histochemical analysis of paraspinal rotator muscles from patients with adolescent idiopathic scoliosis: A cross-sectional study. *Medicine.* 2015; 94(8): e598. doi: 10.1097/MD.0000000000000598

32. Дудин М.Г., Пинчук Д.Ю. *Идиопатический сколиоз: диагностика, патогенез*. СПб.: Человек; 2009.

33. Sharma S, Londono D, Eckalbar WL, Gao X, Zhang D, Mauldin K, et al. A PAX1 enhancer locus is associated with susceptibility to idiopathic scoliosis in females. *Nat Commun.* 2015; 6: 6452. doi: 10.1038/ncomms7452

34. Zhu Z, Tang NL, Xu L, Qin X, Mao S, Song Y, et al. Genome-wide association study identifies new susceptibility loci for adolescent idiopathic scoliosis in Chinese girls. *Nat Commun*. 2015; 6: 8355. doi: 10.1038/ncomms9355

35. Лупандина-Болотова Г.С., Тайбулатов Н.И., Игнатов Д.А., Намазова-Баранова Л.С., Поляков С.Д., Перевозчикова Е.П. Функциональные нарушения при деформациях позвоночника и методы их коррекции. *Вопросы современной педиатрии*. 2015; 14(2): 201-206. doi: 10.15690/vsp.v14i2.1287

36. Yarom R, Robin GC. Muscle pathology in idiopathic scoliosis. *Isr J Med Sci.* 1979; 15: 917-924.

37. Luciano RdP, Puertas EB, Martins DE, Faloppa F, Del Curto D, Reis LM, et al. Adolescent idiopathic scoliosis without limb weakness: A differential diagnosis of core myopathy? *BMC Musculoskelet Disord*. 2015; 16: 179. doi: 10.1186/s12891-015-0629-8

38. Щурова Е.Н., Сайфутдинов М.С., Долганова Т.И., Ахмедова М.А. Исследование особенностей сенсорной системы детей и подростков с врождённым сколиозом. *Современные проблемы науки и образования*. 2020; 5. doi: 10.17513/spno.30164

39. Сампиев М.Т., Лака А.А., Загородний Н.В. Сколиоз. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2008. doi: 10.18019/1028-4427-2018-24-3-365-374

REFERENCES

1. Negrini S, Donzelli S., Aulisa AG, Czaprowski D. Schreiber S., Claude de Mauroy J, et al. 2016 SOSORT guidelines: orthopaedic and rehabilitation treatment of idiopathic scoliosis during growth. *Scoliosis Spinal Disord*. 2018; 13: 3. doi: 10.1186/s13013-017-0145-8

2. Kuznia AL, Hernandez AK, Lee LU. Adolescent idiopathic scoliosis: Common questions and answers. *Am Fam Physician*. 2020; 101(1): 19-23.

3. Trobisch P, Suess O, Schwab F. Idiopathic scoliosis. *Dtsch Arztebl Int.* 2010; 107(49): 875-884. doi: 10.3238/arztebl.2010.0875

4. Stuart L, Weinstein MD. The natural history of adolescent idiopathic scoliosis. *Pediatr Orthop*. 2019; 39(6): S44-S46. doi: 10.1097/BPO.0000000000001350

5. Yagci G, Yakut Y, Simsek E. The effects of exercise on perception of verticality in adolescent idiopathic scoliosis. *Physiother Theory Pract.* 2018; 34(8): 579-588. doi: 10.1080/09593985.2017.1423429

6. Fabry G. Clinical practice: the spine from birth to adolescence. *Eur J Pediatr.* 2009; 168(12): 1415-1420. doi: 10.1007/s00431-009-0998-9

7. de Seze M, Cugy E. Pathogenesis of idiopathic scoliosis: A review. *Ann Phys Rehabil Med.* 2012; 55(2): 128-138. doi: 10.1016/j.rehab.2012.01.003

8. Chwała W, Koziana A, Kasperczyk T, Walaszek R, Płaszewski M. Electromyographic assessment of functional symmetry of paraspinal muscles during static exercises in adolescents with idiopathic scoliosis. *Biomed Res Int.* 2014; 573276. doi: 10.1155/2014/573276

9. Yaman O, Dalbayrak S. Idiopathic scoliosis. *Turk Neurosurg.* 2014; 24: 646–657. doi: 10.5137/1019-5149.JTN.8838-13.0

10. Latalski M, Danielewicz-Bromberek A, Fatyga M, Latalska M, Krober M, Zwolak P. Current insights into the aetiology of adolescent idiopathic scoliosis. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2017; 137: 1327-1333. doi: 10.1007/s00402-017-2756-1

11. Paz ACD, Brandao ICS, Silveira EBD, Gomes CR. Morphological and morphometric analysis of paraspinal and intercostal musculature on adolescent idiopathic scoliosis. *J Spine.* 2015; 4: 206. doi: 10.4172/2165-7939.1000206

12. Wajchenberg M, Astur N, Kanas M, Martins DE. Adolescent idiopathic scoliosis: Current concepts on neurological and muscular etiologies. *Scoliosis Spinal Disord*. 2016; 11: 4. doi: 10.1186/s13013-016-0066-y

13. Dolganova TI, Dolganov DV, Riabykh SO. Diagnostic information value of EMG envelope algorithm for superficial paraspinal muscles in postural stereotypes of patients with scoliosis grades III and IV. *Genij Ortopedii.* 2018; 24(1): 57-63. doi: 10.18019/1028-4427-2018-24-1-57-63. (In Russ.)

14. Herman R, Mixon J, Fisher A, Maulucci R, Stuyck J. Idiopathic scoliosis and the central nervous system: A motor control problem. The Harrington lecture, 1983. Scoliosis research society. *Spine.* 1985; 10(1): 1-14. doi: 10.1097/00007632-198501000-00001

15. Domenech J, García-Martí G, Martí-Bonmatí L, Barrios C, Tormos JM, Pascual-Leone A. Abnormal activation of the motor cortical network in idiopathic scoliosis demonstrated by functional MRI. *Eur Spine J.* 2011; 20(7): 1069-1078. doi: 10.1007/s00586-011-1776-8

16. Yekutiel M, Robin GC, Yarom R. Proprioceptive function in children with adolescent idiopathic scoliosis. *Spine.* 1981; 6(6): 560-566. doi: 10.1097/00007632-198111000-00006

17. Pingot M, Czernicki J, Kubacki J. Assessment of muscle strength of hip joints in children with idiopathic scoliosis. *Ortop Traumatol Rehabil.* 2007; 9(6): 636-643.

18. Lédio Alves DP, Araújo B. Muscle disorders in adolescent idiopathic scoliosis: Literature review. *Coluna/Columna*. 2016; 15(1): 73-77. doi: 10.1590/S1808-185120161501151839

19. Lin JJ, Chen WH, Chen PQ, Tsauo JY. Alteration in shoulder kinematics and associated muscle activity in people with idiopathic scoliosis. *Spine*. 2010; 35(11): 1151-1157. doi: 10.1097/BRS.0b013e3181cd5923

20. Zabjek KF, Leroux MA, Coillard C, Prince F, Rivard CH. Postural characteristics of adolescents with idiopathic sco-

liosis. *J Pediatr Orthop*. 2008; 28(2): 218-224. doi: 10.1097/BPO.0b013e3181651bdc

21. WHO Health of mothers, newborns, children and adolescents. Adolescent development. URL: https://www.who.int/maternal_child_adolescent/topics/adolescence/dev/ru/ (In Russ.)

22. Shchurov VA, Dolganova TI, Dolganov DV. Femoral muscle dynamometer. *Biomedical Engineering*. 2014; 48(1): 30-32. doi: 10.1007/s10527-014-9410-9

23. Shchurov VA, Dolganova TI, Dolganov DV. Device for measuring lower leg muscle strength. *Biomedical Engineering*. 2016; 50(2): 124-127. doi: 10.1007/s10527-016-9602-6

24. Shein AP, Krivoruchko GA, Ryabykh SO. Reactivity and resistance of the spinal structures during instrumental correction of spinal deformities. *Russian Journal of Physiology*. 2016; 102(12): 1495-1506. (In Russ.)

25. Shein AP, Sajfutdinov MS, Krivoruchko GA. *Local and systemic responses of sensorimotor structures to limb elongation and ischemia*. Kurgan: DAMMI; 2006. (In Russ.)

26. Szwed A, Kołban M, Jałoszewski M. Results of SpineCor dynamic bracing for idiopathic scoliosis. *Ortop Traumatol Rehabil.* 2009; 11(5): 427-432.

27. Nikolaev VF, Baranovskaya IA, Andrievskaya AO. Results of using a functional corrective Cheneau type brace in complex rehabilitation of children and teenagers with idiopathic scoliosis. *Genij Ortopedii*. 2019; 25(3): 368-377. doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-3-368-377. (In Russ.)

28. Pinchuk D, Dudin M, Bekshayey S, Pinchuk O. Peculiarities of brain functioning in children with adolescence idiopathic scoliosis (AIS) according to EEG studies. *Studies in Health Technology and Informatics*. 2012; 176: 87-90.

29. Wang D, Shi L, Chu WCW, Burwell RG, Cheng JCY, Ahuja AT. Abnormal cerebral cortical thinning pattern in adolescent girls with idiopathic scoliosis. *NeuroImage*. 2012; 59(2): 935-942. doi: 10.1016/j.neuroimage.2011.07.097

30. Sahgal V, Shah A, Flanagan N, Schaffer M, Kane W, Subramani V, et al. Morphologic and morphometric studies of muscle in idiopathic scoliosis. *Acta Orthop Scand.* 1983; 54: 242-251. doi: 10.3109/17453678308996564

31. Wajchenberg M, Martins DE, Luciano R de P, Puertas EB, Del Curto D, Schmidt B, et al. Histochemical analysis of paraspinal rotator muscles from patients with adolescent idiopathic scoliosis: A cross-sectional study. *Medicine.* 2015; 94(8): e598. doi: 10.1097/MD.0000000000000598

32. Dudin MG, Pinchuk DYu. *Idiopathic scoliosis: diagnosis, pathogenesis*. St. Petersburg: Chelovek; 2009. (In Russ.)

33. Sharma S, Londono D, Eckalbar WL, Gao X, Zhang D, Mauldin K, et al. A PAX1 enhancer locus is associated with susceptibility to idiopathic scoliosis in females. *Nat Commun*. 2015; 6: 6452. doi: 10.1038/ncomms7452

34. Zhu Z, Tang NL, Xu L, Qin X, Mao S, Song Y, et al. Genome-wide association study identifies new susceptibility loci for adolescent idiopathic scoliosis in Chinese girls. *Nat Commun*. 2015; 6: 8355. doi: 10.1038/ncomms9355

35. Lupandina-Bolotova GS, Taybulatov NI, Ignatov DA, Namazova-Baranova LS, Polyakov SD, Perevozchikova YP. Functional disorders in the spine deformations and methods for their correction. *Voprosy sovremennoi pediatrii – Current Pediatrics*. 2015; 14(2): 201-206. doi: 10.15690/vsp.v14i2.1287. (In Russ.)

36. Yarom R, Robin GC. Muscle pathology in idiopathic scoliosis. *Isr J Med Sci.* 1979; 15: 917-924.

37. Luciano RdP, Puertas EB, Martins DE, Faloppa F, Del Curto D, Reis LM, et al. Adolescent idiopathic scoliosis without limb weakness: A differential diagnosis of core myo-pathy? *BMC Musculoskelet Disord*. 2015; 16: 179. doi: 10.1186/s12891-015-0629-8

38. Shchurova EN, Sajfutdinov MS, Dolganova TI, Ahmedova MA. Study of sensory system features of children and adolescents with congenital scoliosis. *Sovremennye problemy nauki I obrazovaniya.* 2020; 5. doi: 10.17513/spno.30164. (In Russ.)

39. Sampiev MT, Laka AA, Zagorodnij NV. *Scoliosis*. Moscow: GEOTAR-Media; 2008. doi: 10.18019/1028-4427-2018-24-3-365-374. (In Russ.)

Сведения об авторах

Щурова Елена Николаевна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник научной лаборатории Клиники патологии позвоночника и редких заболеваний, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, e-mail: elena.shurova@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-0816-1004

Сайфутдинов Марат Саматович – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник научной лаборатории Клиники патологии позвоночника и редких заболеваний, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, e-mail: maratsaif@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-7477-5250

Долганова Тамара Игоревна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник научной лаборатории коррекции деформаций и укорочения конечностей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, e-mail: dti025fd@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-0117-3451

Ахмедова Мехрибан Ахмедовна – аспирант, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, e-mail: marina.ahmedova.90@mail.ru

Горбач Алина Павловна – аспирант, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова» Минздрава России, e-mail: alinatomilova@mail.ru

Information about the authors

Elena N. Shchurova – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Clinical Laboratory of the Clinic of Spine Pathology and Rare Diseases, National Ilizarov Medical Research Centre for Orthopaedics and Traumatology, e-mail: elena.shurova@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-0816-1004

Marat S. Saifutdinov – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Clinical Laboratory of the Clinic of Spine Pathology and Rare Diseases, National Ilizarov Medical Research Centre for Orthopaedics and Traumatology, e-mail: maratsaif@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-7477-5250

Tamara I. Dolganova – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Scientific and Clinical Laboratory for Deformity Correction and Lengthening, National Ilizarov Medical Research Centre for Orthopaedics and Traumatology, e-mail: dti025fd@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-0117-3451

Mekhriban A. Akhmedova – Postgraduate, National Ilizarov Medical Research Centre for Orthopaedics and Traumatology, e-mail: marina.ahmedova.90@mail.ru

Alina P. Gorbach – Postgraduate, National Ilizarov Medical Research Centre for Orthopaedics and Traumatology, e-mail: alinatomilova@mail.ru

Статья получена: 26.01.2021. Статья принята: 12.04.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 26.01.2021. Accepted: 12.04.2021. Published: 15.06.2021.

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.19

Клеточные технологии в регенерации сухожилий: 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

Травмы и дегенеративные изменения сухожилий являются распространёнными повреждениями опорно-двигательного аппарата. Из-за гиповаскулярной природы сухожилие имеет ограниченную естественную способность к восстановлению. При стандартном хирургическом лечении целостность повреждённого сухожилия восстанавливается, однако в большинстве случаев происходит формирование соединительнотканного рубца, нарушающего структурную и механическую функциональность. Недостаточная эффективность традиционного лечения требует поиска альтернативных способов восстановления повреждённых сухожильных тканей. В данной статье обсуждаются новые, эффективные возможности улучшения лечения повреждённых сухожилий с применением клеточных технологий, где одним из основных направлений является применение мезенхимальных стволовых клеток. Благодаря мезенхимальным стволовым клеткам происходит сдвиг от профиброзных и провоспалительных реакций клеток к прорегенеративным. Стволовые клетки, являясь мультипотентными и обладая, в том числе, теногенным потенциалом, считаются перспективным материалом для восстановления повреждённых сухожилий. Также в статье описываются источники прогениторных сухожильных клеток: сухожильные пучки, перициты, основными маркерами которых являются Scx, Mkx – белки суперсемейства факторов транскрипции и Tnmd – трансмембранный гликопротеин.

Рассмотрены ростовые факторы, которые не только усиливают пролиферативную активность мезенхимальных стволовых клеток, но и способствуют экспрессии теногенных генов in vitro, а также выработке коллагена типа I, необходимого для формирования сухожилий. Наряду с ростовыми факторами представлен морфогенетический белок BMP14, усиливающий пролиферацию мезенхимальных стволовых клеток, а также способствующий направленной теногенной дифференцировке данных клеток, подавляя адипогенный и хондрогенный потенциалы.

В последние годы мезенхимальные стволовые клетки применяют как отдельно, так и в сочетании с различными ростовыми факторами и разнообразными трёхмерными конструкциями, обеспечивающими взаимодействие всех типов клеток.

Обсуждаются вопросы новейшей технологии 3D-биопечати, позволяющей изготовить тканеподобные структуры для замены повреждённых тканей, органов. Технология 3D-биопечати способна осуществлять точный пространственно-временной контроль распределения клеток, факторов роста, малых молекул, лекарственных препаратов и биологически активных веществ.

Ключевые слова: *клеточные технологии, регенерация сухожилия, мезенхимальные стволовые клетки, репарация, травматология, 3D-биопечать*

Для цитирования: Дремина Н.Н., Трухан И.С., Шурыгина И.А. Клеточные технологии в регенерации сухожилий: от клетки до тканевой инженерии. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 165-175. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.19.

Cellular Technologies in Traumatology: From Cells to Tissue Engineering

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

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

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

Abstract

Injuries and degenerative changes of tendons are common damages of the musculoskeletal system. Due to its hypovascular character the tendon has a limited natural ability to recover. For typical surgical treatment, the tendon integrity is restored, but in most cases, there occurs formation of the connective tissue scar resulting in structural and mechanical functionality disruption. The insufficient effectiveness of traditional therapy methods requires the search for alternative ways to restore damaged tendon tissues. This article discusses new effective methods for improving the treatment that base on the use of cellular technologies among which one of the main directions is mesenchymal stem cell application. Due to mesenchymal stem cells, there is a shift from pro-fibrotic and pro-inflammatory reactions of cells to pro-regenerative ones. Stem cells being multipotent and having among other things tenogenic potential are considered a promising material for repairing damaged tendons. The article also describes the sources of progenitor tendon cells including the tendon bundles and pericytes the main markers of which are Scx and Mkx that are proteins of the transcription factor superfamily, and Tnmd that is transmembrane glycoprotein.

The growth factors that not only enhance the proliferative activity of mesenchymal stem cells but also promote in vitro tenogenic genes expression as well as the collagen I type production what is necessary for tendon formation are considered. Along with growth factors, the morphogenetic protein BMP14 is presented, this protein increases the mesenchymal stem cell proliferation and contributes directed tenogenic differentiation of these cells, suppressing their adipogenic and chondrogenic potentials.

In recent years, mesenchymal stem cells have been used both separately and in combination with various growth factors and different three-dimensional structures providing the interaction with all of the cell types.

The issues of the latest 3D-bioprinting technology allowing to make tissue-like structures for replacement damaged tissues and organs are discussed. 3D-bioprinting technology is known to allow acting exact spatio-temporal control of the distribution of cells, growth factors, small molecules, drugs and biologically active substances.

Key words: *cell technologies, mesenchymal stem cells, reparation, traumatology, tendon, 3D-bioprinting*

For citation: Dremina N.N., Trukhan I.S., Shurygina I.A. Cellular Technologies in Traumatology: From Cells to Tissue Engineering. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 166-175. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.19.

ВВЕДЕНИЕ

Повреждения сухожилий и связок, возникающие при травмах и дегенеративных нарушениях, составляющих до 45 % всех травм опорно-двигательного аппарата [1, 2, 3], часто приводят к необратимым последствиям и инвалидизации не только пожилых людей, но и трудоспособного населения [4]. Терапевтическое лечение в этом случае не является эффективным, так как ухудшаются биомеханические свойства повреждённых сухожилий и связок, с последующим выраженным болевым синдромом [5]. Хирургическое лечение до сих пор остаётся ведущим методом устранения разрыва сухожилия и физически восстанавливает повреждённые ткани. Однако восстановленная таким образом ткань не обладает способностью к регенерации до состояния, предшествующего травме. Вместо этого заживление происходит с образованием рубца, что ставит под угрозу дальнейшую механическую и структурную функциональность сухожилия [6]. Из-за гиповаскулярной природы заживление происходит медленно и часто не полностью, поэтому риск повторного разрыва сухожилия или связки остаётся высоким [7, 8, 9]. Перспективным направлением в регенерации повреждённых сухожилий является применение клеточных технологий. В данной обзорной статье обобщены современные достижения тканевой инженерии сухожилий, рассмотрены различные, используемые в настоящее время, материалы и способы их применения для восстановления повреждённых сухожилий, как у животных, так и у человека.

ТРАНСПЛАНТАТЫ В РЕГЕНЕРАЦИИ СУХОЖИЛИЙ

Для изучения регенерации сухожилий проведён ряд исследований, где использовали такие материалы, как аутотрансплантаты [4, 10], аллотрансплантаты [11], ксенотрансплантаты [12] и синтетические материалы. Однако предлагаемые методы имели негативные последствия или отсутствие ожидаемого эффекта.

Так, при использовании подслизистой оболочки свиной кишки, по оценке клинических результатов, скорость репарации вращательной манжеты плеча не увеличилась, и данный метод посчитали неэффективным [13]. В других исследованиях отмечалось неполное заживление, меньший диапазон движений, послеоперационное воспаление, повторный разрыв и высокая частота осложнений [13]. Некоторые авторы указывали также на высокие уровни ДНК, присутствующие в матрице трансплантата [13]. В результате иммуногенности и плохих результатов использование ксеногенного трансплантата, изготовленного из слизистой оболочки тонкой кишки свиньи, не рекомендуется [12].

Ксенотрансплантат ZCR (Zimmer Collagen Repair) – пластырь для восстановления коллагена, представляющий собой бесклеточный лист из свиной дермы, демонстрировал неоднозначные результаты. В первой группе пациентов отмечалось значительное снижение послеоперационной боли, увеличение силы и диапазона движений, однако исследование не включало контрольную группу для оценки результатов по сравнению с традиционным восстановлением сухожилия. В другой группе исследования с использованием ZCR отмечались неудовлетворительные клинические результаты: наличие воспалительных реакций абсолютно у всех пациентов, а также признаки распада трансплантата, некроза тканей и повторного разрыва; однако пациенты были в возрасте от 71 до 82 лет, что снижало вероятность успешной интеграции трансплантата и выживаемости из-за неоптимального качества тканей у пожилых людей. Поэтому не существует единого мнения относительно надёжности ZCR [12].

При использовании аллотрансплантата матрикса кожи человека, наблюдалось снижение болевого синдрома, некоторое улучшение диапазона движений, увеличение силы и субъективных функциональных результатов. Но ожидаемого функционального восстановления при этом не выявлено [14].

По мнению Vincenzo Condello с коллегами (2019), для ревизионной реконструкции передней крестообразной связки применение аллоткани является более выгодным вариантом, так как использование аутотрансплантата может привести к выраженному болевому синдрому донорского участка, нестабильности, а также в тех случаях, когда имеются клинические и рентгенологические признаки дегенерации аутологичных сухожилий [11]. Такого же мнения придерживается и Patrick Smith с коллегами (2019), считающие, что использование аутотрансплантата сухожилия надколенника связано со значительными осложнениями и ранним началом остеоартроза коленного сустава. Они считают, что новый аллотрансплантат сухожилия четырёхглавой мышцы с синтетической аугментацией или внутренняя скоба QTIB (quadriceps tendon internal brace) в сочетании с богатой тромбоцитами плазмой имеет потенциальные преимущества для реконструкции передней крестообразной связки [15, 16]. Однако некоторые исследователи считают, что успех зависит от таких факторов, как выбор пациента, хирургической техники с учётом сопутствующих поражений, а также послеоперационной реабилитации. В то время как выбор трансплантата вторичен и не является ключом к успеху [17].

Сложными в реконструкции остаются повреждения сгибателей пальцев рук, восстановление которых проходит в несколько этапов. Хирурги предлагают такие операции, как тенодез, заведомо ограничивающий определенные виды движения в суставе даже при использовании периферических отрезков собственных сухожилий, или артродез, после которого подвижность в суставе утрачивается [18]. Сообщается также, что интрасиновиальные трансплантаты сгибателей пальцев кисти и сгибателей пальцев ног имеют лучшие морфологические и функциональные характеристики, чем экстрасиновиальные трансплантаты, использование которых приводит к большему образованию спаек. Однако нет клини-

ческих доказательств, которые чётко демонстрируют превосходство интрасиновиальных трансплантатов над экстрасиновиальными, что подразумевает дальнейшие исследования в этом направлении.

Синтетические трансплантаты изготавливаются из различных химических соединений и состоят из полимеров, изготовленных из полиэстера, полипропилена, полиакриламида, лавсана, углерода, кремния или нейлона. Исследования показали, что синтетические трансплантаты механически прочнее биологических и стабильны по качеству. Однако проблемы биосовместимости остаются актуальными, поскольку реакции, вторичные по отношению к размещению синтетических инородных тел, увеличивают риск инфекции, нестабильности, а также различных осложнений в виде синовита, остеолиза и остеоартрита [12].

РЕГЕНЕРАТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ КЛЕТОК ПРИ ПОВРЕЖДЕНИЯХ СУХОЖИЛИЙ

После травмы заживление тканей обычно происходит в непрерывном процессе, состоящем из стадий: начальной воспалительной инфильтративной реакции, при которой воспалительные клетки играют решающую роль в тендинопатиях и заживлении сухожилий; затем следует фибробластическая стадия и длительная фаза ремоделирования сухожилия. Часто заживление тканей связано с профиброзным сценарием, который приводит к образованию рубцов, а не к нормальной регенерации тканей [19, 20].

Заживление сухожилий без образования фиброзного рубца в настоящее время представляет большой интерес для исследователей и врачей всего мира. Учитывая отсутствие стандартизированных протоколов и маркеров теногенной дифференцировки, выбор идеального источника клеток представляет собой серьёзную проблему при попытке проведения эффективной клеточной терапии. Наиболее перспективным направлением при этом является применение мезенхимальных стволовых клеток (МСК), обладающих высокой скоростью клеточной пролиферации, способностью к мультипотентной дифференцировке и представляющих собой материал для замещения повреждённых структур [21, 22]. Использование МСК в регенеративной медицине, и в регенерации повреждённых сухожилий в частности, даёт надежду повлиять на восстановительный процесс и перенаправить клеточный потенциал от провоспалительных и профиброзных к прорегенеративным клеточным реакциям, что в свою очередь уменьшит инфильтративную фазу воспаления и будет способствовать упорядоченному отложению компонентов внутриклеточного матрикса.

Сегодня МСК могут применяться как в аутологичных, так и в аллогенных условиях и могут быть получены из сухожильных или несухожильных тканей. Стволовые клетки сухожилий часто получают в виде гетерогенной популяции стволовых и прогениторных клеток, где сухожильные стволовые клетки составляют 1–4 % от общего числа ядросодержащих клеток в сухожильных тканях [23].

Вырастить **сухожилия** *in vitro* впервые удалось в 2004 г. Sarah Calve с коллегами. Прогениторные клетки были получены непосредственно из ахиллова сухожилия крыс, которые затем культивировали до образования монослоя. Полученная таким образом ткань состояла из коллагеновых фибрилл, большого количества внеклеточного матрикса, что в целом характеризовало ткань как эмбриональное сухожилие. Предел прочности при растяжении был равен пределу прочности эмбрионального сухожилия цыплёнка, примерно 2 МПа. Эти физические и механические свойства указывают на то, что полученная ткань является первым жизнеспособным сухожилием, выращенным *in vitro* [24].

Клетки, которые дают начало сухожилиям, когда-то считались однородными и отличались в основном фибробластической морфологией и расположением. В последние годы предполагают наличие различных популяций внутри резидентных клеток. Прогениторные клетки сухожилий преимущественно находятся в сухожильных пучках I и II порядка, а также в соединительной ткани, разделяющей сухожильные пучки II порядка – эндотенонии и наружной оболочки сухожилия – эпитенонии [25]. Сравнительные исследования *in vitro* клеток сухожилия, полученных из сухожильных пучков и эпитенония, показывают, что, хотя обе популяции содержат прогениторные клетки сухожилия, клетки эпитенония обладают меньшей колониеобразующей способностью по сравнению с клетками, полученными из сухожильного пучка. Кроме того, сухожильные клетки из эндотенона экспрессировали маркер стволовых клеток Sca-1, а также маркеры фибробластов CD90.2 и CD44 по сравнению с клетками из эпитенона. Также они демонстрировали более высокие уровни экспрессии теногенных маркеров: Scx (Scleraxis) – фактора транскрипции, который экспрессируется у эмбриональных предшественников и остаётся экспрессированным на постнатальных стадиях; гликопротеина Tnmd (Теномодулин) по сравнению с предшественниками из эпитенонов [26]. Другие маркеры сухожилий включают транскрипционные факторы Mohawk (Mkx) [27], белки раннего ответа роста 1 и 2 (Egr1, Egr2) [28]. Кроме того, ключевые компоненты внеклеточного матрикса, такие как коллаген I типа a1 (Col1a1) и декорин, часто используются в качестве маркеров для дифференцированных клеток сухожилия.

Наряду с этим перициты также могут служить источником предшественников эпитенона. Несмотря на то, что сухожильные пучки считаются аваскулярными, кровеносные сосуды, поставляющие питательные вещества, присутствуют. Полученные из сухожильных пучков клетки в большей степени экспрессируют сосудистые и перицитарные маркеры, такие как эндомуцин (Emcn), Musashi1 (Msi1), CD133 и нестин (Nes) [29].

При культивировании полученных прогениторных клеток сухожилия одним из основных недостатков является фенотипическое изменение на более поздних пассажах: снижается скорость пролиферации, продукции внеклеточного матрикса и экспрессия маркеров [30]. Однако известно, что в эмбриональных стволовых клетках и стволовых клетках костного мозга гипоксия способствует пролиферации при одновременном снижении спонтанной дифференцировки и апоптоза, что успешно было применено и к сухожильным клеткам [31].

Усиливают пролиферативную активность и ростовые факторы, такие как фактор роста соединительной ткани (CTGF), тромбоцитарный фактор роста BB (PDGFBB), основной фактор роста фибробластов (FGFb) и инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF1). В некоторых случаях применение этих факторов индуцировало экспрессию теногенных генов in vitro. Немаловажную роль играют

фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и фактор роста гепатоцитов (HGF), ускоряющие клеточную пролиферацию и выработку коллагена типа I [32, 33, 34]. Однако применение нескольких ростовых факторов может приводить к неожиданным эффектам. Так, PDGFBB в сочетании с IGF1 снижает экспрессию теногенных маркеров [35].

Для индуцирования тканеспецифической дифференцировки прибегают к активации или ингибированию сигнальных путей. Для развития сухожилий это сигнальный путь Tgfβ [36]. Морфогенетический белок BMP14 повышает экспрессию Scx при одновременном снижении адипогенного и хондрогенного потенциала, также увеличивает пролиферацию клеток и содержание матрикса в зависимости от времени и дозы. Индуцированию теногенной дифференцировки и образованию неосухожилий способствует также одноосная механическая нагрузка, которая ещё и предотвращает фенотипические изменения.

ПРИМЕНЕНИЕ МСК ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ СУХОЖИЛИЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Многочисленные успешные эксперименты с использованием МСК для восстановления повреждённых сухожилий подтверждают эффективность применения данных клеток. В эксперименте с повреждённым сухожилием сгибателя задней лапы у новозеландских кроликов после операции были введены аутологичные стволовые клетки, выделенные из жировой ткани. Спустя 4 недели выявлено, что сухожилия имеют большую площадь сечения, меньшую жёсткость и меньшую предельную растягивающую нагрузку в сравнении с животными, которым МСК не вводили. В данном эксперименте пришли к выводу, что МСК успешно участвуют в дифференцировке теноцитов на ранних стадиях регенерации и вносят значительный вклад в дальнейшую реконструкцию сухожилий [8]. Однако увеличение площади поперечного сечения может ухудшить движение сухожилия впоследствии, а также в данном эксперименте не проведены гистологическая или функциональная оценки, что подразумевает дальнейшие исследования.

Благоприятное воздействие стволовых клеток из жировой ткани подтвердили и другие исследователи, показавшие, что местное введение стволовых клеток способно улучшить функцию мышц и заживление сухожилий, а также уменьшить жировую инфильтрацию после восстановления вращательной манжеты плеча [37, 38].

Образование неосухожильной ткани наблюдали Ming Ni с коллегами (2013). Полученная ими *in vitro* незрелая рыхлая и дезорганизованная структура из теноцитов и внеклеточного матрикса подкожно имплантирована экспериментальным животным. В течение последующих 12 недель происходило образование неосухожильной ткани со зрелыми и выровненными коллагеновыми фибриллами [39].

Таким образом, терапия на основе стволовых клеток является перспективным направлением для восстановления и регенерации тканей, в том числе при травмах и дегенеративных нарушениях сухожилий и связок.

3D-КУЛЬТИВИРОВАНИЕ

Для восстановления повреждённых сухожильных тканей наряду с введением непосредственно МСК, в последнее время все чаще прибегают к созданию трёхмерных конструкций. 3D-культивирование включает не только взаимодействие различных типов клеток, но и взаимодействие клеток с различными биоматериалами, а также позволяет получать клетки со специализированными свойствами для реконструкции органов и тканей. Современные трёхмерные методы культивирования клеток основаны на органоидах, инкапсуляции клеток на гидрогелях или выращивании клеток на каркасах вместо плоских поверхностей. Органоиды – трёхмерные многоклеточные тканевые конструкции, которые способны расти в гелях и в суспензии, образуя органоподобные структуры [40]. Клеточная инкапсуляция обеспечивает выживание клеток и отложение внеклеточного матрикса, позволяя при этом анализировать сложные клеточные взаимодействия [41]. С другой стороны, каркасы обеспечивают удобную поддержку клеток благодаря своей пористости, облегчая транспортировку кислорода, питательных веществ и продуктов метаболизма [42]. Эти системы более близки к физиологическим характеристикам тканей, обеспечивая структурную прочность на растяжение, клеточную адгезию, полярность, миграцию и пролиферацию.

В качестве биоразлагаемых полимерных каркасов используют различные макропористые микроносители, которые различаются по составу, типу покрытия и способу получения. Они могут быть белковыми (коллаген, фибрин, эластин, желатин, полимеры на желатиновой основе) и полисахаридными (хитозан, гиалуроновая кислота, агар, декстран, альгинат), обеспечивая культивируемым клеткам необходимое микроокружение для создания и улучшения межклеточных взаимодействий, регуляторных систем и стимулируя клеточную пролиферацию [43]. Также микроносители должны соответствовать таким критериям, как отсутствие токсичности, обладать свойствами улучшения адгезии, фиксации и дифференцировки клеток, быть механически прочными и способными к своевременной биорезорбции естественным путём [44, 45]. А с точки зрения пористости, рекомендуемый размер пор для роста капилляров составляет 50 мкм, а для роста, например, новых остеонов в порах необходим размер 200 мкм.

При 3D-культивировании клетки прикрепляются к поверхности частиц микроносителя, пролиферируют, образуя монослой на каждой частице. Впервые об этом методе сообщили в 2001 г. R. Quarto с коллегами, которые использовали культивированные МСК костного мозга в сочетании с гидроксиапатитовыми блоками для заполнения больших костных дефектов (4–7 см), успешно провели хирургическое лечение нескольких пациентов и подтвердили заживление дефектов [46, 47].

Для восстановления повреждённых связок в последнее время широко используют фибриновые гели, коллагеновые гидрогели, инженерные плёнки сухожильного матрикса, которые не только индуцируют теногенную дифференцировку in vitro, но и являются успешным средством доставки стволовых клеток к месту сухожильного дефекта *in vivo*. Даже в отсутствии динамической циклической нагрузки линейная 3D-среда и одноосное статическое натяжение достаточны для ориентирования стволовых клеток вдоль оси натяжения, что приводит к выравниванию отложения коллагена и повышению регуляции маркеров сухожилий. А дополнительная обработка ростовыми факторами, макромолекулами

усиливает теногенную дифференцировку и улучшает последующее заживление после имплантации конструкции [1, 48].

Потенциалом для имитации структуры нативной ткани наряду с желаемыми механическими свойствами обладают многослойные композитные каркасы, в которых электроспановая нановолокнистая подложка была покрыта тонким слоем клеточного гидрогеля. Вся композиция конструкции была оптимизирована для достижения адекватных механических и физических свойств, а также жизнеспособности и пролиферации клеток. МСК дифференцировали добавлением костного морфогенетического белка 12 (BMP-12). Чтобы имитировать естественную функцию сухожилий, клеточные каркасы подвергались механической стимуляции с помощью специально изготовленного биореактора. Синергетический эффект механической и биохимической стимуляции наблюдался с точки зрения повышения жизнеспособности клеток, пролиферации, выравнивания и теногенной дифференцировки. Полученные результаты позволили предположить, что предложенные конструкции могут быть использованы для конструирования функциональных сухожилий [49].

Несмотря на успешные работы, традиционные тканеинженерные методы, основанные на посеве клеток в скаффолд, не могут создать конструкцию, чтобы точно контролировать внутреннюю структуру, распределение клеток и микроокружение, что ограничивает их дальнейшее применение [50].

3D-БИОПЕЧАТЬ

Сегодня существует новейшая технология 3D-биопечати, которая использует комбинации 3D-печати, тканевой инженерии, биологии развития и регенеративной медицины для создания биомиметических тканей. Данная технология использует послойный способ депонирования биоматериалов для изготовления тканеподобных структур в областях тканевой инженерии и является перспективной альтернативой изготовлению 3D-функциональных тканевых конструкций с геометрически определенными структурами, которые предназначены для замены или регенерации повреждённых тканей или органов, таких как печень, кости, кожа, печень, хрящи, нервы и сердце [51]. В частности, по сравнению с традиционными подходами на основе скаффолдов, технология 3D-биопечати может точно контролировать сложную 3D-архитектуру, множественные композиции и пространственные распределения, а также способна направлять формирование тканей для лечения пациента путём точного пространственно-временного контроля распределения клеток, факторов роста, малых молекул, лекарственных препаратов и других биологически активных веществ. Так, в эксперименте были изготовлены 3D-печатные трёхслойные каркасы с пространственно поставляемыми ростовыми факторами CTGF, CTGF + TGFβ3 и BMP2, где CTGF является мощным теногенным сигналом, а комбинация CTGF и TGFβ3 – индукторами фиброзно-хрящевой дифференцировки МСК. Конструкция была имплантирована на границе между сухожилием и костью в модели репарации сухожилия надостной мышцы (*supraspinatus*) крысы. Дальнейшее гистологическое исследование показало образование богатой коллагеном ткани на границе «сухожилие – кость», при этом коллагеновая структура была хорошо организована, по внешнему виду напоминала нативное сухожилие в отличие от группы животных без добавления в конструкцию ростовых факторов, у которых волокнистые структуры были нарушены, и дифференцировка МСК пошла по пути образования фиброзного рубца [52].

Процедура 3D-биопечати включает строго определенные этапы. Для полученной на компьютерной томографии ткани-мишени выполняют точное проектирование и реконструкцию 3D-функциональных тканей с помощью модели автоматизированного проектирования. Далее создаётся дизайн, подбор необходимых биоматериалов и печать на биопринтере [53]. На последнем этапе происходит созревание тканей или органов в перфузионных биореакторах, имитирующих окружающую среду и стимулы естественных тканей. В это время печатные структуры агрегируют, образуя более крупные непрерывные структуры. Кроме того, 3D-биопечать ткани может быть выполнена на месте, и в этом случае биореактором служит человеческое тело.

Для печати живых клеток используют также адаптированный струйный принтер, который создаёт тканеподобные структуры со сложной иерархической архитектурой за счёт использования контролируемого капельного осаждения, а также для создания индивидуальных тканеинженерных систем с сосудистыми сетями [54, 55, 56]. Преимуществом струйной биопечати является высокая скорость, доступность по цене и высокое разрешение, а ограничением – возможность использования только низковязких биоматериалов. Для повышения структурной стабильности трёхмерных тканевых конструкций необходима дополнительная стадия сшивания в процессе струйной биопечати.

Лазерная биопечать точно депонирует биоматериал в трёхмерном пространственном расположении с помощью источника энергии лазерного излучения, который является высоко монохроматичным, сфокусированным и когерентным [57].

Для изготовления масштабных тканеинженерных конструкций из биоматериалов различной вязкости и однородном распределении клеток используют экструзионную биопечать, которая способна также печатать клетки и ткани с определенным сохранением активности, но с более низкой скоростью [50]. А благодаря нескольким имеющимся экструзионным соплам данная технология печати является перспективной в изготовлении васкуляризированных конструкций с несколькими типами клеток. Именно отсутствие сосудов в 3D-культурах ранее считалось огромной проблемой, ведь васкуляризация играет существенную роль в успешной инженерии тканевых конструкций. Построение сосудистых сетей в трёхмерных тканеинженерных костных конструкциях является критической задачей в поддержании жизнеспособности клеток. В настоящее время для улучшения роста сосудистых сетей и усиления остеогенного потенциала в трёхмерных тканеинженерных костных конструкциях используется множество подходов, которые включают предварительную обработку МСК гипоксией [58], использование несколько типов сосудистых клеток, агрегированных в виде многоклеточных сфероидов сосудистой ткани [59], добавление в трёхмерную конструкцию необходимых ростовых факторов. Из-за короткого периода полураспада факторы роста быстро элиминируются,

что приводит к недостаточному их количеству. Таким образом, контролируемое длительное высвобождение факторов роста необходимо для формирования сосудов в конструкциях костной ткани.

Одним из ключевых элементов при 3D-биопечати считается выбор типа клеток, которые должны обладать способностью пролиферировать и имитировать физиологическое состояние клеток *in vivo* и *in vitro*. В настоящее время различные типы клеток млекопитающих, такие как остеогенные, а также ангиогенные клетки, успешно используются для изготовления васкуляризированных тканеинженерных конструкций [60]. На сегодняшний день среди множества различных остеогенных клеток МСК являются наиболее используемыми клетками в 3D-биопринтинге для изготовления тканеинженерной ткани, благодаря их дифференцирующему потенциалу и способности к самообновлению. Кроме того, МСК очень чувствительны к микроокружению, включая химические, физические и биологические сигналы. Поэтому функция инкапсулированных стволовых клеток может регулироваться изменением среды биоматериала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Патология с вовлечением сухожилий и связок представляется одной из наиболее частых форм поражения опорно-двигательного аппарата. Традиционные методы лечения при этом не всегда эффективны. Учитывая недостатки, связанные с трансплантацией тканей, применение мезенхимальных стволовых клеток, являющихся мультипотентными и обладающими способностью к самообновлению, считается новым подходом к восстановлению и будет играть важную роль в будущем [61, 62]. Также новым перспективным подходом для восстановления повреждённых сухожилий является трёхмерная биопечать. Несмотря на отсутствие стандартного руководства для процесса 3D-биопечати сегодня, дальнейшие разработки в этой области в ближайшем будущем поднимут область регенерации костной, хрящевой и сухожильной тканей на новый уровень за счёт создания биомиметических васкуляризированных тканеинженерных конструкций.

Таким образом, тканевая инженерия, основанная на репаративном потенциале мезенхимальных стволовых клеток, доставляемых к месту повреждения сухожилия самостоятельно или в сочетании с биосовместимыми конструкциями или гелями, в зависимости от типа повреждения и стадии заболевания является наиболее перспективным направлением регенеративной медицины [8, 63, 64]. Однако отсутствие протоколов, а также неблагоприятные результаты некоторых исследований предполагают дальнейшее изучение применения мезенхимальных стволовых клеток в регенерации повреждённых сухожилий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Walia B, Huang AH. Tendon stem progenitor cells: Understanding the biology to inform therapeutic strategies for tendon repair. *J Orthop Res.* 2019; 37(6): 1270-1280. doi: 10.1002/jor.24156

2. Andarawis-Puri N, Flatow EL, Soslowsky LJ. Tendon basic science: Development, repair, regeneration, and healing. *J Orthop Res.* 2015; 33(6): 780-784. doi: 10.1002/jor.22869

3. Schneider M, Angele P, Järvinen TAH, Docheva D. Rescue plan for Achilles: Therapeutics steering the fate and functions of stem cells in tendon wound healing. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018; 129: 352-375. doi: 10.1016/j.addr.2017.12.016

4. Пономаренко Н.С., Куклин И.А., Монастырев В.В., Михайлов И.Н., Рудаков А.Н., Бубнов А.С. и др. Сравнение результатов хирургического лечения пациентов с повреждением пяточного сухожилия при диастазе II и III степени по Myerson с использованием сухожилия подошвенной мышцы. *Acta biomedica scientifica*. 2018; 3(3): 170-175. doi: 10.29413/ABS.2018-3.3.32

5. D'Addona A, Maffulli N, Formisano S, Rosa D. Inflammation in tendinopathy. *Surgeon*. 2017; 15(5): 297-302. doi: 10.1016/j.surge.2017.04.004

6. Ackerman JE, Studentsova V, Myers M, Buckley MR, Richards MS, Loiselle AE. Non-invasive ultrasound quantification of scar tissue volume identifies early functional changes during tendon healing. *J Orthop Res.* 2019; 37(11): 2476-2485. doi: 10.1002/jor.24397

7. Howell K, Chien C, Bell R, Laudier D, Tufa SF, Keene DR, et al. Novel model of tendon regeneration reveals distinct cell mechanisms underlying regenerative and fibrotic tendon healing. *Sci Rep.* 2017; 23(7): 45238. doi: 10.1038/srep45238

8. Santos AL, Silva CG, Barretto LSS, Franciozi CES, Tamaoki MJS, Almeida FG, et al. Biomechanical evaluation of tendon regeneration with adipose-derived stem cell. *J Orthop Res.* 2019; 37(6): 1281-1286. doi: 10.1002/jor.24182

9. Bonnin M, Lustig S, Huten D. Extensor tendon ruptures after total knee arthroplasty. *Orthop Traumatol Surg Res.* 2016; 102(1): 21-31. doi: 10.1016/j.otsr.2015.06.025

10. Леонова С.Н., Монастырев В.В., Пономаренко Н.С. Использование нового подхода к артроскопической аутопластике передней крестообразной связки при ее травматическом повреждении. *Политравма.* 2019; 4: 52-57.

11. Condello V, Zdanowicz U, Matteo BD, Spalding T, Gelber PE, Adravanti P, et al. Allograft tendons are a safe and effective option for revision ACL reconstruction: A clinical review. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2019; 27(6): 1771-1781. doi: 10.1007/s00167-018-5147-4

12. Gillespie RJ, Knapik DM, Akkus O. Biologic and synthetic grafts in the reconstruction of large to massive rotator cuff tears. *J Am Acad Orthop Surg.* 2016; 24(12): 823-828. doi: 10.5435/JAAOS-D-15-00229

13. Iannotti JP, Codsi MJ, Kwon YW, Derwin K, Ciccone J, Brems JJ. Porcine small intestine submucosa augmentation of surgical repair of chronic two-tendon rotator cuff tears. A randomized, controlled trial. *J Bone Joint Surg Am.* 2006; 88(6): 1238-1244. doi: 10.2106/JBJS.E.00524

14. Gupta AK, Hug K, Berkoff DJ, Boggess BR, Gavigan M, Malley PC, et al. Dermal tissue allograft for the repair of massive irreparable rotator cuff tears. *Am J Sports Med.* 2012; 40(1): 141-147. doi: 10.1177/0363546511422795

15. Smith PA, Stannard JP, Bozynski CC, Kuroki K, Cook CR, Cook JL. Patellar bone-tendon-bone autografts versus quadriceps tendon allograft with synthetic augmentation in a canine model. *J Knee Surg.* 2020; 33(12): 1256-1266. doi: 10.1055/s-0039-1695040

16. Galatz LM, Gerstenfeld L, Heber-Katz E, Rodeo SA. Tendon regeneration and scar formation: The concept of scarless healing. *J Orthop Res.* 2015; 33(6): 823-831. doi: 10.1002/jor.22853

17. Thaunat M, Fayard JM, Sonnery-Cottet B. Hamstring tendons or bone-patellar tendon-bone graft for anterior cruciate ligament reconstruction? *Orthop Traumatol Surg Res.* 2019; 105(1): 89-94. doi: 10.1016/j.otsr.2018.05.014

18. Samora JB, Klinefelter RD. Flexor tendon reconstruction. *J Am Acad Orthop Surg*. 2016; 24(1): 28-36. doi: 10.5435/jaaos-d-14-00195

19. Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Аюшинова Н.И., Каня О.В. Фибробласты и их роль в развитии соединительной ткани. *Сибирский медицинский журнал.* 2012; 110(3): 8-12.

20. Atala A, Irvine DJ, Moses M, Shaunak S. Wound healing versus regeneration: Role of the tissue environment in regenerative medicine. *MRS Bull.* 2010; 35(8): 10.1557/mrs2010.528. doi: 10.1557/mrs2010.528

21. MacLean S, Khan WS, Malik AA, Snow M, Anand S. Tendon regeneration and repair with stem cells. *Stem Cells Int.* 2012; 2012: 316281. doi: 10.1155/2012/316281

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

23. Costa-Almeida R, Calejo I, Gomes ME. Mesenchymal stem cells empowering tendon regenerative therapies. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(12): 3002. doi: 10.3390/ijms20123002

24. 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

25. Dyment NA, Hagiwara Y, Matthews BG, Li Y, Kalajzic I, Rowe DW. Lineage tracing of resident tendon progenitor cells during growth and natural healing. *PLoS One.* 2014; 9(4): 96113. doi: 10.1371/journal.pone.0096113

26. Docheva D, Hunziker EB, Fässler R, Brandau O. Tenomodulin is necessary for tenocyte proliferation and tendon maturation. *Mol Cell Biol.* 2005; 25(2): 699-705. doi: 10.1128/MCB.25.2.699-705.2005

27. Liu W, Watson SS, Lan Y, Keene DR, Ovitt CE, Liu H, et al. The atypical homeodomain transcription factor Mohawk controls tendon morphogenesis. *Mol Cell Biol.* 2010; 30(20): 4797-4807. doi: 10.1128/MCB.00207-10

28. Lejard V, Blais F, Guerquin MJ, Bonnet A, Bonnin MA, Havis E, et al. EGR1 and EGR2 involvement in vertebrate tendon differentiation. *J Biol Chem*. 2011; 286(7): 5855-5867. doi: 10.1074/jbc.M110.153106

29. Mienaltowski MJ, Adams SM, Birk DE. Regional differences in stem cell/progenitor cell populations from the mouse achilles tendon. *Tissue Eng Part A.* 2013; 19(1-2): 199-210. doi: 10.1089/ten.TEA.2012.0182

30. Yao L, Bestwick CS, Bestwick LA, Maffulli N, Aspden RM. Phenotypic drift in human tenocyte culture. *Tissue Eng.* 2006; 12(7): 1843-1849. doi: 10.1089/ten.2006.12.1843

31. Lavrentieva A, Majore I, Kasper C, Hass R. Effects of hypoxic culture conditions on umbilical cord-derived human mesenchymal stem cells. *Cell Commun Signal.* 2010; 8: 18. doi: 10.1186/1478-811X-8-18

32. Sampson S, Gerhardt M, Mandelbaum B. Platelet rich plasma injection grafts for musculoskeletal injuries: A review. *Curr Rev Musculoskelet Med.* 2008; 1(3-4): 165-174. doi: 10.1007/s12178-008-9032-5

33. Шурыгин М.Г., Шурыгина И.А., Дремина Н.Н. Влияние фактора роста эндотелия сосудов на уровень коллагенообразования в процессе развития постинфарктного кардиосклероза. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2008; 78(3): 53-55.

34. Дремина Н.Н., Шурыгина И.А., Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М. Влияние эндотелиального фактора роста на постинфарктное моделирование миокарда крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2009; 148(9): 330-336.

35. Caliari SR, Harley BAC. Composite growth factor supplementation strategies to enhance tenocyte bioactivity in aligned collagen-GAG scaffolds. *Tissue Eng Part A.* 2013; 19(9-10): 1100-1112. doi: 10.1089/ten.TEA.2012.0497

36. Pryce BA, Watson SS, Murchison ND, Staverosky JA, Dünker N, Schweitzer R. Recruitment and maintenance of tendon progenitors by TGFbeta signaling are essential for tendon formation. *Development*. 2009; 136(8): 1351-1361. doi: 10.1242/dev.027342

37. Oh JH, Chung SW, Kim SH, Chung JY, Kim JY. Neer Award: Effect of the adipose-derived stem cell for the improvement of fatty degeneration and rotator cuff healing in rabbit model. *J Shoulder Elbow Surg.* 2014; 23(4): 445-455. doi: 10.1016/j.jse.2013.07.054

38. Al-Ani MK, Xu K, Sun Y, Pan L, Xu Z, Yang L. Study of bone marrow mesenchymal and tendon-derived stem cells transplantation on the regenerating effect of Achilles tendon ruptures in rats. *Stem Cells Int.* 2015; 2015: 984146. doi: 10.1155/2015/984146

39. Ni M, Rui YF, Tan Q, Liu Y, Xu LL, Chan KM, et al. Engineered scaffold-free tendon tissue produced by tendon-derived stem cells. *Biomaterials*. 2013; 34(8): 2024-2037. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.11.046

40. Augustyniak J, Bertero A, Coccini T, Baderna D, Buzanska L, Caloni F. Organoids are promising tools for species-specific in vitro toxicological studies. *J Appl Toxicol.* 2019; 39(12): 1610-1622. doi: 10.1002/jat.3815

41. Diaz-Rodriguez P, Erndt-Marino J, Chen H, Diaz-Quiroz JF, Samavedi S, Hahn MS. A bioengineered in vitro osteoarthritis model with tunable inflammatory environments indicates context-dependent therapeutic potential of human mesenchymal stem cells. *Regenerative Engineering and Translational Medicine*. 2019; 5: 297-307.

42. Loh QL, Choong C. Three-dimensional scaffolds for tissue engineering applications: Role of porosity and pore size. *Tissue Eng Part B Rev*. 2013; 19(6): 485-502. doi: 10.1089/ten.TEB.2012.0437

43. Волкова И.М., Коровина Д.Г. Трёхмерные матриксы природного и синтетического происхождения для клеточной биотехнологии. *Биотехнология*. 2015; 31(2): 8-26.

44. Langer R, Vacanti J. Advances in tissue engineering. J Pediatr Surg. 2016; 51(1): 8-12. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2015.10.022

45. Zhang K, Fan Y, Dunne N, Li X. Effect of microporosity on scaffolds for bone tissue engineering. *Regen Biomater.* 2018; 5(2): 115-124. doi: 10.1093/rb/rby001

46. Quarto R, Mastrogiacomo M, Cancedda R, Kutepov SM, Mukhachev V, Lavroukov A. Repair of large bone defects with the use of autologous bone marrow stromal cells. *N Engl J Med*. 2001; 344(5): 385-386. doi: 10.1056/NEJM200102013440516

47. Marcacci M, Kon E, Moukhachev V, Lavroukov A, Kutepov S, Quarto R. Stem cells associated with macroporous bioceramics for long bone repair: 6- to 7-year outcome of a pilot clinical study. *Tissue Eng*. 2007; 13(5): 947-955. doi: 10.1089/ten.2006.0271

48. Zhang C, Zhang E, Yang L, Tu W, Lin J, Yuan C, et al. Histone deacetylase inhibitor treated cell sheet from mouse tendon stem/progenitor cells promotes tendon repair. *Biomaterials*. 2018; 172: 66-82. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.03.043

49. Rinoldi C, Fallahi A, Yazdi IK, Paras JC, Kijeńska-Gawrońska E, Santiago GT, et al. Mechanical and biochemical stimulation of 3D multilayered scaffolds for tendon tissue engineering. *ACS Biomater Sci Eng.* 2019; 5(6): 2953-2964. doi: 10.1021/acsbiomaterials.8b01647

50. Xing F, Xiang Z, Rommens PM, Ritz U. 3D bioprinting for vascularized tissue-engineered bone fabrication. *Materials (Basel)*. 2020; 13(10): 2278. doi: 10.3390/ma13102278

51. Zhang YS, Oklu R, Dokmeci MR, Khademhosseini A. Three-dimensional bioprinting strategies for tissue engineering. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2018; 8(2): 025718. doi: 10.1101/cshperspect.a025718

52. Tarafder S, Brito JA, Minhas S, Effiong L, Thomopoulos S, Lee CH. In situ tissue engineering of the tendon-to-bone interface by endogenous stem/progenitor cells. *Biofabrication*. 2019; 12(1): 015008. doi: 10.1088/1758-5090/ab48ca

53. Marques CF, Diogo GS, Pina S, Oliveira JM, Silva TH, Reis RL. Collagen-based bioinks for hard tissue engineering applications: A comprehensive review. *J Mater Sci Mater Med*. 2019; 30(3): 32. doi: 10.1007/s10856-019-6234-x

54. Li J, Chen M, Fan X, Zhou H. Recent advances in bioprinting techniques: Approaches, applications and future prospects. *J Transl Med*. 2016; 14: 271. doi: 10.1186/s12967-016-1028-0

55. Xu C, Chai W, Huang Y, Markwald RR. Scaffold-free inkjet printing of three-dimensional zigzag cellular tubes. *Biotechnol Bioeng*. 2012; 109(12): 3152-3160. doi: 10.1002/bit.24591

56. Lee VK, Lanzi AM, Haygan N, Yoo SS, Vincent PA, Dai G. Generation of multi-scale vascular network system within 3D hydrogel using 3D bio-printing technology. *Cell Mol Bioeng*. 2014; 7(3): 460-472. doi: 10.1007/s12195-014-0340-0

57. Keriquel V, Guillemot F, Arnault I, Guillotin B, Miraux S, Amédée J, et al. In vivo bioprinting for computer- and robotic-assisted medical intervention: Preliminary study in mice. *Biofabrication*. 2010; 2(1): 014101. doi: 10.1088/1758-5082/2/1/014101

58. Boyette LB, Creasey OA, Guzik L, Lozito T, Tuan RS. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells display enhanced clonogenicity but impaired differentiation with hypoxic preconditioning. *Stem Cells Transl Med*. 2014; 3(2): 241-254. doi: 10.5966/sctm.2013-0079

59. Norotte C, Marga FS, Niklason LE, Forgacs G. Scaffold-free vascular tissue engineering using bioprinting. *Biomaterials*. 2009; 30(30): 5910-5917. doi: 10.1016/j.biomaterials. 2009.06.034

60. Matai I, Kaur G, Seyedsalehi A, McClinton A, Laurencin CT. Progress in 3D bioprinting technology for tissue/organ regenerative engineering. *Biomaterials*. 2020; 226: 119536. doi: 10.1016/j.biomaterials.2019.119536

61. Snedeker JG, Foolen J. Tendon injury and repair – A perspective on the basic mechanisms of tendon disease and future clinical therapy. *Acta Biomater*. 2017; 63: 18-36. doi: 10.1016/j.actbio.2017.08.032

62. Leong NL, Kator JL, Clemens TL, James A, Enamoto-Iwamoto M, Jiang J. Tendon and ligament healing and current approaches to tendon and ligament regeneration. *J Orthop Res*. 2020; 38(1): 7-12. doi: 10.1002/jor.24475

63. Lui PP. Identity of tendon stem cells – how much do we know? *J Cell Mol Med*. 2013; 17(1): 55-64. doi: 10.1111/jcmm.12007

64. Qu SW, Xue YN, Li P, Zhou JD. Advances in the research of stem cell tissue-engineering. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*. 2020; 36(6): 510-515. doi: 10.3760/cma.j.cn501120-20190225-00039

REFERENCES

1. Walia B, Huang AH. Tendon stem progenitor cells: Understanding the biology to inform therapeutic strategies for tendon repair. *J Orthop Res*. 2019; 37(6): 1270-1280. doi: 10.1002/jor.24156

2. Andarawis-Puri N, Flatow EL, Soslowsky LJ. Tendon basic science: Development, repair, regeneration, and healing. *J Orthop Res*. 2015; 33(6): 780-784. doi: 10.1002/jor.22869

3. Schneider M, Angele P, Järvinen TAH, Docheva D. Rescue plan for Achilles: Therapeutics steering the fate and functions of stem cells in tendon wound healing. *Adv Drug Deliv Rev*. 2018; 129: 352-375. doi: 10.1016/j.addr.2017.12.016

4. Ponomarenko NS, Kuklin IA, Monastyrev VV, Mihajlov IN, Rudakov AN, Bubnov AS, et al. Comparison of the results of surgical treatment of patients with calcaneal tendon injury in Myerson grade II and III diastasis using the plantar muscle tendon. *Acta biomedica scientifica*. 2018; 3(3): 170-175. doi: 10.29413/ABS.2018-3.3.32. (In Russ.)

5. D'Addona A, Maffulli N, Formisano S, Rosa D. Inflammation in tendinopathy. *Surgeon*. 2017; 15(5): 297-302. doi: 10.1016/j.surge.2017.04.004

6. Ackerman JE, Studentsova V, Myers M, Buckley MR, Richards MS, Loiselle AE. Non-invasive ultrasound quantification of scar tissue volume identifies early functional changes during tendon healing. *J Orthop Res*. 2019; 37(11): 2476-2485. doi: 10.1002/jor.24397

7. Howell K, Chien C, Bell R, Laudier D, Tufa SF, Keene DR, et al. Novel model of tendon regeneration reveals distinct cell mechanisms underlying regenerative and fibrotic tendon healing. *Sci Rep*. 2017; 23(7): 45238. doi: 10.1038/srep45238

8. Santos AL, Silva CG, Barretto LSS, Franciozi CES, Tamaoki MJS, Almeida FG, et al. Biomechanical evaluation of tendon regeneration with adipose-derived stem cell. *J Orthop Res*. 2019; 37(6): 1281-1286. doi: 10.1002/jor.24182

9. Bonnin M, Lustig S, Huten D. Extensor tendon ruptures after total knee arthroplasty. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2016; 102(1): 21-31. doi: 10.1016/j.otsr.2015.06.025

10. Leonova SN, Monastyrev VV, Ponomarenko NS. Using a new approach to arthroscopic autoplasty of the anterior cruciate ligament in its traumatic injury. *Politravma*. 2019; 4: 52-57. (In Russ.)

11. Condello V, Zdanowicz U, Matteo BD, Spalding T, Gelber PE, Adravanti P, et al. Allograft tendons are a safe and effective option for revision ACL reconstruction: A clinical review. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2019; 27(6): 1771-1781. doi: 10.1007/s00167-018-5147-4

12. Gillespie RJ, Knapik DM, Akkus O. Biologic and synthetic grafts in the reconstruction of large to massive rotator cuff tears. *J Am Acad Orthop Surg*. 2016; 24(12): 823-828. doi: 10.5435/JAAOS-D-15-00229

13. Iannotti JP, Codsi MJ, Kwon YW, Derwin K, Ciccone J, Brems JJ. Porcine small intestine submucosa augmentation of surgical repair of chronic two-tendon rotator cuff tears. A randomized, controlled trial. *J Bone Joint Surg Am*. 2006; 88(6): 1238-1244. doi: 10.2106/JBJS.E.00524

14. Gupta AK, Hug K, Berkoff DJ, Boggess BR, Gavigan M, Malley PC, et al. Dermal tissue allograft for the repair of massive irreparable rotator cuff tears. *Am J Sports Med*. 2012; 40(1): 141-147. doi: 10.1177/0363546511422795

15. Smith PA, Stannard JP, Bozynski CC, Kuroki K, Cook CR, Cook JL. Patellar bone-tendon-bone autografts versus quadriceps tendon allograft with synthetic augmentation in a canine model. *J Knee Surg*. 2020; 33(12): 1256-1266. doi: 10.1055/s-0039-1695040

16. Galatz LM, Gerstenfeld L, Heber-Katz E, Rodeo SA. Tendon regeneration and scar formation: The concept of scarless healing. *J Orthop Res*. 2015; 33(6): 823-831. doi: 10.1002/jor.22853

17. Thaunat M, Fayard JM, Sonnery-Cottet B. Hamstring tendons or bone-patellar tendon-bone graft for anterior cruciate ligament reconstruction? *Orthop Traumatol Surg Res*. 2019; 105(1): 89-94. doi: 10.1016/j.otsr.2018.05.014

18. Samora JB, Klinefelter RD. Flexor tendon reconstruction. *J Am Acad Orthop Surg*. 2016; 24(1): 28-36. doi: 10.5435/jaaos-d-14-00195

19. Shurygina IA, Shurygin MG, Ayushinova NI, Kanya OV. Fibroblasts and their role in connective tissue development. *Sibirskij medicinskij zhurnal*. 2012; 110(3): 8-12. (In Russ.)

20. Atala A, Irvine DJ, Moses M, Shaunak S. Wound healing versus regeneration: Role of the tissue environment in regenerative medicine. *MRS Bull*. 2010; 35(8): 10.1557/mrs2010.528. doi: 10.1557/mrs2010.528

21. MacLean S, Khan WS, Malik AA, Snow M, Anand S. Tendon regeneration and repair with stem cells. *Stem Cells Int*. 2012; 2012: 316281. doi: 10.1155/2012/316281

22. Dremina NN, Trukhan IS, Shurygina IA. Cellular technologies in traumatology: From the cell to cellular engineering. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 66-76. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.8. (In Russ.)

23. Costa-Almeida R, Calejo I, Gomes ME. Mesenchymal stem cells empowering tendon regenerative therapies. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(12): 3002. doi: 10.3390/ijms20123002

24. 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

25. Dyment NA, Hagiwara Y, Matthews BG, Li Y, Kalajzic I, Rowe DW. Lineage tracing of resident tendon progenitor cells during growth and natural healing. *PLoS One*. 2014; 9(4): 96113. doi: 10.1371/journal.pone.0096113

26. Docheva D, Hunziker EB, Fässler R, Brandau O. Tenomodulin is necessary for tenocyte proliferation and tendon maturation. *Mol Cell Biol*. 2005; 25(2): 699-705. doi: 10.1128/MCB.25.2.699-705.2005

27. Liu W, Watson SS, Lan Y, Keene DR, Ovitt CE, Liu H, et al. The atypical homeodomain transcription factor Mohawk controls tendon morphogenesis. *Mol Cell Biol*. 2010; 30(20): 4797-4807. doi: 10.1128/MCB.00207-10

28. Lejard V, Blais F, Guerquin MJ, Bonnet A, Bonnin MA, Havis E, et al. EGR1 and EGR2 involvement in vertebrate tendon differentiation. *J Biol Chem*. 2011; 286(7): 5855-5867. doi: 10.1074/jbc.M110.153106

29. Mienaltowski MJ, Adams SM, Birk DE. Regional differences in stem cell/progenitor cell populations from the mouse achilles tendon. *Tissue Eng Part A*. 2013; 19(1-2): 199-210. doi: 10.1089/ten.TEA.2012.0182

30. Yao L, Bestwick CS, Bestwick LA, Maffulli N, Aspden RM. Phenotypic drift in human tenocyte culture. *Tissue Eng*. 2006; 12(7): 1843-1849. doi: 10.1089/ten.2006.12.1843

31. Lavrentieva A, Majore I, Kasper C, Hass R. Effects of hypoxic culture conditions on umbilical cord-derived human mesenchymal stem cells. *Cell Commun Signal*. 2010; 8: 18. doi: 10.1186/1478-811X-8-18

32. Sampson S, Gerhardt M, Mandelbaum B. Platelet rich plasma injection grafts for musculoskeletal injuries: A review.

Curr Rev Musculoskelet Med. 2008; 1(3-4): 165-174. doi: 10.1007/s12178-008-9032-5

33. Shurygin MG, Shurygina IA, Dremina NN. Effect of vascular endothelial growth factor on the level of collagen formation in the course of postinfarction cardiosclerosis. *Sibirskij medicinskij zhurnal (Irkutsk).* 2008; 78(3): 53-55. (In Russ.)

34. Dremina NN, Surygina IA, Lushnikova EL, Nepomnyashchih LM. Effect of endothelial growth factor on postinfarction modeling of rat myocardium. *Byulleten' eksperimental'noj biologii i mediciny*. 2009; 148(9): 330-336. (In Russ.)

35. Caliari SR, Harley BAC. Composite growth factor supplementation strategies to enhance tenocyte bioactivity in aligned collagen-GAG scaffolds. *Tissue Eng Part A.* 2013; 19(9-10): 1100-1112. doi: 10.1089/ten.TEA.2012.0497

36. Pryce BA, Watson SS, Murchison ND, Staverosky JA, Dünker N, Schweitzer R. Recruitment and maintenance of tendon progenitors by TGFbeta signaling are essential for tendon formation. *Development*. 2009; 136(8): 1351-1361. doi: 10.1242/dev.027342

37. Oh JH, Chung SW, Kim SH, Chung JY, Kim JY. Neer Award: Effect of the adipose-derived stem cell for the improvement of fatty degeneration and rotator cuff healing in rabbit model. *J Shoulder Elbow Surg.* 2014; 23(4): 445-455. doi: 10.1016/j.jse.2013.07.054

38. Al-Ani MK, Xu K, Sun Y, Pan L, Xu Z, Yang L. Study of bone marrow mesenchymal and tendon-derived stem cells transplantation on the regenerating effect of Achilles tendon ruptures in rats. *Stem Cells Int.* 2015; 2015: 984146. doi: 10.1155/2015/984146

39. Ni M, Rui YF, Tan Q, Liu Y, Xu LL, Chan KM, et al. Engineered scaffold-free tendon tissue produced by tendon-derived stem cells. *Biomaterials*. 2013; 34(8): 2024-2037. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.11.046

40. Augustyniak J, Bertero A, Coccini T, Baderna D, Buzanska L, Caloni F. Organoids are promising tools for species-specific in vitro toxicological studies. *J Appl Toxicol.* 2019; 39(12): 1610-1622. doi: 10.1002/jat.3815

41. Diaz-Rodriguez P, Erndt-Marino J, Chen H, Diaz-Quiroz JF, Samavedi S, Hahn MS. A bioengineered in vitro osteoarthritis model with tunable inflammatory environments indicates context-dependent therapeutic potential of human mesenchymal stem cells. *Regenerative Engineering and Translational Medicine*. 2019; 5: 297-307.

42. Loh QL, Choong C. Three-dimensional scaffolds for tissue engineering applications: Role of porosity and pore size. *Tissue Eng Part B Rev*. 2013; 19(6): 485-502. doi: 10.1089/ten.TEB.2012.0437

43. Volkova IM, Korovina DG. Three-dimensional matrices of natural and synthetic origin for cell biotechnology. *Biotekhnologiya*. 2015; 31(2): 8-26. (In Russ.)

44. Langer R, Vacanti J. Advances in tissue engineering. J Pediatr Surg. 2016; 51(1): 8-12. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2015.10.022

45. Zhang K, Fan Y, Dunne N, Li X. Effect of microporosity on scaffolds for bone tissue engineering. *Regen Biomater*. 2018; 5(2): 115-124. doi: 10.1093/rb/rby001

46. Quarto R, Mastrogiacomo M, Cancedda R, Kutepov SM, Mukhachev V, Lavroukov A. Repair of large bone defects with the use of autologous bone marrow stromal cells. *N Engl J Med*. 2001; 344(5): 385-386. doi: 10.1056/NEJM200102013440516

47. Marcacci M, Kon E, Moukhachev V, Lavroukov A, Kutepov S, Quarto R. Stem cells associated with macroporous bioceramics for long bone repair: 6- to 7-year outcome of a pilot clinical study. *Tissue Eng*. 2007; 13(5): 947-955. doi: 10.1089/ten.2006.0271

48. Zhang C, Zhang E, Yang L, Tu W, Lin J, Yuan C, et al. Histone deacetylase inhibitor treated cell sheet from mouse tendon stem/progenitor cells promotes tendon repair. *Biomaterials*. 2018; 172: 66-82. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.03.043

49. Rinoldi C, Fallahi A, Yazdi IK, Paras JC, Kijeńska-Gawrońska E, Santiago GT, et al. Mechanical and biochemical stimulation of 3D multilayered scaffolds for tendon tissue engineering. *ACS Biomater Sci Eng.* 2019; 5(6): 2953-2964. doi: 10.1021/acsbiomaterials.8b01647

50. Xing F, Xiang Z, Rommens PM, Ritz U. 3D bioprinting for vascularized tissue-engineered bone fabrication. *Materials (Basel)*. 2020; 13(10): 2278. doi: 10.3390/ma13102278

51. Zhang YS, Oklu R, Dokmeci MR, Khademhosseini A. Three-dimensional bioprinting strategies for tissue engineering. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2018; 8(2): 025718. doi: 10.1101/cshperspect.a025718

52. Tarafder S, Brito JA, Minhas S, Effiong L, Thomopoulos S, Lee CH. In situ tissue engineering of the tendon-to-bone interface by endogenous stem/progenitor cells. *Biofabrication*. 2019; 12(1): 015008. doi: 10.1088/1758-5090/ab48ca

53. Marques CF, Diogo GS, Pina S, Oliveira JM, Silva TH, Reis RL. Collagen-based bioinks for hard tissue engineering applications: A comprehensive review. *J Mater Sci Mater Med*. 2019; 30(3): 32. doi: 10.1007/s10856-019-6234-x

54. Li J, Chen M, Fan X, Zhou H. Recent advances in bioprinting techniques: Approaches, applications and future prospects. *J Transl Med*. 2016; 14: 271. doi: 10.1186/s12967-016-1028-0

55. Xu C, Chai W, Huang Y, Markwald RR. Scaffold-free inkjet printing of three-dimensional zigzag cellular tubes. *Biotechnol Bioeng*. 2012; 109(12): 3152-3160. doi: 10.1002/bit.24591

56. Lee VK, Lanzi AM, Haygan N, Yoo SS, Vincent PA, Dai G. Generation of multi-scale vascular network system within 3D hydrogel using 3D bio-printing technology. *Cell Mol Bioeng*. 2014; 7(3): 460-472. doi: 10.1007/s12195-014-0340-0

57. Keriquel V, Guillemot F, Arnault I, Guillotin B, Miraux S, Amédée J, et al. In vivo bioprinting for computer- and robotic-assisted medical intervention: Preliminary study in mice. *Biofabrication*. 2010; 2(1): 014101. doi: 10.1088/1758-5082/2/1/014101

58. Boyette LB, Creasey OA, Guzik L, Lozito T, Tuan RS. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells display enhanced clonogenicity but impaired differentiation with hypoxic preconditioning. *Stem Cells Transl Med*. 2014; 3(2): 241-254. doi: 10.5966/sctm.2013-0079

59. Norotte C, Marga FS, Niklason LE, Forgacs G. Scaffold-free vascular tissue engineering using bioprinting. *Biomaterials*. 2009; 30(30): 5910-5917. doi: 10.1016/j.biomaterials. 2009.06.034

60. Matai I, Kaur G, Seyedsalehi A, McClinton A, Laurencin CT. Progress in 3D bioprinting technology for tissue/organ regenerative engineering. *Biomaterials*. 2020; 226: 119536. doi: 10.1016/j.biomaterials.2019.119536

61. Snedeker JG, Foolen J. Tendon injury and repair – A perspective on the basic mechanisms of tendon disease and future clinical therapy. *Acta Biomater*. 2017; 63: 18-36. doi: 10.1016/j.actbio.2017.08.032

62. Leong NL, Kator JL, Clemens TL, James A, Enamoto-Iwamoto M, Jiang J. Tendon and ligament healing and current approaches to tendon and ligament regeneration. *J Orthop Res*. 2020; 38(1): 7-12. doi: 10.1002/jor.24475

63. Lui PP. Identity of tendon stem cells – how much do we know? *J Cell Mol Med*. 2013; 17(1): 55-64. doi: 10.1111/jcmm.12007

64. Qu SW, Xue YN, Li P, Zhou JD. Advances in the research of stem cell tissue-engineering. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*. 2020; 36(6): 510-515. doi: 10.3760/cma.j.cn501120-20190225-00039

ПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

МСК – мезенхимальные стволовые клетки
BMP – костный морфогенетический белок суперсемейства TGF
CD133 – трансмембранный гликопротеин, маркер раковых стволовых клеток, кластер дифференцировки 133
CD44 – гликопротеин клеточной поверхности, кластер дифференцировки 44
CD90 – кластер дифференцировки 90
COL1α1 – альфа-1 коллаген типа I
CTGF – фактор роста соединительной ткани
EGR1 (ZNF268, NGFI-A) – ядерный белок, фактор транскрипции в формировании памяти
EGR2 (CHN1, AT591, CMT1D, CMT4E, KROX20) – белок раннего ответа роста 2, фактор транскрипции
EMCN (эндомуцин) – муциноподобный сиалогликопротеин, маркер эндотелиальных и гемопоэтических стволовых клеток
FGFb – основной фактор роста фибробластов
HGF – фактор роста гепатоцитов

IGF1 – инсулиноподобный фактор роста-1
MKX (Mohawk) – фактор транскрипции, регулирующий дифференцировку
MSI-1 (Musashi-1) – РНК-связывающий белок, маркер стволовых клеток, контролирующий баланс между самообновлением и терминальной дифференцировкой
NES (nestin) – белковый маркер нервных стволовых клеток
PDGFBB – тромбоцитарный фактор роста BB
SCA-1 – маркер гемопоэтических стволовых клеток
SCX (Scleraxis) – белок суперсемейства факторов транскрипции helix-loop-helix (bHLH)
TGFβ – трансформирующий фактор роста β
TNMD (Теномодулин) – трансмембранный гликопротеин II типа
VEGF – фактор роста эндотелия сосудов

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: predel4@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-0270-404X

Шурыгина Ирина Александровна – доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе, профессор РАН, 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: predel4@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 поступила: 22.01.2021. Статья принята: 15.04.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 22.01.2021. Accepted: 15.04.2021. Published: 15.06.2021.

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.20

Оптимизация алгоритма выбора хирургического лечения передней рецидивирующей нестабильности плечевого сустава

Чирков Н.Н. [1, 2], Николаев Н.С. [1, 2], Пашенцев Ю.А. [1], Алексеева А.В. [1], Яковлев В.Н. [1]

[1] ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России (428020, г. Чебоксары, ул. Фёдора Гладкова, 33, Россия); [2] ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова» (428015, г. Чебоксары, Московский пр-т, 15, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Чирков Николай Николаевич, e-mail: surgenik@gmail.com

Резюме

Актуальность. *Хроническая рецидивирующая нестабильность плечевого сустава – частый исход консервативного лечения травматического вывиха плеча (2,8–30 % случаев). Предоперационное обследование определяет исход оперативного лечения этой патологии.*

Цель исследования: *клиническая оценка разработанного алгоритма оперативного лечения пациентов с передней рецидивирующей нестабильностью плечевого сустава.*

Материалы и методы. *Изучены результаты лечения 98 пациентов с передней рецидивирующей нестабильностью плечевого сустава. Предоперационное обследование включало клинические тесты, рентгенографию, МРТ или КТ диагностику с расчётом потери костной ткани. 56 пациентам (57,1 %) выполнена операция по Банкарту, 14 пациентам (14,3 %) – операция Латарже. У 23 пациентов (23,5 %) выполнено оперативное вмешательство «операция Банкарта + ремплиссаж», а у 5 (5,1 %) – «операция Латарже + ремплиссаж». Результат оценён по шкале ROWE.*

Результаты. *У 19,4 % пациентов выявлены костные дефекты, значимые при формировании нестабильности («glenoid off track»), у 80,6 % – «glenoid on track». По предложенному алгоритму лечения пациентов с передней рецидивирующей нестабильностью плечевого сустава состояние «glenoid off track» являлось показанием к выполнению операции Латарже. При «glenoid on track» выставлялись показания к операции Банкарта. Показаниями к проведению ремплиссажа считали наличие дефекта Хилла – Сакса 3-й степени, либо наличие гиперэластичности тканей плечевого сустава. Средний балл по шкале ROWE для всей группы пациентов до операции составлял 41,5 ± 12,8 балла, а через 15 месяцев после операции – 94,9 ± 3,4 балла. Выявлено два рецидива вывихов, один из которых связан с повторной травмой, а другой – с неправильным выбором методики стабилизации. Получено одно осложнение – нейропатия аксиллярного нерва, купированное консервативно.*

Выводы. *Предложенный нами алгоритм позволил получить положительные результаты в 97,9 % случаев.*

Ключевые слова: *плечевой сустав, нестабильность, артроскопия, стабилизация плечевого сустава, операция Латарже, процедура «ремплиссаж», операция по Банкарту, костные дефекты*

Для цитирования: Чирков Н.Н., Николаев Н.С., Пашенцев Ю.А., Алексеева А.В., Яковлев В.Н. Оптимизация алгоритма выбора хирургического лечения передней рецидивирующей нестабильности плечевого сустава. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 176-183. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.20.

Optimization of the Algorithm for Choosing the Surgical Treatment of Anterior Recurrent Instability of the Shoulder Joint

Chirkov N.N. [1, 2], Nikolaev N.S. [1, 2], Pashentsev Y.A. [1], Alekseeva A.V. [1], Yakovlev V.N. [1]

[1] Federal Center of Traumatology, Orthopedics and Endoprosthesis Replacement of Ministry of Health of the Russian Federation (F. Gladkova str. 33, Cheboksary 428020, Russian Federation); [2] Chuvash State University named after I.N. Ulyanov (Moskovskii av. 15, Cheboksary 428015, Russian Federation)

Corresponding author: Nikolay N. Chirkov, e-mail: surgenik@gmail.com

Abstract

Introduction. *Chronic recurrent instability of the shoulder joint is a frequent outcome of conservative treatment of traumatic dislocation of the shoulder (2.8–30 % of cases). Preoperative examination largely determines the outcome of surgical treatment of this pathology.*

The aim of the study *was to provide a clinical assessment of the developed algorithm for the surgical treatment of patients with recurrent anterior shoulder joint instability.*

Materials and methods. *The results of treatment of 98 patients with recurrent anterior shoulder joint instability were studied. Preoperative examination included clinical tests, MRI or CT with calculation of bone loss. Fifty-six patients (57.1 %) underwent Bankart operation, 14 patients (14.3 %) – Latarjet operation. Twenty-three patients (23.5 %) underwent Bankart + Remplissage surgery, and 5 (5.1 %) – Latarjet + remplissage. The result was assessed on the ROWE scale.*

Results. *Bone defects significant in the formation of instability ("glenoid off track") were found in 19.4 % of patients, and "glenoid on track" – in 80.6 %. According to the proposed algorithm for treating patients with anterior recurrent instability of the shoulder joint, the "glenoid off track" state was an indication for Latarjet surgery. When "glenoid on track" was used, indications for Bankart operation were displayed. The remplissage procedure was indicated in case of the presence of a Hill-Sachs grade 3 defect or the presence of hyperelasticity of the tissues of the shoulder joint. The mean ROWE score for the entire group of patients before surgery was 41.5 ± 12.8 points, and 15 months after sur-*

gery – 94.9 ± 3.4 points. Two recurrent dislocations were revealed, one of which was associated with repeated trauma, and the other – with an incorrect choice of stabilization technique. One complication (axillary nerve neuropathy) was observed, which was arrested conservatively.

Conclusions. *The proposed algorithm allowed us to obtain positive results in 97.9 % of cases.*

Key words: *shoulder joint, instability, arthroscopy, stabilization of the shoulder joint, Latarjet operation, remplissage procedure, Bankart operation, bone defects*

For citation: Chirkov N.N., Nikolaev N.S., Pashentsev Y.A., Alekseeva A.V., Yakovlev V.N. Optimization of the Algorithm for Choosing the Surgical Treatment of Anterior Recurrent Instability of the Shoulder Joint. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 176-183. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.20.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Плечевой сустав является одним из самых нестабильных суставов в организме человека. Частота встречаемости вывиха в плечевом суставе составляет от 2 до 8 % [1]. Хроническая рецидивирующая нестабильность плечевого сустава является достаточно частым исходом консервативного лечения травматического вывиха плеча и встречается в 2,8–30 % случаев [2]. Предоперационное обследование во многом определяет исход оперативного вмешательства: так, наиболее частыми причинами низкой точности МРТ являются недооценка повреждения гиалинового хряща и капсулы сустава, переоценка признаков повреждения фиброзной губы (особенно её переднего сегмента) [3]. Кроме того, до настоящего времени актуальны исследования по поиску алгоритма выбора методик оперативного лечения нестабильности плечевого сустава [4, 5]. В собственных предыдущих исследованиях мы также отмечали важность дифференцированного подхода к лечению нестабильности плечевого сустава [6]. Для этого была разработана дифференциально-диагностическая таблица оценки нестабильности, описаны адресные методики оперативного лечения в зависимости от типа нестабильности. Однако с течением времени, с появлением новых возможностей артроскопической хирургии, оперативные методики претерпели значительные изменения. В связи с этим очевидно, что дифференциально-диагностическая таблица оценки нестабильности требует актуализации.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клиническая оценка разработанного алгоритма оперативного лечения пациентов с передней рецидивирующей нестабильностью плечевого сустава.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами проведено проспективное нерандомизированное исследование, включившее анализ результатов лечения 98 пациентов (65 мужчин и 33 женщины) в возрасте от 16 до 45 лет (средний возраст – 27 ± 9,7 года). Средний период наблюдения после операции составил 37,6 мес. (от 15 до 95 мес.).

Критерием включения в исследование служило наличие передней рецидивирующей нестабильности плечевого сустава. Критериями исключения являлись наличие эпилепсии, дискинезии лопатки, сопутствующее повреждение вращательной манжеты плеча.

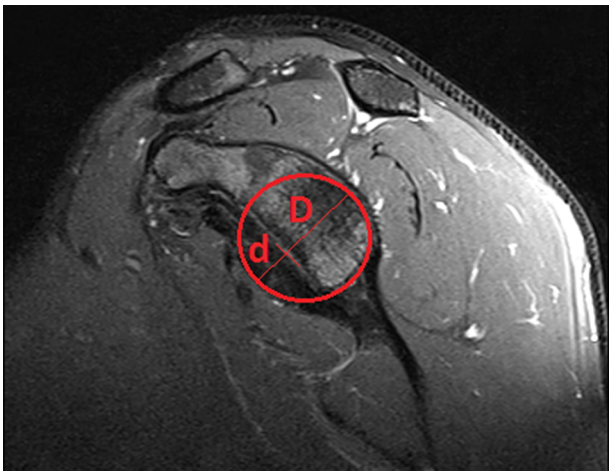
Исследование выполнено в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации (World Medical Association Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013) и «Правилами клинической практики в Российской Федерации» (Приказ Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266) с получением письменного согласия пациентов на участие в исследовании и одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России (г. Чебоксары), протокол № 3 от 18.09.2019 г.

Предоперационное обследование включало клинические тесты для определения нестабильности плечевого сустава (Apprehension Test и Relocation Test); тесты для определения общей гипермобильности суставов по шкале Бейтона (Beighton scale) и гиперэластичности мягких тканей переднего и нижнего отделов плечевого сустава. Позитивная передняя гиперэластичность в плечевом суставе определялась в случаях, когда наружная ротация плеча достигала фронтальной плоскости (90° и более), а нижняя слабость капсулы плечевого сустава определялась с помощью теста гиперабдукции Гейджи (Gagey test). Исследования проводились в сравнении с контралатеральным суставом.

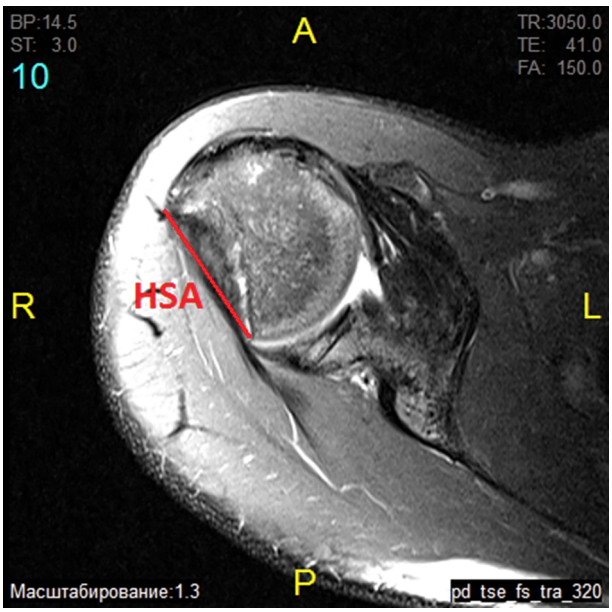
Для определения наличия дефектов кости в плечевом суставе проводили рентгенографию плечевого сустава в прямой проекции. Наличие дефекта кости в передненижнем отделе гленоида определялось при выявлении прерывания контура или нарушения склеротической линии вдоль передненижнего отдела суставного отростка лопатки. Для обнаружения костного дефекта Хилла – Сакса (Hill – Sachs lesion) осуществляли осмотр рентгенограмм в переднезадней проекции с максимальной внутренней ротацией плеча.

Для оценки вовлечённости костных дефектов в механизм нестабильности выполнялось МРТ исследование плечевого сустава с анализом изображений в режимах Т1 или КТ (выполнено у 18 пациентов). В связи с тем, что чёткость изображения костной ткани по МРТ являлась достаточной, от рутинного выполнения КТ в дальнейшем отказались.

Нами проводился расчёт вовлечённости костных дефектов в механизм нестабильности (glenoid track) по методике, описанной A.M. Momaya et al. [8]. На сагиттальном скане МРТ или КТ измеряли диаметр (D) окружности, совпадающей контуром с нижним полюсом гленоида, и ширину костного дефекта переднего отдела гленоида (d). Для подсчёта ширины дорожки гленоида (GT) умножали D на 0,83 и из полученного произведения вычитали величину дефекта передней части гленоида (GT = 0,83×D – d). По аксиальному скану рассчитывали интервал Хилла – Сакса (Hill – Sachs interval, HSI), равный сумме ширины фактического поражения Хилла – Сакса (HS) и расстояния от латерального края дефекта до места крепления манжеты ротатора. Если интервал Хилла – Сакса был больше ширины дорожки гленоида (HSI > GT), костные дефекты считали вовлечёнными в механизм нестабильности («off track»), а если HSI < GT – костные дефекты в механизм нестабильности не вовлечены («on track») (рис. 1).



а



б

Рис. 1. Оценка вовлечённости костных дефектов в механизм нестабильности плечевого сустава при МРТ-исследовании: а – сагиттальный скан, диаметр (D) окружности, совпадающей контуром с нижним полюсом гленоида и ширина костного дефекта переднего отдела гленоида (d); б – аксиальный скан плечевого сустава, демонстрирующий интервал Хилла – Сакса (HSI) в виде расстояния от медиальной части дефекта Хилла – Сакса до места крепления манжеты ротатора

Fig. 1. Assessment of the involvement of bone defects in the mechanism of instability of the shoulder joint during an MRI scan: a – sagittal scan, diameter (D) of the circle matching the contour with the lower pole of the glenoid and the width of the bone defect of the anterior glenoid (d); 6 – axial scan of the shoulder joint showing the Hill – Sachs interval (HSI) as the distance from the medial part of the Hill – Sachs defect to the place of attachment of the rotator cuff

Оценка выраженности повреждения Хилла – Сакса проводилась по данным МРТ- или КТ-исследования согласно классификации J.J. Calandra [7]: 1-я степень – малый локальный костный дефект задней поверхности проксимального отдела плеча, не затрагивающий субхондральную кость; 2-я степень – дефект с вовлечением субхондральной кости; 3-я степень – большой дефект в субхондральной кости.

Наличие выявленных анатомо-функциональных изменений плечевого сустава подтверждалось интраоперационно во время проведения артроскопии плечевого сустава, оценивалась стабильность плечевого сустава под артроскопическим контролем при различных положениях верхней конечности.

Выбор методики оперативного вмешательства основывался на оценке выраженности костных дефектов плечевого сустава, наличия повышенной эластичности мягких тканей плечевого сустава, слабости переднениж-него отдела капсулы сустава.

Таким образом, артроскопическая стабилизация по Банкарту (Bankart surgery) была выполнена у 56 пациентов (57,1 %), операция Латарже (Latarjet surgery) – у 14 пациентов (14,3 %). У 23 пациентов (23,5 %) выполнено оперативное вмешательство «операция Банкарта + ремплиссаж», а у 5 (5,1 %) – «операция Латарже + ремплиссаж». Оперативное вмешательство во всех случаях начиналось с артроскопии сустава, во время которой при необходимости выполнялся ремплиссаж (от фр. *remplissage* – наполнение, заполнение, заливка). Для выполнения операции Латарже, производился доступ в сустав через передний кожный разрез с разведением дельто-пекторального промежутка и поперечным разделением волокон подлопаточной мышцы. Остеотомированный клювовидный отросток фиксировался на переднем крае суставного отростка лопатки посредством двух параллельных винтов диаметром 3,5 мм.

Для оценки результатов оперативного лечения применялась шкала ROWE, состоящая из ранжированных по баллам вопросов о стабильности сустава, объёме движений и функции руки [9]. Результат лечения при сумме от 90 до 100 баллов расценивался как отличный, от 75 до 89 баллов – хороший, от 51 до 74 баллов – удовлетворительный, менее 50 баллов – неудовлетворительный.

Статистическая обработка исходных данных выполнялась с использованием табличного редактора Excel, достоверность различий оценивали параметрическими (*t*-критерий Стьюдента) и непараметрическими методами (*U*-критерий Манна – Уитни) при 95%-м пороге вероятности ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Все пациенты имели как минимум два подтверждённых эпизода вывихов в анамнезе и при поступлении предъявляли жалобы на периодические вывихи в плечевом суставе, сопровождающиеся выраженным болевым синдромом в момент вывиха, постоянное чувство «нестабильности» в суставе, снижение качества жизни и уровня спортивной активности. В 35,7 % случаев (35 больных) регистрировались жалобы на ноющие боли в суставе в состоянии покоя.

Все пациенты отмечали травматический характер первичного вывиха плеча, из них 59 (60,2 %) пациентов получили травму при любительских занятиях спортом. Первично вывих был вправлен в медицинских организациях у 53 пациентов (54 %), среди которых только 31 пациент соблюдал рекомендованную полуторамесячную иммобилизацию. Среднее количество вывихов до операции – 11 ± 6,2 (от 2 до 68). У 89 человек срок давности заболевания составил от одного года до четырёх лет. Девять пациентов (9,1 %) имели заболевание более 15 лет с длительным периодом ремиссии.

Клинические тесты для определения нестабильности плечевого сустава были положительными практически у всех пациентов. Так, положительный Apprehension Test

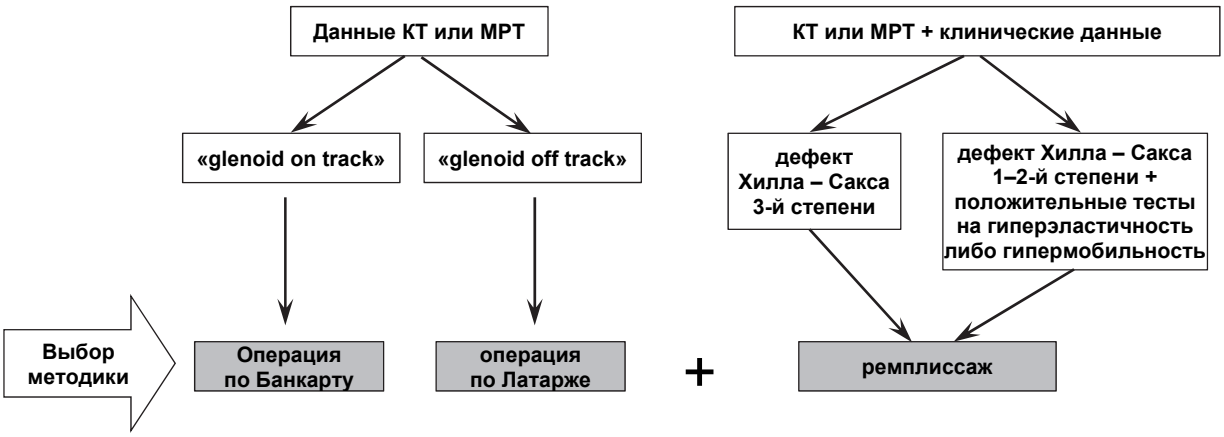


Рис. 2. Алгоритм выбора методики оперативного лечения
Fig. 2. Algorithm for choosing a surgical treatment technique

наблюдался у 93 пациентов (94,9 %), положительный Relocation Test регистрировался у 87 больных (88,7 %). У 20 пациентов (20,4 %) была выявлена гипермобильность в плечевом суставе (положительный тест Гейджи и наружная ротация плеча до 90° и более), либо гиперэластичность тканей (положительные тесты по шкале Бейтона).

По результатам рентгенографии плечевого сустава у 11 пациентов выявлено прерывание контура и нарушение склеротической линии вдоль передненижнего отдела суставного отростка лопатки (признаки дефекта переднего края гленоида), а повреждение Хилла – Сакса обнаружено у 18.

У 19 пациентов (19,4 %) выявлены костные дефекты, имеющие значение в механизме нестабильности («glenoid off track»), у 79 (80,6 %) – выраженность костных дефектов не оказывала влияния на механизм вывиха («glenoid on track»).

У 56 пациентов (57,1 %) по МРТ регистрировалось повреждение передней хрящевой губы с плече-лопаточными связками и капсулой сустава, отсутствие дефекта переднего края суставного отростка лопатки. Данной группе пациентов выполнено оперативное вмешательство по Банкарту (артроскопическое восстановление капсуло-лабрального комплекса плечевого сустава).

У 14 пациентов (14,3 %) наблюдался выраженный костный дефект переднего отдела гленоида («glenoid off track»), что послужило поводом к выполнению операции Латарже.

Наличие дефекта Хилла – Сакса 3-й степени зарегистрировано у 16 пациентов (16,3 %).

Во время проведения артроскопии плечевого сустава выявлено, что у всех пациентов с наличием гипермобильности и/или гиперэластичности тканей происходит свободное переднее смещение головки плечевой кости при отведении и наружной ротации плеча, особенно при наличии дефекта Хилла – Сакса.

В зависимости от выраженности анатомо-функциональных изменений нами разработан алгоритм выбора методики оперативного лечения пациентов с передней рецидивирующей нестабильностью плечевого сустава (рис. 2).

Показаниями к дополнительному проведению ремплиссажа (выполнение анкерного тенодеза сухожилия подостной мышцы в области дефекта Хилла – Сакса плечевой кости) являлось наличие дефекта Хилла – Сакса 3-й степени либо наличие дефекта Хилла – Сакса 1–2-й степени в сочетании с гиперэластичностью тканей (положительные тесты по шкале Бейтона), либо с гипермобильностью в суставе (положительный тест Геджи и наружная ротация плеча 90° и более).

Срок пребывания пациентов в стационаре составил 2–3 суток и не зависел от варианта проведённой операции. В послеоперационном периоде всем пациентам рекомендовалась иммобилизация оперированной конечности в повязке Дезо до 6 недель с момента операции.

Для профилактики контрактур пациентам разрешалось выполнять маятникообразные движения в оперированном суставе в течение первых 3 недель, а затем, с третьей по шестую неделю, разрешалось поднимать локоть до уровня плеча (активное сгибание до 90°). В течение иммобилизационного периода пациенты также обучались выполнению упражнений по изометрическому напряжению мышц вращающей манжеты. Через 6 недель после операции иммобилизация прекращалась, начинались занятия с целью увеличения объёма движений в оперированном суставе. Бесконтактные спортивные занятия разрешались через 3 месяца, а контактные – через 4–6 месяцев после операции.

В послеоперационном периоде 8 пациентов (8,2 %) предъявляли жалобы на непостоянные ноющие боли в оперированном плечевом суставе. У пятерых из них боли появлялись после физической нагрузки, у троих – при перемене погоды. Средний диапазон наружной ротации после операции составил 75,9°.

После оперативного вмешательства 86,7 % пациентов (85 человек) имели стабильность оперированного плечевого сустава, сравнимую с контралатеральным здоровым плечевым суставом, и могли вернуться к любительским занятиям спортом и своей профессиональной трудовой деятельности. Данные пациенты были полностью удовлетворены результатом лечения при субъективной оценке. Четверо спортсменов-любителей не смогли вернуться к занятиям спортом, двое – из-за боязни повторного вывиха или ограничения движений и двое – из-за остаточной нестабильности.

Только у двух пациентов (2 %) отмечены плохие результаты, связанные с рецидивом вывихов (табл. 1).

Таблица 1

Распределение пациентов в зависимости от общей оценки результатов лечения по шкале ROWE через 15 месяцев после операции

Table 1

Distribution of patients depending on the overall assessment of treatment results on the ROWE scale 15 months after surgery

Параметр	Результат после операции (баллы)			
	отличный (90–100)	хороший (75–89)	удовлетворительный (51–74)	плохой (0–50)
Количество пациентов, чел.	69	23	4	2
Удельный вес, %	70,4	23,5	4,1	2

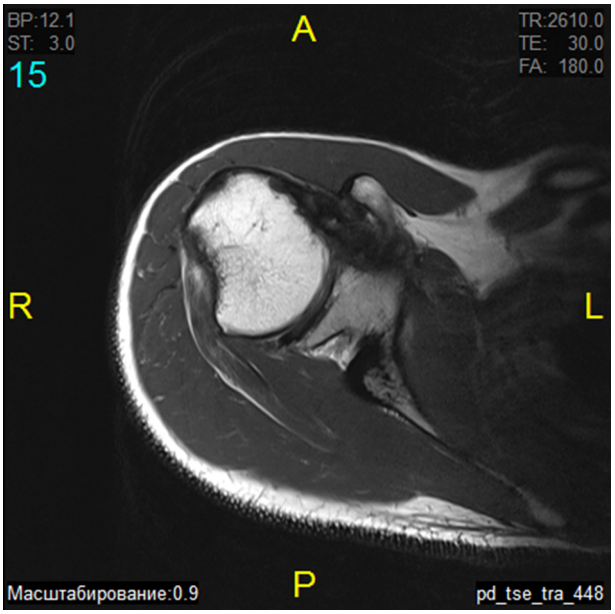
Средний балл по шкале ROWE для всей группы пациентов до операции составлял 41,5 ± 12,8 балла, а через 15 месяцев после операции – 94,9 ± 3,4 балла.

Из осложнений после операции наблюдалась нейропатия аксиллярного нерва после операции по Банкарту (*n* = 1), сопровождающаяся гипотрофией дельтовидной мышцы и верифицированная по результатам электронейромиографии. Причиной нейропатии, по нашему мнению, явился чрезмерно агрессивный и глубокий релиз передней хрящевой губы гленоида для её мобилизации. Явления нейропатии были купированы консервативной терапией в течение 8 месяцев после операции. Других осложнений не наблюдалось.

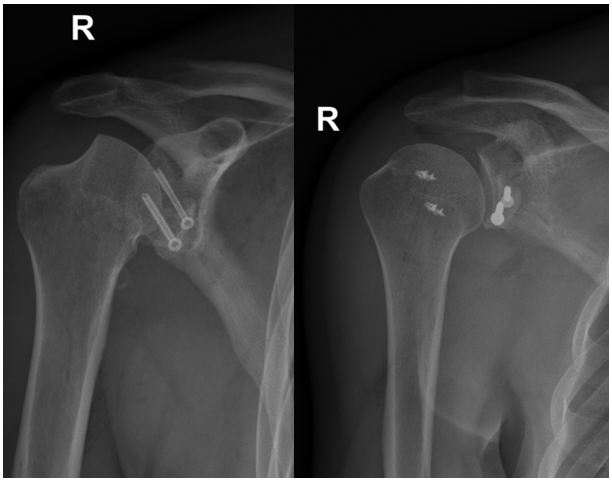
У двух пациентов после проведённого оперативного лечения отмечался рецидив вывихов. У одного пациента после операции по Банкарту произошла повторная травма оперированного плечевого сустава во время спортивной борьбы, пациент реоперирован по методике Латарже. У другого пациента рецидив нестабильности возник после проведённой операции Латарже, без акцентированной травмы. Приводим клинический пример данного осложнения.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Пациент А., 22 года, изначально поступил на хирургическое лечение ФГБУ «ФЦТОЭ» Минздрава России (г. Чебоксары) с выраженной посттравматической нестабильностью правого плечевого сустава, с количеством вывихов в анамнезе более пятидесяти и давностью срока заболевания 5 лет. При клиническом исследовании выявлена гипермобильность плечевого сустава (положительный тест Гейджи и наружная ротация плеча более 90°). По данным МРТ правого плечевого сустава определялись костные дефекты, имеющие значение в механизме вывиха («glenoid off track»). Пациенту была выполнена стабилизация плечевого сустава по методике Латарже. Через 5 мес. после операции у пациента отмечался рецидив вывиха, произошедший после взмаха руки. Анализ осложнения показал, что пациенту не была выполнена процедура ремплиссажа при наличии дефекта Хилла – Сакса 3-й степени. Пациент был оперирован повторно с выполнением процедуры ремплиссажа при помощи артроскопической техники. Эффект положительный. На контрольном осмотре через 2 года после операции рецидивов вывихов не наблюдается, трудовая функция не ограничена (работает экскаваторщиком), продолжает заниматься любительским спортом (борьба самбо). Результаты рентгенодиагностических исследований на этапах лечения и окончательный функциональный результат (внешний вид пациента) приведены на рисунках 3 и 4.



а



б в

Рис. 3. Пациент А. Результаты рентгенодиагностических исследований на этапах лечения: а – скан МРТ до операции, на котором определяется выраженный дефект Хилла – Сакса 3-й степени; б – рентгенограмма плечевого сустава после выполненной операции Латарже; в – рентгенограмма плечевого сустава после повторной операции

Fig. 3. Patient A. Results of X-ray diagnostic studies at the stages of treatment: a – MRI scan before the operation, on which a pronounced grade 3 Hill-Sachs defect is determined; б – X-ray of the shoulder joint after the performed Latarjet operation; в – X-ray of the shoulder joint after reoperation

Рис. 4. Пациент А., окончательный функциональный результат
Fig. 4. Patient A., final functional result

ОБСУЖДЕНИЕ

Нестабильность в плечевом суставе является распространённой патологией и встречается с частотой 0,5–1,7 % от всех повреждений опорно-двигательного аппарата. Более чем в 90 % случаев всей нестабильности плечевого сустава приходится на передненаправленную, основной причиной которой является травма или гипермобильность плечевого сустава с дисфункцией мягких тканей [10]. Рецидивирующая нестабильность плечевого сустава обычно связана с разрывом по Банкарту – повреждением прикрепления передней хрящевой губы к гленоиду в комплексе с плече-лопаточными связками. Однако у данных пациентов часто наблюдаются последствия костной травмы суставного отростка лопатки и головки плеча. Понимание и надлежащее устранение нарушений в костной архитектуре плечевого сустава имеют решающее значение для общего успеха хирургического лечения нестабильности плечевого сустава [11]. T. Flinkkilä et al. провели оценку результатов лечения 186 пациентов с хронической рецидивирующей передней нестабильностью плечевого сустава, которая показала, что использование операции по Банкарту как моно-метода приводит к 30 % рецидивов [12]. В обзоре современной литературы мы не нашли общепринятого алгоритма выбора методики оперативного лечения передней рецидивирующей нестабильности плечевого сустава. В 2007 г. F. Balg и P. Boileau предложили шкалу оценки выраженности нестабильности плечевого сустава (ISIS), предназначенную для определения риска рецидива вывихов после операции по Банкарту [13]. Основным недостатком данной методики дифференциальной диагностики являлось то, что для выявления костных дефектов применялась стандартная рентгенография плечевого сустава, которая не позволяла достоверно оценить степень утраты костной ткани [14]. По результатам оценки рентгенограмм наших пациентов выявлено, что лишь у 11 пациентов имелись признаки дефекта переднего края гленоида, в то время как по данным томографии дефект переднего отдела гленоида определялся у 19 пациентов, вошедших в группу пациентов с «glenoid off track».

По данным литературы, определение «glenoid track» точно показывает влияние костных дефектов в механизме вывихов [15]. Однако данная концепция не учитывает оценку мягкотканого компонента плечевого сустава. Так, во время выполнения артроскопии плечевого сустава у пациентов с «glenoid on track», но наличием гипермобильности и/или гиперэластичности тканей плечевого сустава, происходит свободное переднее смещение головки плечевой кости при отведении и наружной ротации плеча. Поэтому мы считаем оправданным выполнение дополнительной стабилизации по технике «ремплиссаж» у таких пациентов. Подтверждением тому так же служит полученный нами рецидив вывиха после операции по Латарже, выполненной без учёта наличия гипермобильности тканей сустава и выраженного дефекта Хилла – Сакса.

Таким образом, в лечении передней рецидивирующей нестабильности необходима как комплексная оценка эластичности мягких тканей плечевого сустава, так и определение выраженности костных дефектов.

ВЫВОДЫ

Для оценки дефицита костной ткани переднего края суставной впадины лопатки и костно-хрящевых дефектов головки плеча на этапе предоперационного планирования целесообразно выполнение КТ- или МРТ-исследования с расчётом вовлеченности костных дефектов в механизм нестабильности.

Концепция «glenoid track» является важным инструментом оценки передней нестабильности плеча в условиях биполярных костных дефектов. Эту концепцию можно использовать, чтобы помочь хирургам определить, какие пациенты могут не подходить для артроскопической стабилизации по Банкарту.

Выраженный костный дефект переднего отдела суставного отростка лопатки («glenoid off track») является поводом к выполнению костно-пластической операции Латарже.

Предоперационная оценка степени дефицита костной ткани заднего отдела головки плечевой кости (повреждения Хилла – Сакса) позволяет сделать заключение о необходимости дополнительной стабилизации путём выполнения процедуры «ремплиссаж». Мы рекомендуем выполнять её как дополнение к одной из двух основных методик (операциям по Банкарту или по Латарже) при наличии повреждения Хилла – Сакса 3-й степени или гиперэластичности мягких тканей.

Предложенный нами алгоритм оперативного вмешательства позволил получить положительные результаты в 97,9 % случаев.

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гончаров Е.Н., Девис А.Е., Акимкина А.М., Дадаев М.Х., Голубев В.Г. Лечение нестабильности плечевого сустава на основе комплексной диагностики. *Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук.* 2014; 5(34): 73-78.

2. Монастырёв В.В., Сидорова Г.В., Васильев В.Ю., Пусева М.Э. Поиск путей оптимизации хирургического лечения посттравматической переднемедиальной нестабильности плечевого сустава у пациентов молодого и трудоспособного возраста. *Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук.* 2010; 5(75): 93-98.

3. Акимкина А.М., Гончаров Е.Н., Родионов А.В., Знаменский И.А. Возможности магнитно-резонансной томографии в диагностике нестабильности плечевого сустава. *Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина.* 2012; 4: 72-78.

4. Magnuson JA, Wolf BR, Cronin KJ, Jacobs CA, Ortiz SF, Kuhn JE. Surgical outcomes in the Frequency, Etiology, Direction, and Severity (FEDS) classification system for shoulder instability. *J Shoulder Elbow Surg*. 2020; 29(4): 784-793. doi: 10.1016/j.jse.2019.12.002

5. White AE, Patel NK, Hadley CJ, Dodson CC. An algorithmic approach to the management of shoulder instability. *J Am Acad Orthop Surg Glob Res Rev*. 2019; 3(12): e19.00168. doi: 10.5435/JAAOSGlobal-D-19-00168

6. Чирков Н.Н., Солдатов Ю.П. Хирургическое лечение больных с привычным вывихом плеча. *Гений ортопедии*. 2009; 2: 117-121.

7. Horst K, Von Harten R, Weber C, Andruszkow H, Pfeifer R, Dienstknecht T, et al. Assessment of coincidence and defect sizes in Bankart and Hill-Sachs lesions after anterior shoulder dislocation: A radiological study. *Br J Radiol.* 2014; 87(1034): 20130673. doi: 10.1259/bjr.20130673

8. Momaya AM, Tokish JM. Applying the glenoid track concept in the management of patients with anterior shoulder instability. *Curr Rev Musculoskelet Med.* 2017; 10(4): 463-468. doi: 10.1007/s12178-017-9436-1

9. Unger RZ, Burnham JM, Gammon L, Malempati CS, Jacobs CA, Makhni EC. The responsiveness of patient-reported outcome tools in shoulder surgery is dependent on the underlying pathological condition. *Am J Sports Med.* 2019; 47(1): 241-247. doi: 10.1177/0363546517749213

10. Frank RM, Romeo AA. Arthroscopic soft tissue reconstruction in anterior shoulder instability. *Orthopade*. 2018; 47(2): 121-128. doi: 10.1007/s00132-018-3532-9

11. Provencher MT, Bhatia S, Ghodadra NS, Grumet RC, Bach BR Jr, Dewing CB, et al. Recurrent shoulder instability: Current concepts for evaluation and management of glenoid bone loss. *J Bone Joint Surg Am*. 2010; 92: 133-151. doi: 10.2106/JBJS.J.00906

12. Flinkkilä T, Knape R, Sirniö K, Ohtonen P, Leppilahti J. Long-term results of arthroscopic Bankart repair: minimum 10 years of follow-up. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2018; 26(1): 94-99. doi: 10.1007/s00167-017-4504-z

13. Balg F, Boileau P. The instability severity index score. A simple pre-operative score to select patients for arthroscopic or open shoulder stabilisation. *J Bone Joint Surg Br.* 2007; 89(11): 1470-1477. doi: 10.1302/0301-620X.89B11.18962

14. Jankauskas L, Rüdiger HA, Pfirrmann CWA, Jost B, Gerber C. Loss of the sclerotic line of the glenoid on anteroposterior radiographs of the shoulder: A diagnostic sign for an osseous defect of the anterior glenoid rim. *J Shoulder Elbow Surg.* 2010; 19: 151-156. doi: 10.1016/j.jse.2009.04.013

15. Shaha JS, Cook JB, Rowles DJ, Bottoni CR, Shaha SH, Tokish JM. Clinical validation of the glenoid track concept in anterior glenohumeral instability. *J Bone Joint Surg Am*. 2016; 98(22): 1918-1923. doi: 10.2106/JBJS.15.01099

REFERENCES

1. Goncharov YN, Devis AY, Akimkina AM, Dadayev MKh, Golubev VG. Treatment of shoulder joint instability based on comprehensive diagnostics. *Byulleten' Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk.* 2014; 5(34): 73-78. (In Russ.)

2. Monastyrev VV, Sidorova GV, Vasil'yev VYu, Puseva ME. Searching for ways to optimize surgical treatment of post-traumatic anteromedial instability of the shoulder in young and working-age patients. *Byulleten' Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk.* 2010; 5(75): 93-98. (In Russ.)

3. Akimkina AM, Goncharov YN., Rodionov AV., Znamenskiy IA. Possibilities of magnetic resonance imaging in the diagnosis of shoulder joint instability. *Vestnik Rossiyskogo universiteta druzhby narodov. Seriya: Meditsina*. 2012; 4: 72-78. (In Russ.)

4. Magnuson JA, Wolf BR, Cronin KJ, Jacobs CA, Ortiz SF, Kuhn JE. Surgical outcomes in the Frequency, Etiology, Direction, and Severity (FEDS) classification system for shoulder instability. *J Shoulder Elbow Surg*. 2020; 29(4): 784-793. doi: 10.1016/j.jse.2019.12.002

5. White AE, Patel NK, Hadley CJ, Dodson CC. An algorithmic approach to the management of shoulder instability. *J Am Acad Orthop Surg Glob Res Rev*. 2019; 3(12): e19.00168. doi: 10.5435/JAAOSGlobal-D-19-00168

6. Chirkov NN, Soldatov YuP. Surgical treatment of patients with habitual shoulder dislocation. *Geniy ortopedii*. 2009; 2: 117-121. (In Russ.)

7. Horst K, Von Harten R, Weber C, Andruszkow H, Pfeifer R, Dienstknecht T, et al. Assessment of coincidence and defect sizes in Bankart and Hill-Sachs lesions after anterior shoulder dislocation: A radiological study. *Br J Radiol.* 2014; 87(1034): 20130673. doi: 10.1259/bjr.20130673

8. Momaya AM, Tokish JM. Applying the glenoid track concept in the management of patients with anterior shoulder instability. *Curr Rev Musculoskelet Med.* 2017; 10(4): 463-468. doi: 10.1007/s12178-017-9436-1

9. Unger RZ, Burnham JM, Gammon L, Malempati CS, Jacobs CA, Makhni EC. The responsiveness of patient-reported outcome tools in shoulder surgery is dependent on the underlying pathological condition. *Am J Sports Med.* 2019; 47(1): 241-247. doi: 10.1177/0363546517749213

10. Frank RM, Romeo AA. Arthroscopic soft tissue reconstruction in anterior shoulder instability. *Orthopade*. 2018; 47(2): 121-128. doi: 10.1007/s00132-018-3532-9

11. Provencher MT, Bhatia S, Ghodadra NS, Grumet RC, Bach BR Jr, Dewing CB, et al. Recurrent shoulder instability: Current concepts for evaluation and management of glenoid bone loss. *J Bone Joint Surg Am*. 2010; 92: 133-151. doi: 10.2106/JBJS.J.00906

12. Flinkkilä T, Knape R, Sirniö K, Ohtonen P, Leppilahti J. Long-term results of arthroscopic Bankart repair: minimum 10 years of follow-up. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2018; 26(1): 94-99. doi: 10.1007/s00167-017-4504-z

13. Balg F, Boileau P. The instability severity index score. A simple pre-operative score to select patients for arthroscopic or open shoulder stabilisation. *J Bone Joint Surg Br.* 2007; 89(11): 1470-1477. doi: 10.1302/0301-620X.89B11.18962

14. Jankauskas L, Rüdiger HA, Pfirrmann CWA, Jost B, Gerber C. Loss of the sclerotic line of the glenoid on anteroposterior radiographs of the shoulder: A diagnostic sign for an osseous defect of the anterior glenoid rim. *J Shoulder Elbow Surg.* 2010; 19: 151-156. doi: 10.1016/j.jse.2009.04.013

15. Shaha JS, Cook JB, Rowles DJ, Bottoni CR, Shaha SH, Tokish JM. Clinical validation of the glenoid track concept in anterior glenohumeral instability. *J Bone Joint Surg Am*. 2016; 98(22): 1918-1923. doi: 10.2106/JBJS.15.01099

Сведения об авторах

Чирков Николай Николаевич – кандидат медицинских наук, врач травматолог-ортопед, ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России; ассистент кафедры травматологии, ортопедии и экстремальной медицины, ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», e-mail: surgenik@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-7099-2672

Николаев Николай Станиславович – доктор медицинских наук, профессор, главный врач, ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России; заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и экстремальной медицины, ФГБОУ ВО «Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», e-mail: fc1@orthoscheb.com, https://orcid.org/0000-0002-1560-470X

Пашенцев Юрий Анатольевич – врач отделения лучевой диагностики, ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России, e-mail: Paps40@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-3791-4861

Алексеева Татьяна Васильевна – врач отделения лучевой диагностики, ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России, e-mail: 530200@list.ru, https://orcid.org/0000-0002-1993-5290

Яковлев Владимир Николаевич – врач травматолог-ортопед, ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России, e-mail: vnyakovlev@orthoscheb.com, https://orcid.org/0000-0003-4958-8215

Information about the authors

Nikolay N. Chirkov – Cand. Sc. (Med.), Traumatologist-Orthopedist, Federal Center for Traumatology, Orthopedics and Arthroplasty; Teaching Assistant of the Department of Traumatology, Orthopedics and Emergency Medicine, Chuvash State University named after I.N. Ulyanov; e-mail: surgenik@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-7099-2672

Nikolay S. Nikolaev – Dr. Sc. (Med.), Professor, Chief Physician, Federal Center for Traumatology, Orthopedics and Arthroplasty; Head of the Department of Traumatology, Orthopedics and Emergency Medicine, Chuvash State University named after I.N. Ulyanov, e-mail: fc1@orthoscheb.com, https://orcid.org/0000-0002-1560-470X

Yuriy A. Pashentsev – Physician at the Department of Radiation Diagnostics, Federal Center for Traumatology, Orthopedics and Arthroplasty; e-mail: Paps40@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0003-3791-4861

Tatyana V. Alekseeva – Physician at the Department of Radiation Diagnostics, Federal Center for Traumatology, Orthopedics and Arthroplasty; e-mail: 530200@list.ru, https://orcid.org/0000-0002-1993-5290

Vladimir N. Yakovlev – Traumatologist-Orthopedist, Federal Center for Traumatology, Orthopedics and Arthroplasty, e-mail: vnyakovlev@orthoscheb.com, https://orcid.org/0000-0003-4958-8215

Вклад авторов:

Чирков Н.Н. – концепция и дизайн исследования, написание текста.

Николаев Н.С. – редактирование.

Пашенцев Ю.А. – сбор и обработка материала.

Алексеева Т.В. – сбор и обработка материала.

Яковлев В.Н. – графика, анализ литературы.

Статья получена: 08.12.2020. Статья принята: 17.04.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 08.12.2020. Accepted: 17.04.2021. Published:15.06.2021.

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.21

Экспериментальное моделирование комбинированного и последовательного применения чрескостного и интрамедуллярного блокируемого остеосинтеза

Щепкина Е.А. [1, 2], Лебедков И.В. [1], Нетылько Г.И. [1], Соломин Л.Н. [1, 3], Трушников В.В. [1], Вершинин Д.М. [1]

[1] ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена» Минздрава России (195427, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Байкова, 8, Россия); [2] ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России (197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8, Россия); [3] ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» (199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Щепкина Елена Андреевна, e-mail: shchepkina_elena@mail.ru

Резюме

Обоснование. *Внедрение методик комбинированного и последовательного применения чрескостного и интрамедуллярного блокированного остеосинтеза при удлинении конечностей требует экспериментального исследования особенностей дистракционного регенерата. Для мелких животных (в частности кроликов) необходимы специальные модели. Цель. Разработать экспериментальные модели последовательного и комбинированного применения чрескостного и интрамедуллярного остеосинтеза при удлинении конечностей и обосновать их эффективность.*

Методы. *Сравнительное исследование проведено на 30 кроликах породы Советская шиншилла. В основных группах исследовали экспериментальные модели последовательного (ЭМ-1) и комбинированного (ЭМ-2) применения чрескостного и интрамедуллярного остеосинтеза с сохранением аппарата в периоде фиксации для имитации блокирования. Для сравнения моделировали последовательное (модель сравнения 1 – МС-1) и комбинированное (модель сравнения 2 – МС-2) применение чрескостного и интрамедуллярного остеосинтеза с демонтажем аппарата по окончании дистракции. Контролем был регенерат, сформированный по классическому методу Илизарова. Рентгенограммы выполняли в динамике, КТ- и морфологические исследования – по окончании периода фиксации.*

Результаты. *Отмечено, что в группах ЭМ-1 и МС-1 формировались однотипные по структуре регенераты, как и в группах ЭМ-2 и МС-2. При последовательных методиках преобладала веретенообразная форма регенерата, отмечено формирование выраженного периостального компонента. Мощные кортикальные пластинки, по данным морфологических исследований, формируются из периостальной и интермедиарной зон. При комбинированных методиках кортикальные пластинки формируются более тонкими и преимущественно из периостального компонента, форма регенерата ближе к веретенообразной. В группах сравнения суммарное время оперативных вмешательств было на 25–50 % больше, в 50 % случаев отмечена потеря длины или деформация регенерата.*

Заключение. *Разработанные модели последовательного и комбинированного применения чрескостного и интрамедуллярного остеосинтеза при удлинении конечностей с сохранением фиксации аппаратом для имитации блокирования зарекомендовали себя как надёжные с точки зрения фиксации и простые в применении на мелких лабораторных животных.*

Ключевые слова: *экспериментальное моделирование, чрескостный остеосинтез, последовательное применение чрескостного и интрамедуллярного остеосинтеза, комбинированное применение чрескостного и интрамедуллярного остеосинтеза, удлинение поверх гвоздя*

Для цитирования: Щепкина Е.А., Лебедков И.В., Нетылько Г.И., Соломин Л.Н., Трушников В.В., Вершинин Д.М. Экспериментальное моделирование комбинированного и последовательного применения чрескостного и интрамедуллярного блокируемого остеосинтеза. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 184-197. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.21.

Experimental Modeling of Combined and Sequential Use of Transosseous and Intramedullary Blocking Osteosynthesis

Shchepkina E.A. [1, 2], Lebedkov I.V. [1], Netylko G.I. [1], Solomin L.N. [1, 3], Trushnikov V.V. [1], Vershinin D.M. [1]

[1] Vreden National Medical Center for Traumatology and Orthopedics (Academika Baykova str. 8, Saint Petersburg 195427, Russian Federation); [2] Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University (Lva Tolstogo str. 6–8, Saint Petersburg 197022, Russian Federation); [3] Saint Petersburg State University (Universitetskaya emb. 7/9, Saint Petersburg 199034, Russian Federation)

Corresponding author: Elena A. Shchepkina, e-mail: shchepkina_elena@mail.ru

Abstract

Background. *The introduction of the combined and sequential application of transosseous and intramedullary blocked osteosynthesis in limb lengthening requires an experimental study of the features of distraction regenerate. For small animals (in particular rabbits), special models are required.*

Aims. *To develop experimental models of sequential and combined use of transosseous and intramedullary osteosynthesis in limb lengthening and substantiate their effectiveness.*

Materials and methods. *A comparative study was carried out on 30 rabbits of the Soviet Chinchilla breed. Experimental models of sequential (EM-1) and combined (EM-2) application of transosseous and intramedullary osteosynthesis with*

preservation of the apparatus during the fixation period to simulate blockage were studied in the main groups. For comparison, sequential (comparison model 1 – CM-1) and combined (comparison model 2 – CM-2) use of transosseous and intramedullary osteosynthesis with dismantling of the apparatus at the end of distraction were modeled. The control was a regenerate formed according to the classical Ilizarov method. Radiographs were performed in dynamics, CT and morphological studies – at the end of the fixation period.

Results. *It was noted that regenerates of the same type in structure were formed in the EM-1 and CM-1 groups, as in the EM-2 and CM-2 groups. With successive methods, the spindle-shaped form of the regenerate prevailed, the formation of a pronounced periosteal component was noted. Powerful cortical plates, according to morphological studies, are formed from the periosteal and intermediate zones. With combined techniques, the cortical plates are formed thinner and predominantly from the periosteal component, the shape of the regenerate is closer to fusiform. In the comparison groups, the total time of surgical interventions was 25–50 % longer, in 50 % of cases there was a loss of length or deformation of the regenerate.*

Conclusions. *The developed models of sequential and combined use of transosseous and intramedullary osteosynthesis for limb lengthening with preservation of fixation with an apparatus to simulate blocking have proven to be reliable in terms of fixation and easy to use on small laboratory animals..*

Key words: *experimental modeling, external fixation, sequential use of external fixation and nailing, lengthening over the nail*

For citation: Shchepkina E.A., Lebedkov I.V., Netylko G.I., Solomin L.N., Trushnikov V.V., Vershinin D.M. Experimental Modeling of Combined and Sequential Use of Transosseous and Intramedullary Blocking Osteosynthesis. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 184-197. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.21.

АКТУАЛЬНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для изучения дистракционного остеогенеза используются модели на различных лабораторных животных – как крупных, преимущественно собаках [1, 2], так и мелких – кроликах, крысах, мышах [3, 4, 5, 6]. Внедрение в хирургическую практику методик комбинированного и последовательного применения чрескостного и интрамедуллярного блокированного остеосинтеза при удлинении конечностей требует экспериментального исследования особенностей формирующегося при этом дистракционного регенерата и выбора соответствующих экспериментальных моделей. В большинстве работ на эту тему для исследования использованы крупные лабораторные животные: овцы, козы, собаки [1, 7, 8, 9, 10, 11]. Основное преимущество этого выбора – возможность использования интрамедуллярного стержня с блокируемыми винтами, что невозможно по техническим причинам на мелких лабораторных животных. Однако при использовании крыс и кроликов можно формировать более многочисленные экспериментальные группы и за счет использования линейных или инбредных животных увеличить достоверность исследований [3, 4, 5, 6]. Поэтому для исследования регенератов, формируемых при комбинированном и последовательном применении чрескостного и интрамедуллярного блокированного остеосинтеза, на более мелких животных (в частности кроликах) требуется разработка специальных моделей.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработать экспериментальные модели для изучения на мелких лабораторных животных (кроликах) последовательного и комбинированного применения чрескостного и интрамедуллярного остеосинтеза при удлинении конечностей и обосновать их эффективность.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Экспериментальные модели

Для моделирования *последовательного* применения чрескостного и интрамедуллярного блокированного остеосинтеза при удлинении голени кролика разработана модель, при реализации которой осуществляется наложение мини-аппарата Илизарова, остеоклазия (рис. 1а) с последующим удлинением сегмента на 10 мм в темпе 1 мм/сут. за 4 приема (рис. 1б). По окончании удлинения в костномозговую полость большеберцовой кости антеградно вводится спица диаметром 2 мм, что соответствует размеру наиболее узкой части костномозгового канала. Спицы из репозиционно-фиксационных опор удаляются. Спицы в базовых кольцах сохраняются на протяжении всего периода фиксации для имитации блокирования интрамедуллярного фиксатора (рис. 1в).

Для моделирования *комбинированного* применения чрескостного и интрамедуллярного блокированного остеосинтеза при удлинении голени кролика (моделирование методики «удлинение поверх гвоздя») также разработана модель с сохранением аппарата для имитации блокирования интрамедуллярного фиксатора. Способ осуществляется следующим образом. После наложения мини-аппарата Илизарова с проведением спиц только в базовых опорах и остеоклазии в костномозговой канал большеберцовой кости вводится спица диаметром 2 мм. После этого проводится дополнительная спица в проксимальной репозиционно-фиксационной опоре (рис. 2а). Удлинение сегмента на 10 мм производится в темпе 1 мм/сут. за 4 приёма (рис. 2б). По окончании дистракции удаляется спица из репозиционно-фиксационной опоры. Аппарат с двумя спицами в проксимальной и двумя спицами в дистальной базовых опорах сохраняется весь период фиксации для имитации блокирования интрамедуллярного фиксатора (рис. 2в).

Объекты исследования. Исследования проведены на 30 половозрелых кроликах породы Советская шиншилла, весом 2500–2800 г. Работа выполнена в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных целей [12], требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 «О мерах по дальнейшему совершенствованию форм работы с использованием “экспериментальных животных”»), ГОСТ ISO 10993-6-2011 «Межгосударственный стандарт. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 6. Исследования местного действия после имплантации» и ГОСТ 31879-2012 «Принципы надлежащей лабораторной практики». Все процедуры с животными были рассмотрены и утверж-

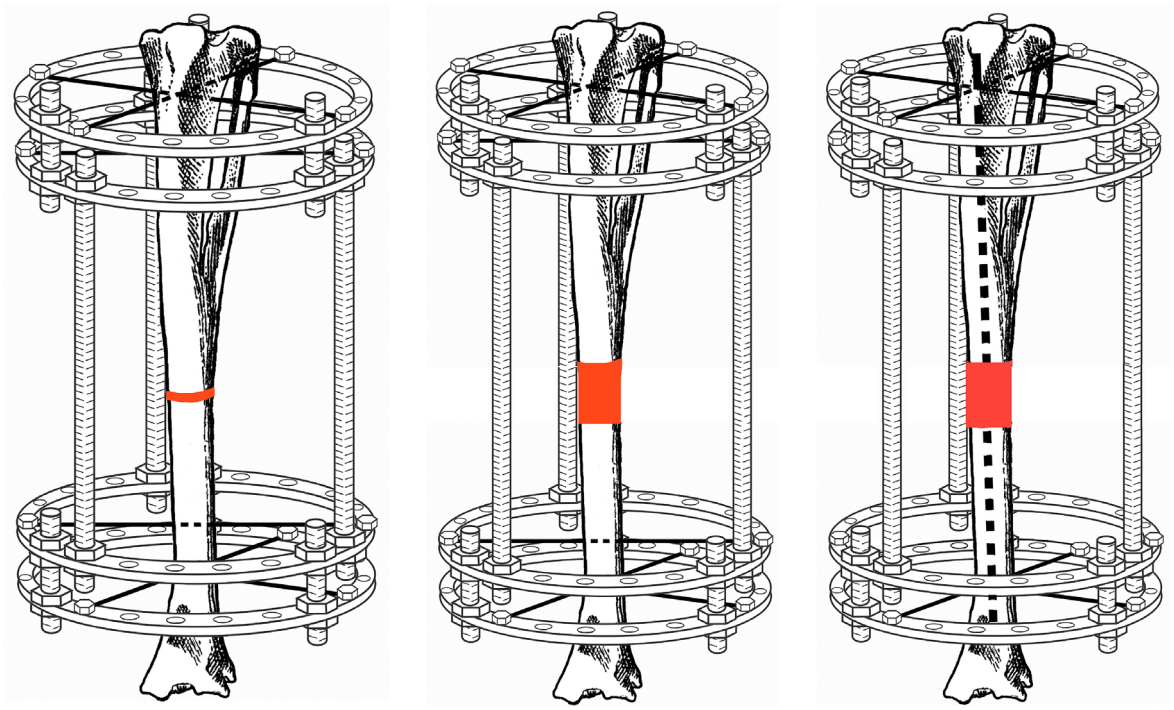


Рис. 1. Схема моделирования последовательного применения чрескостного и интрамедуллярного остеосинтеза при удлинении голени кролика: **а** – наложение аппарата и остеоклазия; **б** – удлинение на 10 мм; **в** – установка интрамедуллярного фиксатора, удаление спиц из репозиционно-фиксационных опор с сохранением спиц в базовых кольцах для имитации блокирования

Fig. 1. Scheme of modeling the sequential application of transosseous and intramedullary osteosynthesis in the lengthening of the rabbit tibia: **а** – the imposition of the apparatus and osteoclasia; **б** – lengthening by 10 mm; **в** – installation of an intramedullary fixator, removal of the wires from the repositioning-fixation supports while preserving the wires in the base rings to simulate blocking

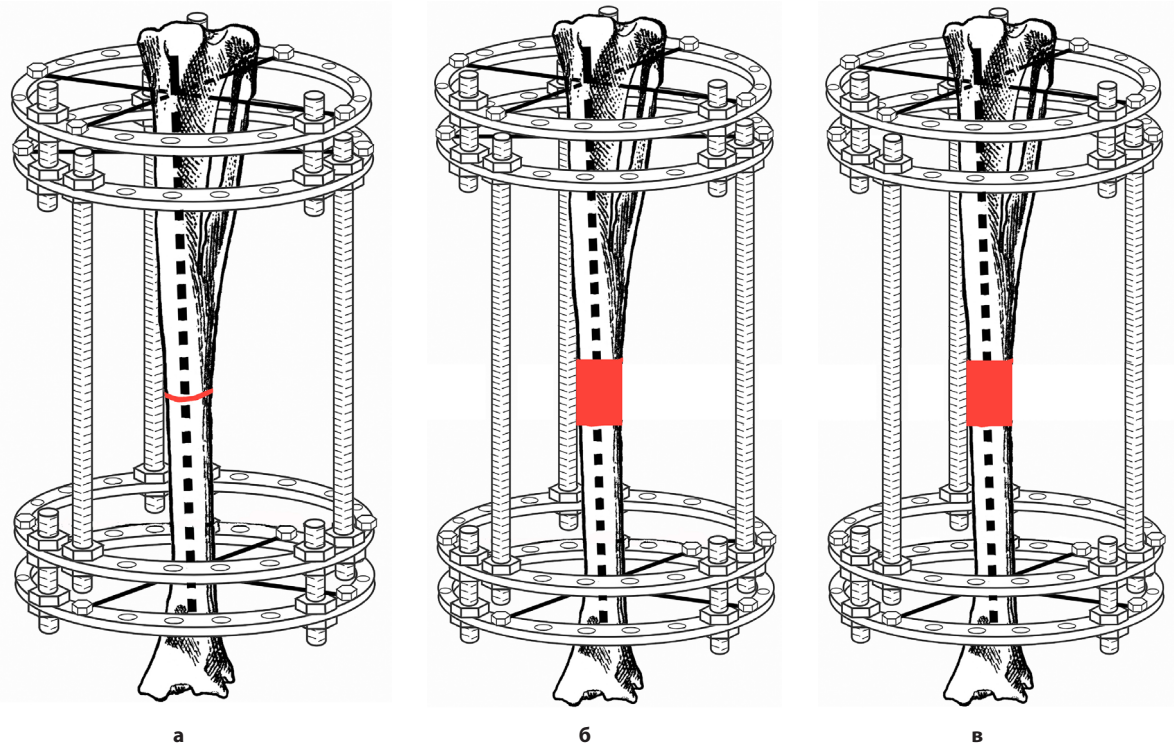


Рис. 2. Схема моделирования комбинированного применения чрескостного и интрамедуллярного остеосинтеза при удлинении голени кролика (удлинение поверх гвоздя): **а** – наложение аппарата, остеоклазия и установка интрамедуллярного фиксатора; **б** – удлинение на 10 мм; **в** – удаление спиц из репозиционно-фиксационной опоры с сохранением спиц в базовых кольцах для имитации блокирования

Fig. 2. Simulation scheme for the combined use of transosseous and intramedullary osteosynthesis for rabbit tibia lengthening (lengthening over the nail): **а** – application of the apparatus, osteoclasia and installation of an intramedullary fixator; **б** – lengthening by 10 mm; **в** – removal of the wires from the repositioning-fixation support while preserving the wires in the base rings to simulate blocking

дены локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ ТО им. Р.Р. Вредена» Минздрава России по использованию животных на предмет соответствия этическим принципам. Условия содержания животных соответствовали стандартам, указанным в руководстве The Guide for Care and Use of Laboratory Animals [13]. Животные были получены из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово», клинически были здоровы, имели ветеринарный сертификат качества и состояния здоровья, находились в идентичных условиях кормления и содержания. В экспериментальные группы были отобраны животные без признаков отклонений внешнего вида. На каждое животное заводили отдельную историю болезни. При подготовке к операции за сутки прекращали кормление, животные получали лишь воду. Операции проводились под внутривенным наркозом (Sol. Ketamini 3% 4 мл + Sol. Relanium 2 ml). После каждой операции животным проводили периоперационную профилактику инфекционных осложнений препаратом цефазолин в дозе 0,3 г внутримышечно 1 раз в день в течение 3 дней. Эвтаназия животных производилась путём введения тиопентала. Все манипуляции над животными проводили в соответствии с Хельсинкской декларацией о гуманном обращении с животными.

Распределение животных по группам. Животные были распределены на 5 экспериментальных групп по 6 особей так, чтобы индивидуальное значение массы не отклонялось от среднего значения в группе более чем на ± 10 %.

Группа 1: Контрольный регенерат (КР) – удлинение и фиксация в мини-аппарате Илизарова.

Группа 2: Экспериментальная модель 1 (ЭМ-1) – модель последовательного применения чрескостного и интрамедуллярного остеосинтеза при удлинении голени с сохранением аппарата на весь период фиксации для имитации блокирования.

Группа 3: Модель сравнения 1 (МС-1) – модель последовательного применения чрескостного и интрамедуллярного остеосинтеза при удлинении голени с демонтажем аппарата.

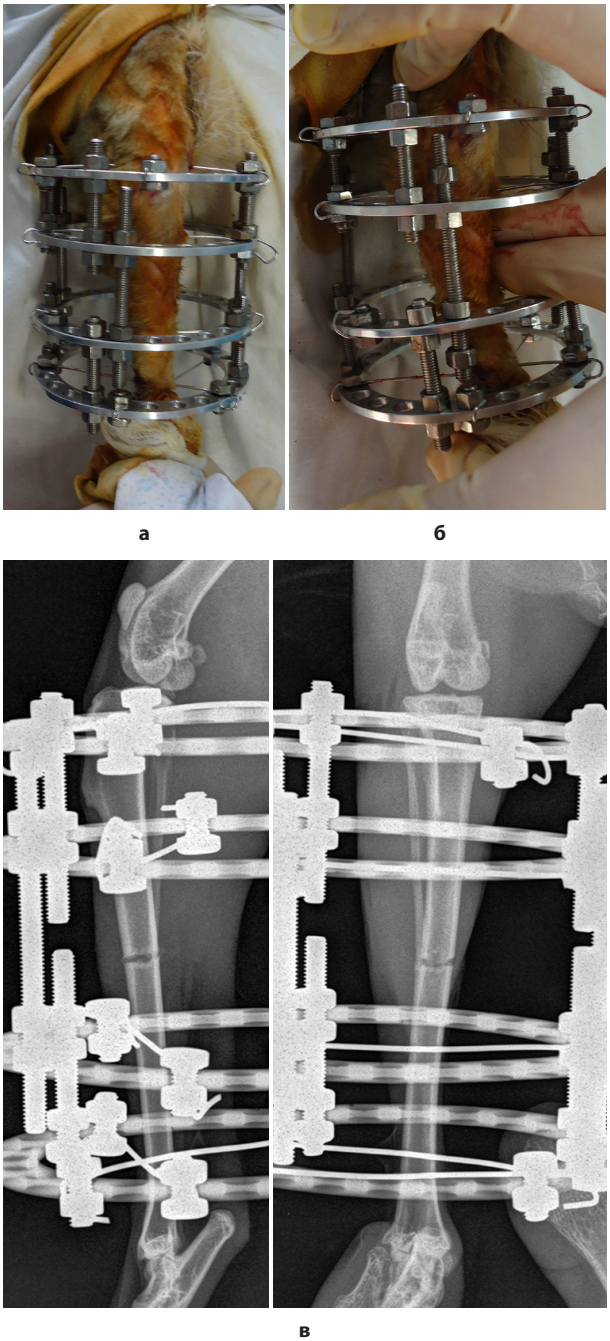
Группа 4: Экспериментальная модель 2 (ЭМ-2) – модель комбинированного применения чрескостного и интрамедуллярного остеосинтеза при удлинении голени (удлинение поверх гвоздя) с сохранением аппарата для имитации блокирования.

Группа 5: Модель сравнения 2 (МС-2) – модель комбинированного применения чрескостного и интрамедуллярного остеосинтеза при удлинении голени (удлинение поверх гвоздя) с демонтажем аппарата.

Хирургическая техника

В группах КР, ЭМ-1 и МС-1 на первом этапе всем животным накладывали на голень мини-аппарат Илизарова на основе четырёх колец (рис. 3а). После ослабления соединительных стержней между репозиционно-фиксационными опорами из двух доступов производили просверливание кости в 3–4 направлениях спицей диаметром 1,5 мм и после этого выполняли остеоклазию (рис. 3б). Аппарат стабилизировали, выполняли рентген-контроль состоятельности остеоклазии (рис. 3в). Дистракцию начинали с пятых суток послеоперационного периода в темпе 1 мм в сутки за четыре приёма и производили в течение 10 дней для формирования регенерата длиной 10 мм. Рентгенограммы в двух стандартных проекциях осуществляли в середине и конце периода дистракции. Схема аппарата внешней фиксации представлена согласно «Методу унифицированного обозначения чрескостного остеосинтеза» [14]:

$$\frac{\text{I,8-2;I,4-10}}{70} _ \frac{\text{III,3-9}}{70} \leftrightarrow \frac{\text{VI,3-9}}{70} _ \frac{\text{VIII,8-2;VIII,4-10}}{70}$$



а **б**

в

Рис. 3. Этапы первого хирургического вмешательства: **а** – монтаж аппарата; **б** – остеоклазия; **в** – рентген-контроль после операции

Fig. 3. Stages of the first surgical intervention: **а** – installation of the device; **б** – osteoclasia; **в** – X-ray control after surgery

В группе ЭМ-1 применяли разработанный способ моделирования последовательного применения чрескостного и интрамедуллярного блокированного остеосинтеза при удлинении голени, схема которого представлена на рисунке 1. По окончании дистракции из разреза 7–10 мм

по передней поверхности коленного сустава с отведением связки надколенника кнаружи (рис. 4а) интрамедуллярно вводили спицу диаметром 2 мм (рис. 4б), что соответствует размеру узкой части костномозгового канала большеберцовой кости кролика. Спицы проксимальной базовой опоры не препятствовали проведению интрамедуллярного фиксатора. По ходу проведения спицы через проксимальный и дистальный фрагменты последовательно удаляли спицы из проксимальной и дистальной репозиционно-фиксационных опор, чтобы избежать конфликта и отклонения интрамедуллярного фиксатора. При проведении спицы через регенерат просверливание канала прекращали, продолжали пробивание молотком (рис. 4в) при дополнительном мануальном контроле положения костных фрагментов. Спицу проводили до перекреста спиц дистальной базовой опоры на уровне дистального метаэпифиза большеберцовой кости. Оставшуюся вне кости часть спицы, проведённой интрамедуллярно, укорачивали максимально и погружали в кость (рис. 4г), рану ушивали. Рентген-контроль осуществляли интраоперационно и по окончании операции (рис. 4д). Сохраняли фиксацию в аппарате, где оставшиеся четыре спицы в базовых опорах имитировали блокирование интрамедуллярного фиксатора.

В группе МС-1 по окончании дистракции для сравнения моделировали последовательное применение чрескостного и интрамедуллярного блокируемого остеосинтеза при удлинении голени, блокируя интрамедуллярные фиксаторы в кости с последующим демонтажем аппарата.

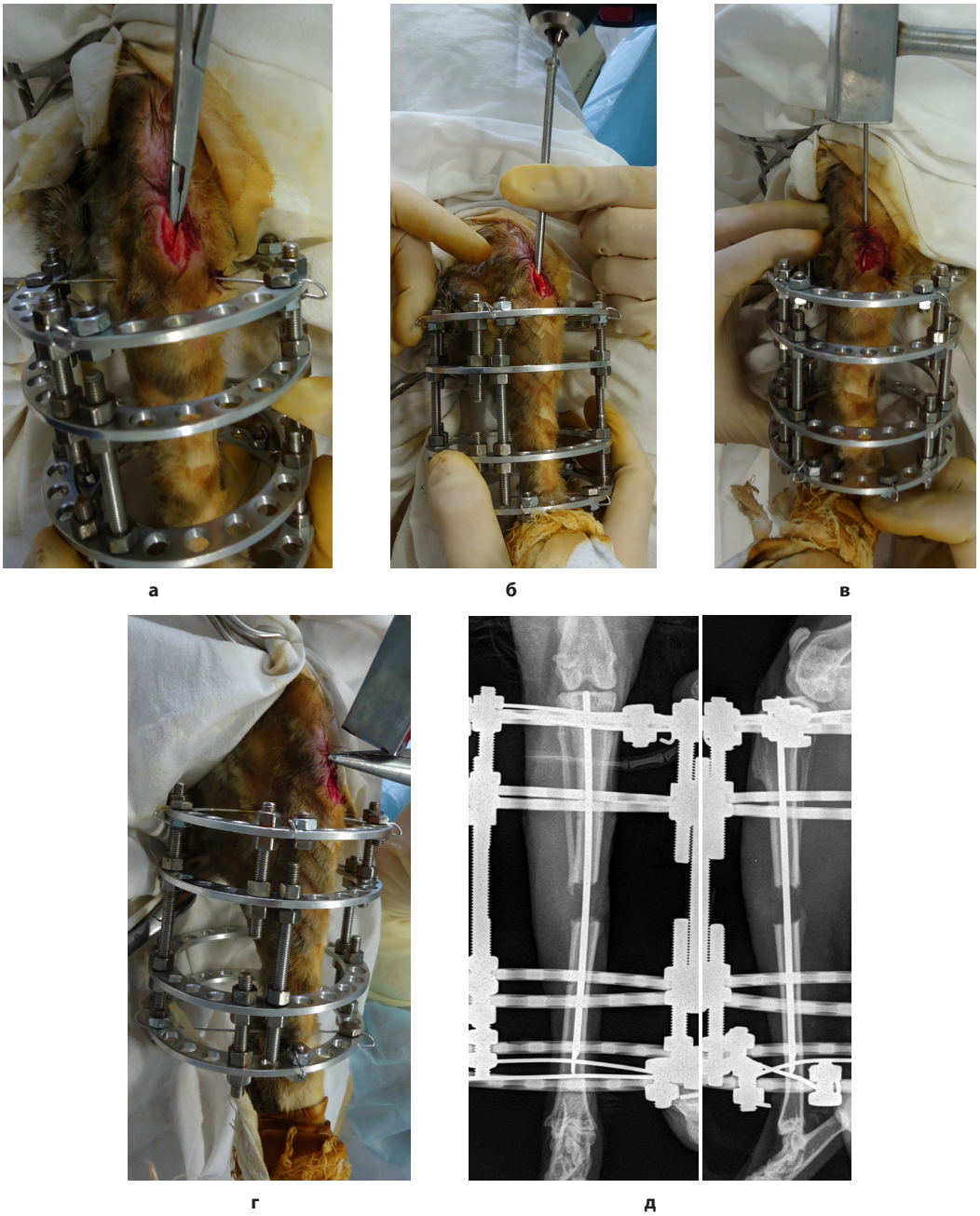


Рис. 4. Этапы второго хирургического вмешательства в группе ЭМ-1: **а** – доступ для введения интрамедуллярного фиксатора; **б, в** – введение интрамедуллярного фиксатора; **г** – погружение фиксатора в кость; **д** – рентген-контроль после операции

Рис. 4. Stages of the second surgical intervention in the EM-1 group: **а** – access for the introduction of an intramedullary fixator; **б, в** – introduction of an intramedullary fixator; **г** – immersion of the fixator into the bone; **д** – X-ray control after surgery

Для этого выполняли интрамедуллярный остеосинтез двумя спицами диаметром 1,2 мм, которые вводились из надлодыжечной области и имели выход в области мыщелков, их выводили через отдельный разрез по передней поверхности коленного сустава (рис. 5а,б). Спицы вводились аналогично методике интрамедуллярного армирования [15], но, в отличие от армирования двухмиллиметровыми спицами костномозгового пространства большеберцовой кости собаки, у кролика две спицы диаметром 1,2 мм полностью занимали самое узкое место костномозгового канала и являлись аналогом интрамедуллярного стержня для данной кости. По ходу введения интрамедуллярных спиц удаляли спицы из репозиционно-фиксационных опор аппарата. Концы проведённых интрамедуллярно спиц изгибали и блокировали путем погружения (забивания) в метафиз проксимального (рис. 5в) и дистального отделов кости. В дистальном отделе с учетом дефицита мягких тканей спицы погружали в метафиз через отдельный прокол, и часть конструкции оставалась над кожей (рис. 5г). В проксимальном отделе конструкция без натяжения закрывалась мягкими тканями, после ушивания раны аппарат демонтировали (рис. 5д). Рентген-контроль выполняли интраоперационно для контроля за положением интрамедуллярных конструкций и в конце операции (рис. 5е).

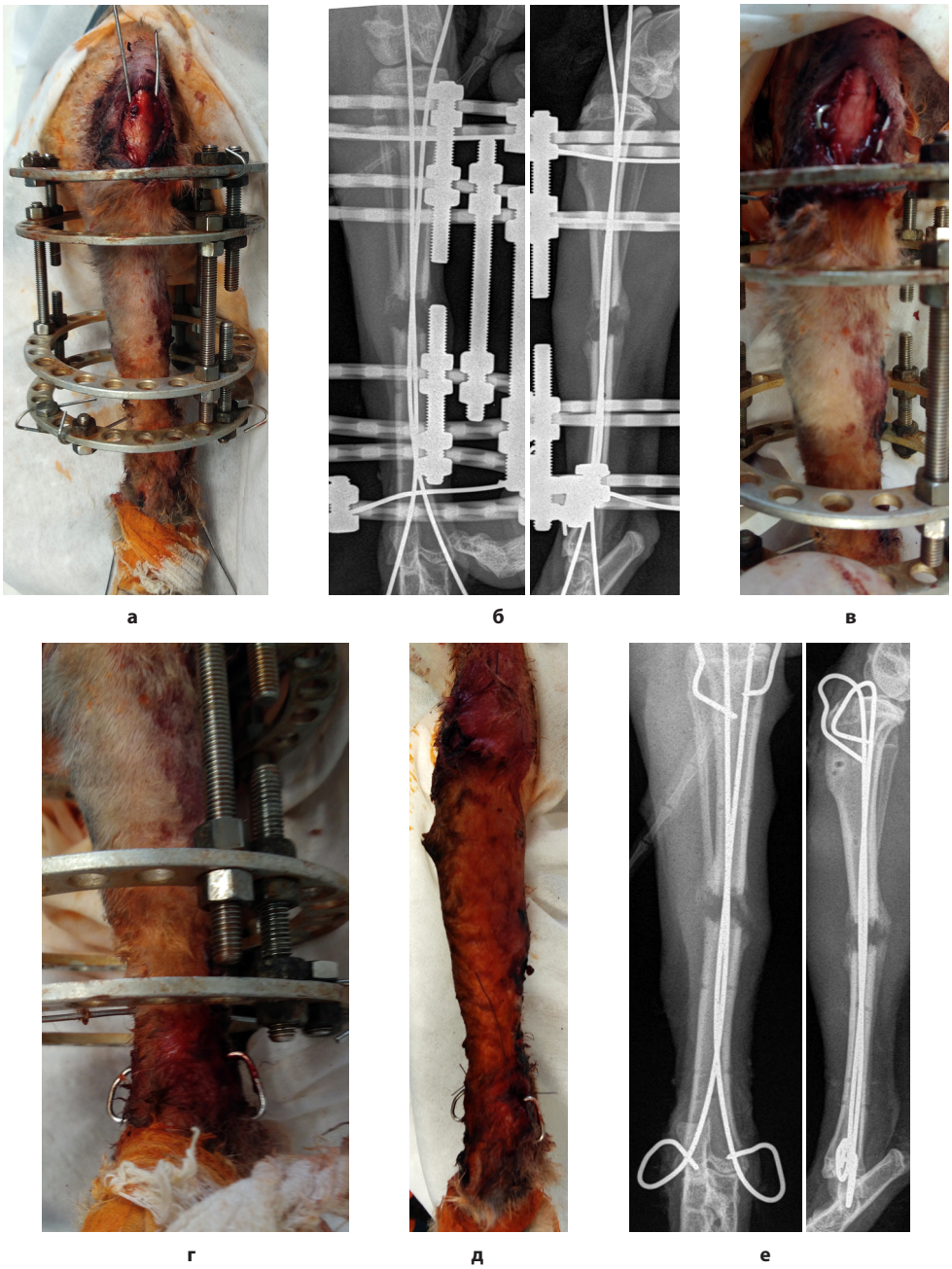
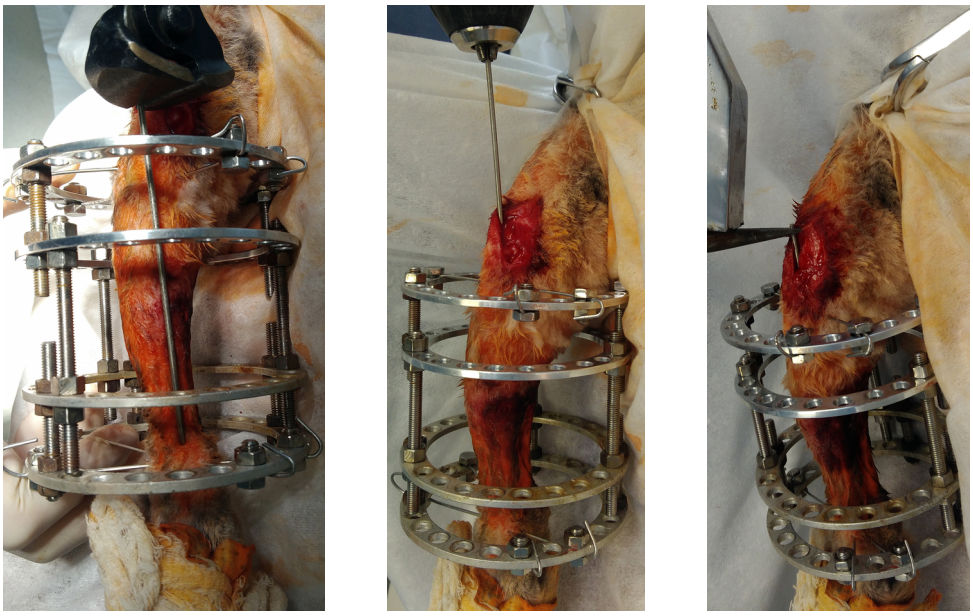


Рис. 5. Этапы второго хирургического вмешательства в группе МС-1: **а** – проведение интрамедуллярных спиц; **б** – интраоперационная рентгенограмма; **в** – блокирование спиц в проксимальном отделе; **г** – блокирование спиц в дистальном отделе; **д** – внешний вид сегмента после демонтажа аппарата; **е** – рентгенограммы после демонтажа аппарата

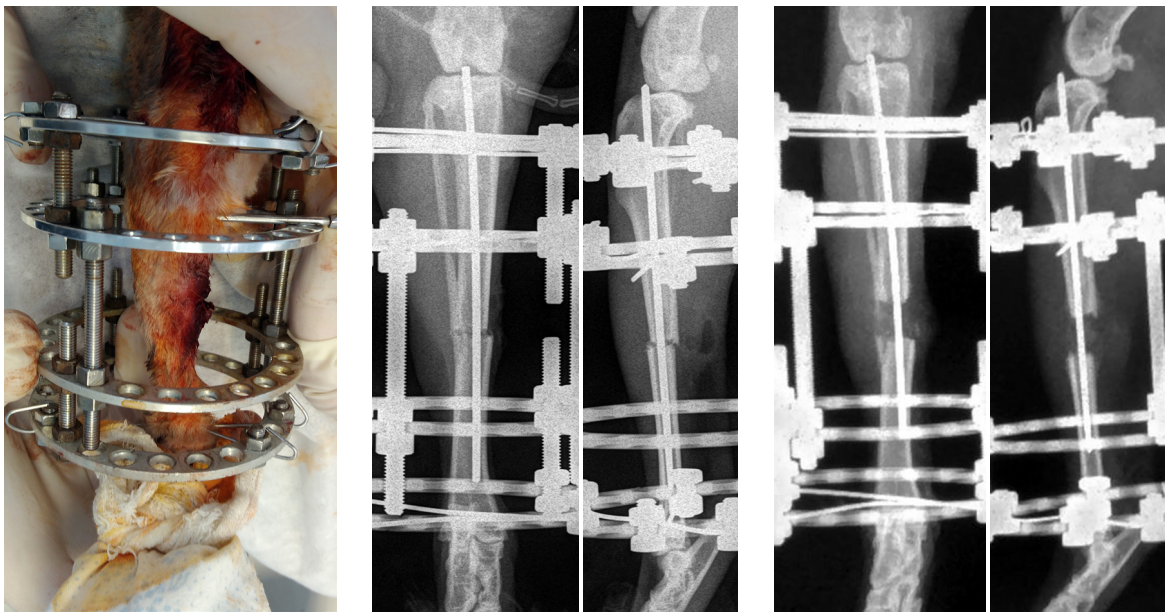
Fig. 5. Stages of the second surgical intervention in the CM-1 group: **а** – insertion of intramedullar wires; **б** – intraoperative X-ray control; **в** – blocking of the wires in the proximal section; **г** – blocking of the wires in the distal section; **д** – the appearance of the segment after dismantling the apparatus; **е** – X-ray control after dismantling the apparatus

В группе ЭМ-2 применяли разработанный способ моделирования комбинированного применения чрескостного и интрамедуллярного блокированного остеосинтеза при удлинении голени (моделирование методики «удлинение поверх гвоздя»), схема которого представлена на рисунке 2. После монтажа аппарата с проведением спиц только в базовых опорах и выполнения остеоклазии определяли необходимую длину интрамедуллярного фиксатора с учётом планируемого удлинения (рис. 6а). Из разреза по передней поверхности коленного сустава с отведением связки надколенника в костномозговой канал вводили спицу диаметром 2 мм (рис. 6б). После погружения интрамедуллярного фиксатора в мягкие ткани и ушивания раны (рис. 6в) проводили дополнительную спицу в проксимальной репозиционно-фиксационной опоре, после чего аппарат стабилизировали (рис. 6г). Аппарат внешней фиксации, согласно «Методу унифицированного обозначения чрескостного остеосинтеза» [14], соответствовал следующей схеме:

$$\frac{\text{I,8-2;I,4-10}}{70} \; _ \; \frac{\text{III,3-9}}{70} \leftrightarrow \frac{\quad}{70} \; _ \; \frac{\text{VIII,8-2;VIII,4-10}}{70}$$



а б в



г д е

Рис. 6. Этапы хирургического вмешательства в группе ЭМ-2: **а** – определение необходимого размера интрамедуллярного фиксатора после монтажа аппарата и выполнения остеоклазии; **б** – введение интрамедуллярного фиксатора; **в** – погружение интрамедуллярного фиксатора в мягкие ткани; **г** – проведение дополнительной спицы; **д** – рентген-контроль после операции; **е** – рентгенограммы в конце дистракции

Fig. 6. Stages of surgical intervention in the EM-2 group: **а** – determination of the required size of the intramedullary fixator after the installation of the device and osteoclasia; **б** – introduction of an intramedullary fixator; **в** – immersion of the intramedullary fixator into soft tissues; **г** – insertion of an additional wire; **д** – X-ray control after surgery; **е** – X-ray control at the end of distraction

Рентген-контроль выполняли интраоперационно и по окончании операции (рис. 6д). Дистракцию начинали с 5-х суток послеоперационного периода в темпе 1 мм/сут. за 4 приёма в течение 10 дней до формирования регенерата длиной 10 мм. По окончании дистракции удаляли спицу из репозиционно-фиксационной опоры, 4 спицы в базовых опорах оставляли как имитацию блокирования интрамедуллярного фиксатора (рис. 6е).

В группе МС-2 для сравнения моделировали комбинированное применение чрескостного и интрамедуллярного блокируемого остеосинтеза при удлинении голени, блокируя интрамедуллярные фиксаторы в кости по окончании дистракции с последующим демонтажем аппарата. Для этого на первом этапе выполняли интрамедуллярный остеосинтез двумя спицами диаметром 1,2 мм, которые вводились из надлодыжечной области и имели выход в области мыщелков. Их выводили через отдельный разрез по передней поверхности коленного сустава (рис. 7а). Спицы блокировали в дистальном отделе аналогично модели МС-1, погружая загнутые концы в метафиз (рис. 7б). После этого накладывали мини-аппарат Илизарова, аналогично схеме в группе

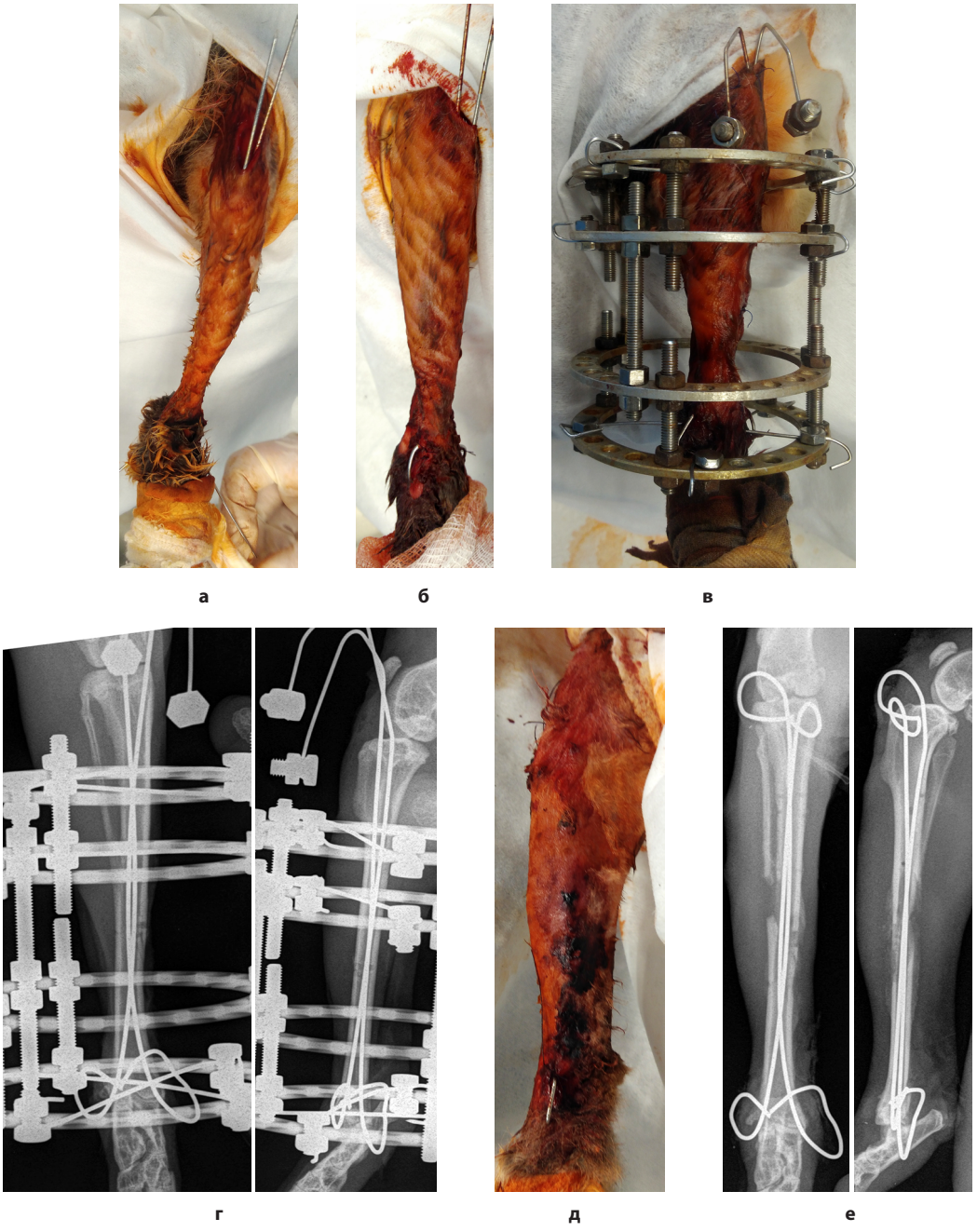


Рис. 7. Этапы хирургических вмешательств в группе МС-2: **а** – проведение интрамедуллярных спиц; **б** – блокирование интрамедуллярных спиц в дистальном отделе большеберцовой кости; **в** – наложение мини-аппарата Илизарова, остеоклазия; **г** – послеоперационный рентген-контроль до начала дистракции; **д** – внешний вид сегмента после блокирования спиц в проксимальном отделе по окончании удлинения и демонтажа аппарата; **е** – рентген-контроль после демонтажа аппарата

Fig. 7. Stages of surgical interventions in the CM-2 group: **а** – introduction of intramedullary wires; **б** – blocking of intramedullary wires in the distal tibia; **в** – the imposition of the Ilizarov mini-apparatus, osteoclasia; **г** – postoperative X-ray control before the start of distraction; **д** – the view of the segment after the locking of the wires in the proximal section at the end of the lengthening and dismantling of the apparatus; **е** – X-ray control after dismantling the device

ЭМ-2 и после предварительного просверливания, скручивающими движениями выполняли остеоклазию. Интрамедуллярные спицы в проксимальном отделе оставляли свободными, укрепляя на их концах спицефиксаторы для предотвращения травматизации мягких тканей (рис. 7в). Выполняли рентген-контроль (рис. 7г). Дистракцию начинали с 5-х суток послеоперационного периода в темпе 1 мм/сут. за 4 приёма в течение 10 дней. По окончании дистракции выполняли второй этап хирургического вмешательства. Для этого из разреза по передней поверхности коленного сустава выполняли блокирование интрамедуллярных спиц в проксимальном отделе большеберцовой кости, фиксируя загнутые концы спиц в метафизе по аналогии с МС-1. Аппарат демонтировали после ушивания раны (рис. 7д), выполняли рентген-контроль (рис. 7е).

Во всех группах фиксацию осуществляли до тридцати суток, что у кролика при удлинении на 1 см соответствует срокам формирования кортикального слоя на протяжении 3/4 или всей окружности регенерата. Эвтаназию трети животных из каждой группы для забора тканей на морфологическое исследование выполняли на середине периода фиксации, остальных – в конце периода фиксации. Рентгенографию в двух стандартных проекциях и компьютерную томографию (КТ) выполняли после эвтаназии до забора материала на морфологическое исследование.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБОРУДОВАНИЕ

Рентгенография выполнялась интраоперационно, по окончании операции, на середине и по окончании периода дистракции, а также на 15-е и 30-е сутки фиксации. Для этого использовали аппарат 10Л6-01 «Арман-6» (ОАО «Актюбрентген», Республика Казахстан). Для оцифровки изображения использовали комплекс для цифровой рентгенографии системы CR, дигинайзер Agfa (AGFA, Бельгия). Оценку рентгенограмм производили в программном обеспечении Agfa. Томографические исследования проводили после выведения животных из эксперимента на компьютерном томографе Toshiba Aquilion Prime 80 срезов – 160 виртуальных (Toshiba, Япония). Обработку срезов, полученных при рентгеновской компьютерной томографии, проводили в режиме мультипланарной реконструкции (MPR) в сагиттальной и фронтальной плоскостях, используя программы врачебной станции Aquilion (Toshiba, Япония) и e-Film. Для морфологических исследований после эвтаназии животного сегмент конечности (голень) фиксировали в 10%-м растворе формалина в течение 48 ч. Аппарат внешней фиксации предварительно демонтировали. В дальнейшем материал вырезали с захватом 1 см кости в проксимальном и дистальном направлении от регенерата, проводили декальцинацию в насыщенном растворе трилона В и повторно фиксировали в 10%-м нейтральном формалине, обезвоживали в изопропаноле восходящей концентрации с использованием установки проводки гистологического материала Microm STP-120 (Micron Technology, США) и заливали в парафин, применяя заливочную установку Leica (Leica, Германия). Срезы толщиной 5 мкм получали с помощью санного микротома Leica (Leica Microsystems, Германия) и окрашивали гематоксилином-эозином (Биовитрум, Россия) и по Маллори (Биовитрум, Россия) с использованием установки окраски «Рафаэлло» (DIAPATH, S.p.A., Италия). Патоморфологический анализ гистологических препаратов и фотодокументирование проводили, используя микроскоп Nikon E-50i (Nikon, Япония), объективы 4, 10, 20 и 40 и окуляр 10 (Nikon, Япония).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В группах КР, ЭМ-1 и МС-1 длительность операции по наложению аппарата и выполнению остеоклазии варьировала от 25 до 35 минут. Операции по установке интрамедуллярного фиксатора в группе ЭМ-1 занимали также 25–35 минут, длительность операций по установке интрамедуллярных фиксаторов и их блокированию с последующим демонтажем аппарата в группе МС-1 была больше и составляла от 45 минут до 1 часа. В группах ЭМ-2 и МС-2 первое вмешательство было большим по объёму, включая установку интрамедуллярных фиксаторов, наложение аппарата и остеоклазию: его длительность в группе ЭМ-2 составляла от 45 минут до 1 часа, в группе МС-2 – от 1 часа до 1 часа 15 минут, что было связано с необходимостью выполнения дистального блокирования интрамедуллярных спиц. По окончании дистракции в группе ЭМ-2 дополнительных хирургических вмешательств не требовалось, выполнялось только удаление одной спицы. В группе МС-2 выполнялось проксимальное блокирование интрамедуллярных спиц и демонтаж аппарата, что составляло по длительности 35–45 минут.

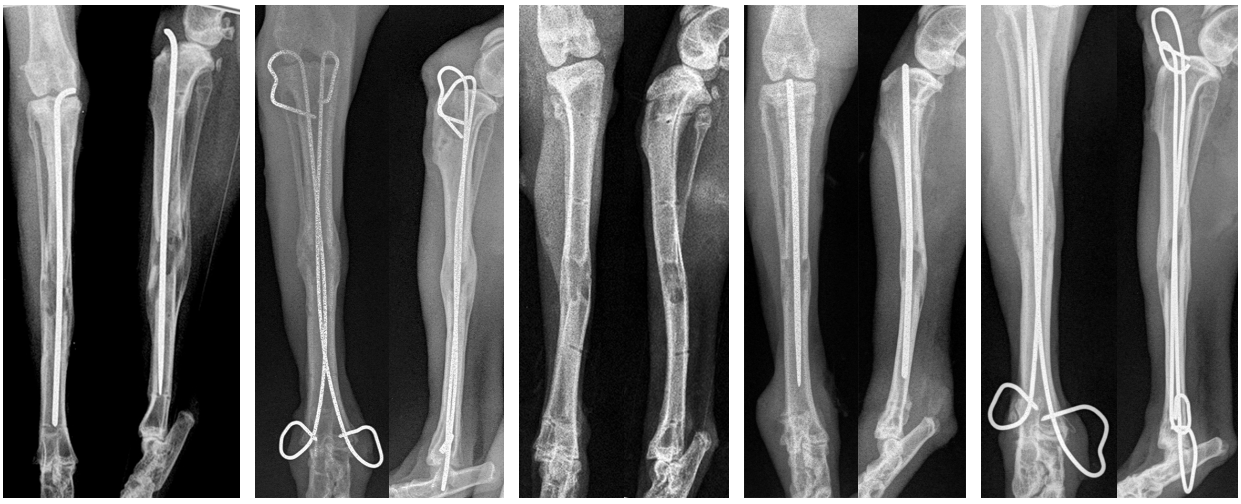
Как в периоде удлинения, так и в периоде фиксации при сохранении аппарата для имитации блокирования животные начинали опираться на оперированную конечность на 1-й день после операции, а на 2–3-и сутки передвигались с опорой на оперированную конечность. Движения в коленном суставе были незначительно ограничены проксимальным кольцом аппарата, что, однако, не мешало животному принимать привычную позу в покое и передвигаться (рис. 8а, б). В группах, где аппарат демонтировали, животные в большей степени щадили оперированную конечность и начинали опираться на неё к 3-м суткам после операции. Движения в коленном суставе также были незначительно ограничены, что было связано с элементами конструкции в местах блокирования.

В группах МС-1 и МС-2, где производился демонтаж аппарата, в половине случаев отмечена либо деформация, либо потеря длины регенерата до 20 %, что было связано с потерей жёсткости блокирования. Случаи с потерей длины регенерата в сравнительную оценку не включались. В группах ЭМ-1 и ЭМ-2 при сохранении аппарата с 4 спицами в базовых опорах ни в одном случае потери длины регенерата отмечено не было. Ни в одной экспериментальной группе нами не отмечено инфекционных осложнений.

При рентгенографии, КТ и морфологических исследованиях отмечено, что в группах ЭМ-1 и МС-1 формировались однотипные по структуре регенераты, как и в группах ЭМ-2 и МС-2. В то же время регенераты, формируемые при последовательном и комбинированном применении чрескостного и интрамедуллярного остеосинтеза отличаются от контрольного регенерата, где интрамедуллярная фиксация не применяется, а также между собой. При последовательном применении чрескостного и интрамедуллярного остеосинтеза отмечено формирование выраженного периостального

а б

Рис. 8. Положение конечности в покое (а) и при движениях (б) в период фиксации в аппарате
Fig. 8. The position of the limb at rest (a) and during movements (б) during the period of fixation in the apparatus

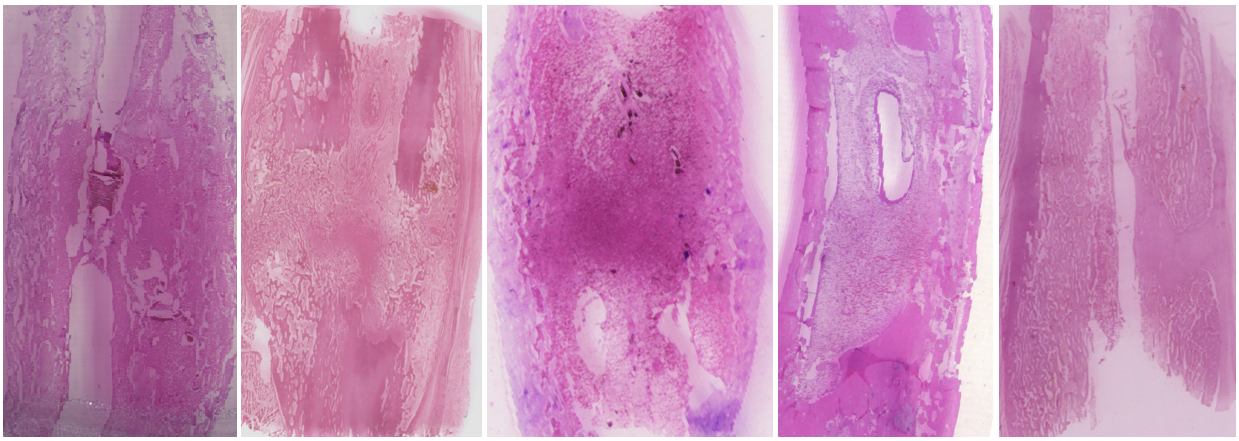


а б в г д

Рис. 9. Рентгенограммы на сроке 30 суток фиксации: **а** – группа ЭМ-1; **б** – группа МС-1; **в** – группа КР; **г** – группа ЭМ-2; **д** – группа МС-2
Fig. 9. X-rays on 30th day of fixation: **а** – group EM-1; **б** – group CM-1; **в** – group CR (control regenerate); **г** – group EM-2; **д** – group CM-2

а б в г д

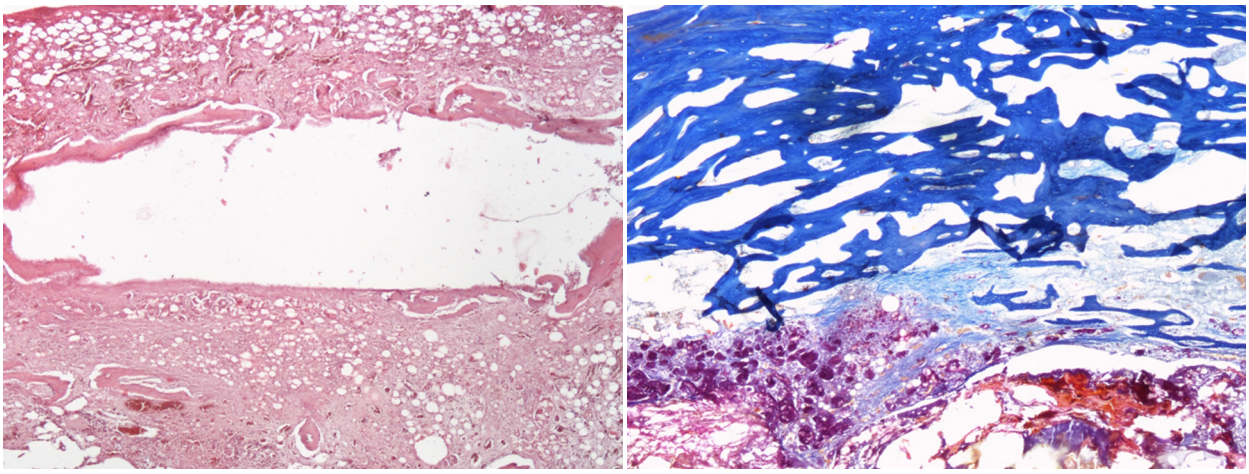
Рис. 10. КТ-реформации на сроке 30 суток фиксации: **а** – группа ЭМ-1; **б** – группа МС-1; **в** – группа КР; **г** – группа ЭМ-2; **д** – группа МС-2
Fig. 10. CT reformating on 30th day of fixation: **а** – group EM-1; **б** – group CM-1; **в** – group CR (control regenerate); **г** – group EM-2; **д** – group CM-2



а б в г д

Рис. 11. Гистотопограммы регенератов на 30-е сутки фиксации (окраска гематоксилин-эозином): **а** – группа ЭМ-1; **б** – группа МС-1; **в** – группа КР; **г** – группа ЭМ-2; **д** – группа МС-2

Fig. 11. Histotopography of the regenerates on 30th day of fixation (hematoxylin and eosin staining): **а** – group EM-1; **б** – group CM-1; **в** – group CR (control regenerate); **г** – group EM-2; **д** – group CM-2



а б

Рис. 12. Гистологическая картина эндостальной зоны регенерата на 30-е сутки фиксации при комбинированном и последовательном использовании чрескостного и интрамедуллярного блокируемого остеосинтеза: **а** – формирование соединительнотканной капсулы вокруг интрамедуллярного фиксатора (окраска гематоксилин-эозином; ув. × 40); **б** – восстановление структуры костного мозга в пространстве между капсулой и формирующейся кортикальной пластинкой с превалированием жировой ткани (окраска по Маллори; ув. × 40)

Fig. 12. The histological picture of the endosteal zone of the regenerate on the 30th day of fixation with the combined and sequential use of transosseous and intramedullary blocked osteosynthesis: **а** – formation of a connective tissue capsule around the intramedullary fixator (staining with hematoxylin-eosin; magnification ×40); **б** – restoration of the bone marrow structure in the space between the capsule and the forming cortical plate with the prevalence of adipose tissue (Mallory stain; magnification ×40) fixation in the apparatus

компонента регенерата (рис. 9а, б, рис. 10а, б), Регенераты имели веретенообразную форму, тогда как в контрольном регенерате (рис. 9в, рис. 10в) – преимущественно цилиндрическую.

При этом мощные кортикальные пластинки, по данным морфологических исследований, формируются из периостальной и интермедиарной зон (рис. 11а, б). В то же время при комбинированном применении чрескостного и интрамедуллярного остеосинтеза при «удлинении поверх гвоздя» кортикальные пластинки формируются более тонкими и преимущественно из периостального компонента регенерата (рис. 10г, д, рис. 11г, д), но регенерат тоже ближе к веретенообразной форме (рис. 9г, д, рис. 10г, д). К 15-м суткам фиксации во всех группах при интрамедуллярной фиксации формируется соединительнотканная капсула вокруг конструкции, на 30-е сутки капсула утолщается (рис. 12а), и в промежутке между капсулой и формирующимися кортикальными пластинками восстанавливаются структуры костного мозга, представленного преимущественно жировой тканью (рис. 12б).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные при комбинированном применении чрескостного и интрамедуллярного остеосинтеза соотносятся с данными других экспериментальных исследований, где отмечается активизация периостального костеобразования [1, 7, 8, 9, 10, 11], в то же время ряд авторов отмечают угнетение эндостального костеобразования [1, 7], убедительных доказательств которого

нами не отмечено. При последовательном применении чрескостного и интрамедуллярного остеосинтеза мы уже отмечали в предварительном сообщении [16] о формировании мощных кортикальных пластинок в периостальной и интермедиарной зонах. Но результаты экспериментальных исследований по этой методике в периодической литературе отсутствуют. Из экспериментальных моделей лучшие качества показали модели с сохранением аппарата для имитации блокирования интрамедуллярного фиксатора. Надёжность фиксации обеспечивает сохранение достигнутой величины регенерата и предотвращает деформации. Время, суммарно затрачиваемое на оперативные вмешательства, при этих методиках на 25–50 % меньше, чем при попытке заблокировать интрамедуллярные спицы и снять аппарат. На надёжность фиксации при сохранении аппарата указывали ещё C.C. Lin et al. [17], когда после удлинения голени коз интрамедуллярный стержень не блокировали, а сохраняли монолатеральный аппарат, имеющий по 2 стержня Шанца в проксимальном и дистальном отделах. Методику комбинированной техники удлинения с переходом с циркулярного на монолатеральный аппарат описывают М.А. Степанов с соавт. [18], при этом также отмечаются особенности формирования регенерата с активизацией периостального костеобразования. Но если в экспериментах на крупных животных (собаки, овцы) на современном этапе целесообразно применять варианты стандартных блокируемых стержней и демонтировать аппарат по окончании дистракции, то для более мелких животных (кролики) целесообразно использовать модели с сохранением аппарата как имитацию блокирования интрамедуллярного фиксатора. На разработанный способ моделирования последовательного применения чрескостного и интрамедуллярного блокированного остеосинтеза получен патент РФ № 2593583 [19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанные методики для экспериментального моделирования последовательного и комбинированного применения чрескостного и интрамедуллярного блокированного остеосинтеза при удлинении конечностей с сохранением фиксации аппаратом для имитации блокирования интрамедуллярного фиксатора зарекомендовали себя как надёжные с точки зрения фиксации и простые в применении. Их целесообразно использовать на таких лабораторных животных, как кролики, при исследованиях особенностей формирования дистракционного регенерата, что позволяет расширять экспериментальные группы и увеличивать достоверность исследований за счёт проведения экспериментов на инбредных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ерофеев С.А. Особенности репаративного остеогенеза и управление дистракционным остеогенезом при чрескостном остеосинтезе. В кн.: *Основы чрескостного остеосинтеза.* М.: БИНОМ; 2014; 1: 220-250.

2. Kusec V, Jelic M, Borovecki F, Kos J, Vukicevic S, Korzinek K. Distraction osteogenesis by Ilizarov and unilateral external fixators in a canine model. *Int Orthop.* 2003; 27(1): 47-52. doi: 10.1007/s00264-002-0391-z

3. Hvid I, Horn J., Huhnstock S, Steen H. The biology of bone lengthening. *J Child Orthop.* 2016; 10(6): 487-492. doi: 10.1007/s11832-016-0780-2

4. Pithioux M, Roseren F, Jalain C, Launay F, Charpiot P, Chabrand P, et al. An efficient and reproducible protocol for distraction osteogenesis in a rat model leading to a functional regenerated femur. *J Vis Exp.* 2017; (128): 56433. doi: 10.3791/56433

5. Aleksyniene R, Thomsen JS, Eckardt H, Bundgaard KG, Lind M, Hvid I. Parathyroid hormone PTH(1–34) increases the volume, mineral content, and mechanical properties of regenerated mineralizing tissue after distraction osteogenesis in rabbits. *Acta Orthop.* 2009; 80: 716-723. doi: 10.3109/17453670903350032

6. Lybrand K, Bragdon B, Gerstenfeld L. Overview of biological mechanisms and applications of three murine models of bone repair: closed fracture with intramedullary fixation, distraction osteogenesis, and marrow ablation by reaming. *Curr Protoc Mouse Biol.* 2015; 5(1): 21-34. doi: 10.1002/9780470942390.mo140166

7. Еманов А.А., Митрофанов А.И., Борзунов Д.Ю., Колчин С.Н. Экспериментально-клиническое обоснование комбинированного остеосинтеза при замещении дефектов длинных костей (предварительное сообщение). *Травматология и ортопедия России.* 2014; 1(71): 16-23. doi: 10.21823/2311-2905-2014-0-1-16-23

8. Brunner UH, Cordey J, Schweiberer L, Perren SM. Force required for bone segment transport in the treatment of large bone defects using medullary nail fixation. *Clin Orthop Relat Res.* 1994; (301): 147-155.

9. Caton J, Rubini J, Panisset JC, Fau D, Guichet JM, Arlot M, et al. L'allongement progressif des membres par clou mécanique centro-médullaire d'allongement: étude expérimentale chez le mouton. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot.* 2001; 87(3): 237-247.

10. Yamaguchi K, Fujita Y, Funayama A, Kanaji A, Susa M, Toyama Y, et al. Experimental assessment of a novel intramedullary nail for callus distraction by the segmental bone transport method. *J Orthop Sci.* 2014; 19(2): 323-331. doi: 10.1007/s00776-013-0516-9

11. Wendelburg KM, Lewis DD, Sereda CW, Reese DJ, Wheeler JL. Use of an interlocking nail-hybrid fixator construct for distal femoral deformity correction in three dogs. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2011; 24(3): 236-245. doi: 10.3415/VCOT-10-05-0076

12. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. *Official Journal L.* 1986; (358): 1-28.

13. National Research Council. *Guide for the care and use of laboratory animals.* Washington, DC: The National Academies Press; 1996.

14. Соломин Л.Н. Метод унифицированного обозначения чрескостного остеосинтеза. В кн.: *Основы чрескостного остеосинтеза.* М.: БИНОМ; 2014; 1: 45-55.

15. Попков Д.А., Ерофеев С.А., Чиркова А.М. Удлинение голени с использованием интрамедуллярного напряженного армирования (экспериментальное исследование). *Гений ортопедии.* 2005; (4): 81-91.

16. Щепкина Е.А., Лебедков И.В., Соломин Л.Н., Нетылько Г.И. Экспериментальное обоснование комбинированного и последовательного применения чрескостного и интрамедуллярного блокируемого остеосинтеза. *Достижения Российской травматологии и ортопедии: Материалы XI Всероссийского съезда травматологов-ортопедов.* СПб.: Издательство ВВМ; 2018; I: 354-357.

17. Lin CC, Huang SC, Liu TK, Chapman MW. Limb lengthening over an intramedullary nail. An animal study and clinical report. *Clin Orthop Relat Res.* 1996; (330): 208-216. doi: 10.1097/00003086-199609000-00028

18. Степанов М.А., Кононович Н.А., Горбач Е.Н. Репаративная регенерация костной ткани при удлинении конечности методикой комбинированного дистракционного остеосинтеза. *Гений ортопедии.* 2010; (3): 89-94.

19. Щепкина Е.А., Соломин Л.Н., Нетылько Г.И., Лебедков И.В., Кулеш П.Н. *Способ моделирования последовательного применения чрескостного и интрамедуллярного блокируемого остеосинтеза:* Пат. 2593583 Рос. Федерация; МПК G09B (2006.01). Патентообладатель ФГБУ РНИИТО

им. Р.Р. Вредена. № 2015129138/14; заявл. 16.07.2015; опубл. 10.08.2016. Бюл. № 22.

REFERENCES:

1. Erofeev SA. Features of reparative osteogenesis and management of distraction osteogenesis in transosseous osteosynthesis. In: *Fundamentals of transosseous osteosynthesis.* Moscow: BINOM; 2014; 1: 220-250. (In Russ.)

2. Kusec V, Jelic M, Borovecki F, Kos J, Vukicevic S, Korzinek K. Distraction osteogenesis by Ilizarov and unilateral external fixators in a canine model. *Int Orthop.* 2003; 27(1): 47-52. doi: 10.1007/s00264-002-0391-z

3. Hvid I, Horn J., Huhnstock S, Steen H. The biology of bone lengthening. *J Child Orthop.* 2016; 10(6): 487-492. doi: 10.1007/s11832-016-0780-2

4. Pithioux M, Roseren F, Jalain C, Launay F, Charpiot P, Chabrand P, et al. An efficient and reproducible protocol for distraction osteogenesis in a rat model leading to a functional regenerated femur. *J Vis Exp.* 2017; (128): 56433. doi: 10.3791/56433

5. Aleksyniene R, Thomsen JS, Eckardt H, Bundgaard KG, Lind M, Hvid I. Parathyroid hormone PTH(1–34) increases the volume, mineral content, and mechanical properties of regenerated mineralizing tissue after distraction osteogenesis in rabbits. *Acta Orthop.* 2009; 80: 716-723. doi: 10.3109/17453670903350032

6. Lybrand K, Bragdon B, Gerstenfeld L. Overview of biological mechanisms and applications of three murine models of bone repair: closed fracture with intramedullary fixation, distraction osteogenesis, and marrow ablation by reaming. *Curr Protoc Mouse Biol.* 2015; 5(1): 21-34. doi: 10.1002/9780470942390.mo140166

7. Emanov AA, Mitrofanov AI, Borzunov DYu, Kolchin SN. Experimental and clinical substantiation of combined osteosynthesis in the replacement of long bone defects (preliminary report). *Traumatology and Orthopedics of Russia.* 2014; 1(71): 16-23. (In Russ.). doi: 10.21823/2311-2905-2014-0-1-16-23

8. Brunner UH, Cordey J, Schweiberer L, Perren SM. Force required for bone segment transport in the treatment of large bone defects using medullary nail fixation. *Clin Orthop Relat Res.* 1994; (301): 147-155.

9. Caton J, Rubini J, Panisset JC, Fau D, Guichet JM, Arlot M, et al. L'allongement progressif des membres par clou mécanique centro-médullaire d'allongement: étude expérimentale chez le mouton. *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot.* 2001; 87(3): 237-247.

10. Yamaguchi K, Fujita Y, Funayama A, Kanaji A, Susa M, Toyama Y, et al. Experimental assessment of a novel intramedullary nail for callus distraction by the segmental bone transport method. *J Orthop Sci.* 2014; 19(2): 323-331. doi: 10.1007/s00776-013-0516-9

11. Wendelburg KM, Lewis DD, Sereda CW, Reese DJ, Wheeler JL. Use of an interlocking nail-hybrid fixator construct for distal femoral deformity correction in three dogs. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2011; 24(3): 236-245. doi: 10.3415/VCOT-10-05-0076

12. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. *Official Journal L.* 1986; (358): 1-28.

13. National Research Council. *Guide for the care and use of laboratory animals.* Washington, DC: The National Academies Press; 1996.

14. Solomin LN. Method of unified designation of transosseous osteosynthesis. In: *Fundamentals of transosseous osteosynthesis.* Moscow: BINOM; 2014; 1:. 45-55. (In Russ.)

15. Popkov DA, Erofeev SA, Chirkova AM. Shin lengthening using intramedullary stress reinforcement (experimental study). *Genij Ortopedii.* 2005; (4): 81-91. (In Russ.)

16. Shchepkina EA, Lebedkov IV, Solomin LN, Netylko GI. Experimental substantiation of the combined and sequential use of transosseous and intramedullary blocked osteosynthesis. *Dostizheniya Rossiyskoy travmatologii i ortopedii: Materialy XI Vserossiyskogo sjezda travmatologov-ortopedov.* Saint Petersburg: BBM; 2018; I: 354-357. (In Russ.)

17. Lin CC, Huang SC, Liu TK, Chapman MW. Limb lengthening over an intramedullary nail. An animal study and clinical report. *Clin Orthop Relat Res.* 1996; (330): 208-216. doi: 10.1097/00003086-199609000-00028

18. Stepanov MA, Kononovich NA, Gorbach EN. Reparative bone tissue regeneration during limb lengthening using combined distraction osteosynthesis. *Genij Ortopedii.* 2010; (3): 89-94. (In Russ.)

19. Shchepkina EA, Solomin LN, Netylko GI, Lebedkov IV, Kulesh PN. A method for modeling the sequential use of transosseous and intramedullary blocked osteosynthesis: Patent N 2593583 of the Russian Federation. 2016. (In Russ.)

Сведения об авторах

Щепкина Елена Андреевна – кандидат медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник научного отделения лечения травм и их последствий, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена» Минздрава России; доцент кафедры травматологии и ортопедии и кафедры общей врачебной практики (семейной медицины), ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: shchepkina_elena@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-6132-0305

Лебедков Иван Валерьевич – врач-травматолог-ортопед травматолого-ортопедического отделения № 1, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена» Минздрава России, e-mail: positivism@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1484-5971

Нетылько Георгий Иванович – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник научного отделения профилактики и лечения раневой инфекции, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена» Минздрава России, e-mail: doctornetylko@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5074-6204

Соломин Леонид Николаевич – доктор медицинских наук, профессор; ведущий научный сотрудник научного отделения лечения травм и их последствий, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена» Минздрава России; профессор кафедры общей хирургии, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», e-mail: solomin.leonid@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-3705-3280

Трушников Владислав Вячеславович – заведующий патологоанатомическим отделением, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена» Минздрава России, e-mail: trushnikov@list.ru, https://orcid.org/0000-0002-9067-5137

Вершинин Дмитрий Михайлович – заведующий отделением лучевой диагностики, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена» Минздрава России, e-mail: dmitrill@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-6740-0218

Information about the authors

Elena A. Shchepkina – Cand. Sc. (Med), Docent, Senior Research Officer at the Scientific Department of the Treatment of Injuries and Their Consequences, Vreden National Medical Center for Traumatology and Orthopedics; Associate Professor at the Department of Traumatology and Orthopedics and the Department of General Medical Practice (Family Medicine), Academician I.P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, e-mail: shchepkina_elena@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-6132-0305

Ivan V. Lebedkov – Orthopedic Surgeon at the Traumatology and Orthopedic Department N 1, Vreden National Medical Center for Traumatology and Orthopedics, e-mail: positivism@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1484-5971

Georgiy I. Netylko – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Scientific Department for Prevention and Treatment of Wound Infection, Vreden National Medical Center for Traumatology and Orthopedics, e-mail: doctornetylko@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5074-6204

Leonid N. Solomin – Dr. Sc. (Med.), Professor, Leading Research Officer at the Scientific Department of the Treatment of Injuries and Their Consequences, Vreden National Medical Center for Traumatology and Orthopedics; Professor at the Department of General Surgery, Saint Petersburg State University, e-mail: solomin.leonid@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-3705-3280

Vladislav V. Trushnikov – Head of the Anatomic Pathology Department, Vreden National Medical Center for Traumatology and Orthopedics, e-mail: trushnikov@list.ru, https://orcid.org/0000-0002-9067-5137

Dmitriy M. Vershinin – Head of the Department of Diagnostic Radiology, Vreden National Medical Center for Traumatology and Orthopedics, e-mail: dmitrill@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-6740-0218

Вклад авторов:

Щепкина Е.А. – разработка концепции и дизайна исследования; проведение операций в эксперименте; анализ и интерпретация полученных данных наблюдения за животными, данных морфологических и лучевых методов исследования; участие в написании всех разделов статьи.

Лебедков И.В. – участие в разработке концепции и дизайна исследования; проведение операций в эксперименте; наблюдение за лабораторными животными на протяжении эксперимента; подготовка материала для морфологических исследований; участие в оценке полученных данных морфологических и лучевых исследований; участие в написании всех разделов статьи.

Нетылько Г.И. – участие в разработке дизайна исследования; организация экспериментальной работы; контроль проведения операций; наблюдение за экспериментальными животными на протяжении эксперимента; выведение животных из эксперимента; участие в написании текста статьи.

Соломин Л.Н. – существенный вклад в разработку концепции и дизайна исследования; консультирование при оценке результатов исследований; участие в написании текста статьи.

Трушников В.В. – выполнение и оценка результатов морфологических исследований; участие в написании текста статьи в разделе методов и результатов морфологических исследований.

Вершинин Д.М. – выполнение и оценка результатов лучевых методов исследования (рентгенография и КТ); участие в написании текста статьи в разделе методов и результатов лучевых методов исследования.

Статья получена: 09.03.2021. Статья принята: 12.04.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 09.03.2021. Accepted: 12.04.2021. Published: 15.06.2021.

ХИРУРГИЯ
SURGERY

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.22

Значение цистоскопии в оценке интерстициального цистита/синдрома болезненного мочевого пузыря

Шолан Р.Ф.

Республиканский лечебно-диагностический центр Министерства Здравоохранения Азербайджанской Республики (AZ1122, г. Баку, Тбилисский просп., 147, Азербайджан)

Автор, ответственный за переписку: Шолан Рашад Фархад оглы, e-mail: drrashad@hotmail.com

Резюме

Обоснование. *В диагностике интерстициального цистита/синдрома болезненного мочевого пузыря (ИЦ/СБМП) существуют значительные различия, в частности, имеются разногласия относительно диагностической роли цистоскопии или цистоскопии с гидродистензией.*

Цель исследования: *оценить результаты цистоскопии с гидродистензией у женщин с ИЦ/СБМП.*

Материал и методы. *Обследовано 126 женщин с ИЦ/СБМП, средний возраст – 46,7 ± 14,0 года. Длительность заболевания составила 6,0 ± 2,8 года. Использованы опросники PUF, VAS, USS, калиевый тест. Выполнены цистоскопия и гидродистензия мочевого пузыря.*

Результаты. *Сумма баллов по шкалам PUF составила 8,14 ± 1,76, по VAS – 5,45 ± 0,93, по USS – 2,63 ± 0,91. Положительный калиевый тест выявлялся в 91,3 % случаев, чувствительность теста составила 86,5 %, специфичность – 84,6 %. Анатомическая ёмкость мочевого пузыря составила 308,0 ± 77,5 мл. Средний показатель максимального наполнения мочевого пузыря у женщин с лёгкой болью был выше, чем при умеренной и сильной боли на 30,9 % ($p < 0,05$) и 53,0 % ($p < 0,01$) соответственно. В 11,9 % случаев выявлены полипы у наружного отверстия уретры. При цистоскопии в 39,8 % случаев определялись диффузная кровоточивость слизистой, в 21,4 % случаев – диффузные подслизистые кровотечения, в 14,3 % случаев – редкие гломеруляции, в 12,7 % случаев – поражения Гуннера. После гидродистензии изменения чаще носили диффузный характер ($n = 57$). Выявлена значимая связь ($r = –0,57$, $p < 0,01$) между максимальным наполнением мочевого пузыря и степенью выраженности отклонений слизистой оболочки. Степень выраженности изменений слизистой оболочки мочевого пузыря положительно коррелировала с суммой баллов по анкете PUF ($r = +0,61$, $p = 0,003$), по анкете VAS ($r = +0,59$, $p = 0,008$) и по анкете USS ($r = +0,66$, $p = 0,005$).*

Заключение. *Цистоскопия может использоваться для исследования ИЦ/СБМП в соответствии с рекомендациями международных обществ. Полученные данные могут способствовать повышению эффективности диагностики ИЦ/СБМП.*

Ключевые слова**:** *интерстициальный цистит/синдром болезненного мочевого пузыря, женщины, калиевый тест, цистоскопия, гидродистензия, диффузная кровоточивость слизистой, диффузные подслизистые кровотечения, гломеруляции, поражения Гуннера*

Для цитирования: Шолан Р.Ф. Значение цистоскопии в оценке интерстициального цистита/синдрома болезненного мочевого пузыря. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 198-204. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.22.

The Value of Cystoscopy in the Assessment of Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome

Sholan R.F.

Republican Centre of Diagnosis and Treatment of Azerbaijan Health Ministry (Tbilisisskiy ave. 147, Baku AZ1122, Azerbaijan)

Corresponding author: Sholan Rashad Farkhad ogly, e-mail: drrashad@hotmail.com

Abstract

Background. *There are significant differences in the diagnosis of interstitial cystitis/painful bladder syndrome (IC/BPS), in particular, controversy regarding the diagnostic role of cystoscopy or hydrodistension cystoscopy.*

The aim *of the study was to evaluate the results of cystoscopy with hydrodistension in women with IC/BPS.*

Materials and methods. *The study involved 126 women with IC/BPS, mean age – 46.7 ± 14.0 years. The duration of the disease was 6.0 ± 2.8 years. Questionnaires PUF, VAS, USS, and potassium test were used. Cystoscopy and urinary bladder hydrodistension were performed.*

Results. *The sum of points on the PUF scale was 8.14 ± 1.76, on the VAS scale – 5.45 ± 0.93, on the USS scale – 2.63 ± 0.91. A positive potassium test was detected in 91.3 % of cases, the sensitivity of the test was 86.5 %, the specificity – 84.6 %. The anatomical bladder capacity was 308.0 ± 77.5 ml. The average indicator of maximum bladder filling in women*

with mild pain was higher than in moderate and severe pain by 30.9 % (p < 0.05) and 53.0 % (p < 0.01), respectively. In 11.9 % of cases, polyps were detected at the external opening of the urethra. During cystoscopy, diffuse mucosal bleeding was detected in 39.8 % of cases, diffuse submucosal bleeding – in 21.4 %, rare glomerulations – in 14.3 %, Gunner's lesions in 12.7 % of cases. After hydrodistension, the changes were more often diffuse (n = 57). There was a significant relationship (r = –0.57, p < 0.01) between the maximum filling of the bladder and the degree of severity of mucosal abnormalities. The severity of changes in the mucous membrane of the bladder positively correlated with the sum of points on the PUF questionnaire (r = +0.61, p = 0.003), on the VAS questionnaire (r = +0.59, p = 0.008) and according to the USS questionnaire (r = +0.66, p = 0.005).

Conclusion. *Cystoscopy can be used to examine IC/BPS in accordance with the recommendations of international societies. The obtained data can help to improve the effectiveness of IC/PBS diagnostics.*

Key words: *interstitial cystitis/bladder pain syndrome, women, potassium test, cystoscopy, hydrodistension, diffuse mucosal bleeding, diffuse submucosal bleeding, glomerulations, Hunner's lesions*

For citation: Sholan R.F. The Value of Cystoscopy in the Assessment of Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 198-204. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.22.

ВВЕДЕНИЕ

Интерстициальный цистит/синдром болезненного мочевого пузыря (ИЦ/СБМП) – это хроническое заболевание, этиология и прогноз которого ещё до конца не выяснены [1, 2]. При этом получены доказательства, которые не исключают важной роли в патогенезе ИЦ/СБМП первичного дефекта уротелия или повреждение его гликозаминогликанового (ГАГ) компонента [3]. Обнаружено, что определённые подгруппы пациентов с ИЦ имеют повышенную проницаемость уротелия для определённых внутрипузырных компонентов. Это потенциальное свойство используется в тесте на чувствительность к калию в качестве диагностического теста ИЦ [2, 3].

Распространённость ИЦ/СБМП варьируются от 67 на 100 000 до 6,5 % взрослых женщин. Чаще встречается у женщин в возрасте от 40 лет, но неясно, связано ли это с поздним диагнозом или частью процесса заболевания [2, 4]. Существует предположение, что синдром в значительной степени недооценивается, потому что менее 10 % женщин с симптомами боли в мочевом пузыре имеют диагноз ИЦ/СБМП [4].

Многие международные общества разработали руководящие принципы ведения этого сложного состояния; однако международного согласия по терминологии, классификации, диагностике ИЦ/СБМП ещё не достигнуто. До постановки клинического диагноза, по данным Европейского общества по изучению болевого синдрома мочевого пузыря (ESSIC), симптомы этого синдрома должны проявляться как минимум до 6 недель, а по данным Американской урологической ассоциации (AUA) – до 3 недель [5, 6].

В оценке и диагностике ИЦ/СБМП существуют значительные различия. Долгое время дискутируется роль цистоскопии в диагностике и классификации этого синдрома. Специалисты ESSIC рекомендуют применять цистоскопию при рутинном обследовании большинства пациентов, а AUA не считает этот метод неотъемлемой частью диагностической оценки ИЦ/СБМП и рекомендует использовать его лишь в сложных случаях [5, 6]. В то же время эксперты ESSIC и AUA сходятся во мнении, что цистоскопию следует проводить для исключения таких заболеваний, как гиперактивный мочевой пузырь, эндометриоз, рак мочевого пузыря, камни в мочевом пузыре [2, 5]. Рабочая группа ESSIC по стандартизации ИЦ рекомендует цистоскопию для диагностирования поражений Гуннера и дальнейшей классификации ИЦ/СБМП [5, 7]. Отмечается широкое варьирование распространённости поражений Гуннера в разные годы и между центрами – от 5 до 57 % [8, 9]. Рекомендации ESSIC указывают на проведение диагностической гидродистензии и биопсии, рекомендации AUA предполагают, что гидродистензия не является обязательной в качестве диагностического метода [5, 8].

Таким образом, цистоскопия – это тест, который предоставляет соответствующую информацию о ИЦ/СБМП и позволяет дифференцировать пациентов с хронической тазовой болью от пациентов с болезненным мочевым пузырём. Она необходима для обнаружения повреждений уротелия мочевого пузыря, которые можно разделить на группы как субэпителиальные геморрагические области, гломеруляции или поражения Гуннера. В то же время данные литературы свидетельствуют о существовании разногласий относительно того, играет ли цистоскопия или цистоскопия с гидродистенцией роль в диагностике ИЦ/СБМП [9, 10]. В этой связи исследования, посвящённые изучению результатов цистоскопии, по-прежнему актуальны.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить результаты цистоскопии с гидродистензией у женщин с интерстициальным циститом/синдромом болезненного мочевого пузыря.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под нашим наблюдением находились 126 женщин с ИЦ/СБМП. Критерии включения пациентов в исследования были: возраст от 20 лет и старше; наличие боли, давления, дискомфорта в области нижних мочевых путей длительностью шесть и более месяцев при отсутствии инфекции или других причин; другое поражение мочевого пузыря при цистоскопии; отсутствие нейрогенной дисфункции мочевого пузыря. Критериями исключения явились: мочекаменная болезнь, выраженный пролапс тазовых органов, инфравезикальная обструкция, сердечно-лёгочные заболевания; острая инфекция мочевыводящих путей, коагулопатия, опухоли органов таза; беременность и кормление грудью, внутрипузырное лечение ИЦ в последние месяцы до исследования. Женщины были в возрасте от 22 до 76 лет, средний возраст – 46,7 ± 14,0 лет. В детородном возрасте были 52 женщины (41,3 %), в пременопаузальном и менопаузальном возрастах – 74 женщины (58,7 %). В среднем длительность заболевания составила 6,0 ± 2,8 года. Мочевая инфекция у обследованных пациентов не найдена.

Для сравнения чувствительности и специфичности калиевого теста контрольную группу составили 20 женщин в возрасте от 20 до 53 лет, средний возраст – 35,1 ± 7,7 года, без патологии мочевыделительной системы.

Основой для постановки диагноза ИЦ/СБМП служили критерии NIDDK (the National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Disease) [11]. Для определения выраженности боли и характера нарушения мочеиспускания все пациенты проанкетированы по шкале симптомов боли в тазу, непроизвольного учащённого мочеиспускания (Pelvic pain and urgency/frequency patient symptom score, PUF). Всем женщинам, кроме принятых в урологии методов диагностики, проведён калиевый чувствительный тест, который проводили в два этапа [12]. На первой стадии исследования вводили в мочевой пузырь капельно 40 мл стерильной воды, после чего пациенты в течение 5 минут определяли болевые ощущения и возникновение непроизвольных позывов на мочеиспускание. На второй стадии в течение 5 минут в мочевой пузырь медленно капельно вводили 40 мл 0,4-М раствора KCl. Пациентов просили сообщить о своих ощущениях в мочевом пузыре во время капельного введения раствора KCl. В случае, если пациент сообщал о дискомфорте в мочевом пузыре или болезненном ощущении во время калиевого теста, его просили оценить дискомфорт в мочевом пузыре по 10-балльной визуальной аналоговой шкале (VAS). Оценка боли в мочевом пузыре ≥ 3 или внезапное начало ощущения срочности, вызванного тестом, считались положительным результатом. Если пациенты не чувствовали боли в мочевом пузыре, но испытывали ощущение ургентности во время калиевого теста, их просили оценить степень тяжести ощущения по шкале тяжести срочности (USS – urgency severity scale) [13]. Опросник USS 4-балльный и оценивается следующим образом: 0 баллов – отсутствие ощущения срочности, 1–2 балла – умеренная, средняя срочность, 3 балла – тяжёлая степень срочности, 4 балла – неспособность удерживать мочу [13]. Оценку по USS ≥ 1 считали положительной по калиевому тесту. В том случае, если пациенты чувствовали боль в мочевом пузыре с оценкой VAS < 3 или без срочности, их рассматривали как имеющих отрицательный калиевый тест.

Цистоскопию и гидродистензию мочевого пузыря выполняли под внутривенным наркозом всем пациентам. Цистоскопию проводили в эндоскопической операционной, используя эндоскопы фирмы «Olympus» (Япония) с оптикой 30 и 70 градусов. До начала цистоскопии обследовали наружное отверстие и проходимость уретры. Во время цистоскопии исследовали положение устьев мочеточников, объём мочевого пузыря, характер оптической среды (прозрачная, оптическая среда со взвесью, гематурия), состояние слизистой оболочки мочевого пузыря (без изменений, гиперемированная, тотально гиперемированная), наличие патологических образований (субмукозное кровоизлияние, диффузные подслизистые кровоизлияния, поражение Гуннера, лейкоплакия мочевого пузыря). При анализе цистоскопической картины использовали систему оценки, включающей 5 классов: 0 – слизистая оболочка нормальная, I – редкие, по меньшей мере в двух квадрантах, гломеруляции, II – экхимозы, диффузные подслизистые кровоизлияния, III – диффузная полная кровоточивость слизистой оболочки, IV – поражения Гуннера.

В случае наличия патологических образований в мочевом пузыре, определяли их количество и размещение (верхушка, дно, правая, левая стенка, шейка). Измеряли объём наполнения мочевого пузыря, при котором определяли патологическое образование. После этого мочевой пузырь опорожняли, отмечая цвет выделенной жидкости и её количество.

Гидродистензию мочевого пузыря проводили по следующей методике: заполняли физиологическим раствором мочевой пузырь до достижения внутрипузырного давления 80–100 см вод. ст.; в растянутом состоянии мочевой пузырь находился в течение 2 мин. После выполняли повторную цистоскопию, опорожняли мочевой пузырь, отмечали цвет и количество вытекшей жидкости [14].

При проведении исследования руководствовались принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Рекомендации для врачей, занимающихся биомедицинскими исследованиями с участием людей» [15]. Настоящее исследование одобрено Местным этическим комитетом (протокол № 45 от 20.11.2019 г.), и все участники предоставили письменное информированное согласие.

Статистический анализ выполнен с помощью программного обеспечения SPSS версии 15.0 (SPSS Inc., США). Показатели выражали в виде среднего значения и стандартного отклонения (± SD), в виде чисел и процентов. Рассчитаны чувствительность и специфичность калиевого теста. Корреляцию между симптомами ИЦ/СБМП и изменениями слизистой оболочки мочевого пузыря определяли по тесту Спирмена. Статистически значимыми считались значения при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Степень выраженности болевого синдрома между женщинами разных возрастных групп не различалась.

По данным опросника PUF, лёгкая степень выраженности симптомов выявлялась у 22 (17,5 %) пациенток, средняя степень – у 75 (59,5 %) и тяжёлая – у 29 (23,0 %) пациенток. Сумма баллов в среднем составила 8,14 ± 1,76. Полученные результаты анкетирования пациенток по шкале VAS показали наличие слабой боли (2–4 балла) у 25 (19,8 %), умеренной боли (5–6 балла) – у 82 (65,1 %) и сильной боли (7–8 баллов) – у 19 (15,1 %) женщин. Средний балл составил 5,45 ± 0,93. Анализ результатов по шкале USS показал отсутствие ургентности у 5 (4,0 %) пациенток, наличие умеренной средней срочности (1–2 балла) – у 40 (31,7 %), тяжёлой срочности (3 балла) – у 54 (42,8 %) и неспособность удерживать мочу (4 балла) – у 27 (21,4 %) пациенток. Средний балл по шкале USS составил 2,63 ± 0,91.

Положительный калиевый тест выявлялся в 91,3 % случаев ($n = 115$), отрицательный – в 8,7 % случаев ($n = 11$). После введения раствора калия отмечалось усиление болей у 100 (79,4 %) пациенток. При этом в зависимости от симптомов частота положительного калиевого теста различалась. Согласно полученным результатам, калиевый тест оказался положительным у 16 (72,7 %) из 22 пациенток с лёгкой степенью, у 72 (96,0 %) из 75 женщин с умеренной и у 27 (93,1 %) из 29 пациенток с тяжёлой степенью синдрома. Чувствительность калиевого теста составила 86,5 %, специфичность – 84,6 %.

Большинство пациенток отмечали учащённое мочеиспускание. На частое мочеиспускание (более 8 раз в сутки) указали 112 женщин (88,9 %), императивные позывы и ургентное недержание мочи отметили 52 (41,3 %) и 27 (21,4 %) пациенток соответственно. У 25 (19,8 %) женщин с непроизвольным выделением мочи имелись

и частое мочеиспускание, и непроизвольные позывы на мочеиспускание.

Нами оценены результаты цистоскопии в покое и в процессе гидродистензии мочевого пузыря, а также сравнены цистоскопические изменения у пациенток по отношению к выраженности клинических проявлений ИЦ/СБМП. Согласно полученным результатам, наибольшая анатомическая ёмкость мочевого пузыря варьировалась от 92 до 410 мл, что в среднем составило 308,0 ± 77,5 мл. У 25 пациенток со слабой болью (по шкале VAS) значение этого показателя колебалось от 300 до 410 мл и в среднем составило 340,4 ± 88,6 мл. У 82 пациенток с умеренной болью величина максимальной анатомической ёмкости находилась в диапазоне 120–280 мл, что в среднем составило 235,2 ± 70,6 мл. У 19 женщин с сильной болью этот показатель был наименьшим, составив в среднем 160,0 ± 48,8 мл, варьируя в пределах 92–200 мл. Сравнительный анализ величин максимальной цистометрической ёмкости у пациенток с различной степенью интенсивности боли выявил статистически значимые различия. Так, средний показатель максимального наполнения мочевого пузыря у женщин с лёгкой болью был выше, чем при умеренной и сильной боли на 30,9 % ($p < 0,05$) и 53,0 % ($p < 0,01$) соответственно.

При осмотре наружного отверстия уретры у 15 (11,9 %) пациенток определены уретральные полипы, в остальных случаях наружное отверстие уретры было без изменений.

Результаты цистоскопии представлены на рисунке 1.

Рис. 1. Частота изменений слизистой мочевого пузыря по данным цистоскопии у пациентов с ИЦ/СБМП (%)

Fig. 1. Frequency of changes in the bladder mucosa according to cystoscopy data in patients with IC/BPS (%)

Особое внимание обращали на специфические болезненные изменения слизистой оболочки мочевого пузыря. Результаты исследования показали, что у 16 женщин изменений слизистой выявлено не было. Наиболее часто встречалась диффузная кровоточивость слизистой (степень III) – 49 пациентов.

Изменения, обнаруженные при цистоскопии после гидродистензии мочевого пузыря, варьировались от полного отсутствия до наличия язвенных поражений слизистой оболочки мочевого пузыря. Изменения слизистой чаще носили диффузный характер ($n = 57$) или располагались в двух отделах мочевого пузыря. Реже изменения слизистой выявлялись в стенке мочевого пузыря. Полученные результаты свидетельствуют о таких изменениях у 10 пациентов соответственно в правой и левой стенке (табл. 1).

Таблица 1

Результаты цистоскопии после гидродистензии у пациентов с ИЦ/СБМП

Table 1

Results of cystoscopy after hydrodistension in patients with IC/BPS

Изменения слизистой оболочки мочевого пузыря	Пациенты с ИЦ/СБМП	
	абс.	%
Диффузное	57	45,2
В двух отделах мочевого пузыря	14	11,1
Шейка	12	9,6
Верхушка	11	8,7
Дно	12	9,6
Правая стенка	10	7,9
Левая стенка	10	7,9

Изучение корреляционных взаимосвязей позволило выявить статистически значимую обратную связь ($r = –0,57$, $p < 0,01$) максимального наполнения мочевого пузыря со степенью выраженности отклонений слизистой оболочки мочевого пузыря. Степень выраженности изменений слизистой оболочки мочевого пузыря положительно коррелировала с суммой баллов по анкете PUF ($r = +0,61$, $p = 0,0003$), суммой баллов по анкете VAS ($r = +0,59$, $p = 0,0008$) и по анкете USS ($r = +0,66$, $p = 0,005$). Отмечалась более тяжёлая клиническая симптоматика у пациентов с выраженными изменениями слизистой мочевого пузыря.

Таким образом, исследование слизистой оболочки цистоскопом наряду с поражением Гуннера выявило гломеруляции, диффузные подслизистые кровоизлияния и диффузную кровоточивость. Результаты проведённых исследований свидетельствуют о корреляции выраженности клинической симптоматики ИЦ/СБМП с характером отклонений слизистой оболочки мочевого пузыря.

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что ИЦ/СБМП – это гетерогенный синдром, который включает в себя различные патогенетические механизмы развития болезни. В данном исследовании представлены результаты изучения клинических симптомов и цистоскопии с гидродистензией у женщин с этим заболеванием. Диагноз ИЦ/СБМП основан на симптоматических и урологических данных, включая характерные цистоскопические признаки после гидродистензии [16, 17, 18]. С помощью опросников PUF, VAS, USS в совокупности мы оценили проявление симптомов дизурии и боли. При ИЦ/СБМП боль и симптомы являются основными проблемами [6, 19]. Использование шкал помимо симптомов дизурии позволяет дополнительно получить информацию о качестве жизни пациентов [19, 20].

Диагностическим тестом для ИЦ/СБМП является также калиевый чувствительный тест. По данным на-

шего исследования, он был позитивным у 115 (91,3 %) из 126 пациенток, чувствительность и специфичность его составила 86,5 и 84,6 % соответственно. Наши результаты согласуются с данными литературы [20–22]. Так, по данным Y-H. Jiang et al. [17], у пациентов с ИЦ калиевый тест имел чувствительность 85,5 % и специфичность 81,6 %. Установлено, что положительный калиевый тест обеспечивает диагностику уротелия [17]. Сообщается, что калиевый чувствительный тест является прогностическим фактором краткосрочной эффективности гидродистензии [21].

Более тяжёлое клиническое течение ИЦ/СБМП мы наблюдали при выраженных изменениях слизистой оболочки мочевого пузыря, отмеченных при цистоскопии: диффузной кровоточивости слизистой оболочки, поражениях Гуннера и сниженном цистоскопическом объёме мочевого пузыря. В нашем исследовании типичные поражения Гуннера наблюдались у 16 пациенток. При цистоскопическом исследовании у 7 женщин выявлялись красные пятна, вместе с петехиями и крупными кровоизлияниями по всему мочевому пузырю, но так как мы не были уверены, является ли это поражением Гуннера, их мы отнесли к кровоизлияниям. Наблюдение за этими пациентками продолжается. Хотя поражения Гуннера являются наиболее характерным признаком этой патологии, обнаружение их несколько субъективно. Некоторые исследователи находят их у 50 % пациентов с ИЦ/СБМП [9, 17], другие – менее чем у 10 % пациентов [10, 14]. Возникает вопрос, связано ли это с трудностями, с которыми сталкиваются урологи при их идентификации, или их просто нет. Другие типы повреждений, такие как гломеруляции, кровотечение и отёк, признаются рядом урологов и классифицируются по-разному с учётом типа травмы и процента поражённой слизистой оболочки мочевого пузыря [1, 9, 10, 23]. Противоречивость результатов вызывает дискуссию о полезности цистоскопии с гидродистензией в диагностике ИЦ/СБМП. Отмечается, что при цистоскопии внешний вид стенки мочевого пузыря после гидродистензии не может быть постоянным с течением времени, а отсутствие начальных признаков гломеруляций или терминальной гематурии не исключает дальнейшего развития этих признаков болезни при последующей оценке [6, 18].

Нужно отметить, что ни один из опросников не может считаться надёжным предиктором заболевания или тяжести заболевания. Не существует стандартного диагностического теста ИЦ/СБМП и это затрудняет выбор дизайна исследования для диагностического оценочного исследования. Наиболее частыми симптомами являются боль в мочевом пузыре, тазе, позывы к мочеиспусканию, частые позывы и никтурия, но эти симптомы встречаются при некоторых других состояниях мочеиспускания, что затрудняет различить ИЦ/СБМП.

Полученные результаты подтвердили тот факт, что цистоскопия с гидродистензией в комплексе с другими клиническими симптомами при диагностике ИЦ/СБМП позволяет получить объективную информацию. К характерным цистоскопическим показателям этого синдрома относятся гломеруляции, петехиальные кровоизлияния и язвы слизистой оболочки мочевого пузыря. Проводимая во время цистоскопии гидродистензия мочевого пузыря увеличивает результативность диагностики ИЦ/СБМП благодаря повышению частоты выявления язвенных поражений [18].

В нашем исследовании мы не наблюдали осложнений после гидродистензии. Однако в литературе встречаются публикации, в которых отмечаются, хотя и редко, осложнения гидродистензии. Так, имеются сообщения о разрыве мочевого пузыря, остром пиелонефрите и случае некроза мочевого пузыря [24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных результатов установлена связь клинических проявлений ИЦ/СБМП у женщин с изменениями в стенке мочевого пузыря, обнаруженными при цистоскопии после гидродистензии мочевого пузыря. Цистоскопия может использоваться для исследования ИЦ/СБМП в соответствии с рекомендациями международных обществ. Полученные в ходе исследования данные могут способствовать повышению эффективности диагностики ИЦ/СБМП.

Конфликт интересов

Автор данной статьи заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование проведено без спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зайцев А.В., Шаров М.Н., Арефьева О.А., Пушкарь Д.Ю. Синдром болезненного мочевого пузыря/интерстициальный цистит: факторы прогноза клинического течения заболевания. *Вестник урологии*. 2018; 6(3): 26-35. doi: 10.21886/2308-6424-2017-6-3-26-35

2. Pape J, Falconi G, De Mattos Lourenco TR, Doumouchtsis SK, Betschart C. Variations in bladder pain syndrome/interstitial cystitis (IC) definitions, pathogenesis, diagnostics and treatment: A systematic review and evaluation of national and international guidelines. *Int Urogynecol J.* 2019; 30(11): 1795-1805. doi: 10.1007/s00192-019-03970-5

3. Hurst RE. Structure, function, and pathology of proteoglycans and glycosaminoglycans in the urinary tract. *World J Urol*. 1994; 12(1): 3-10. doi: 10.1007 / BF00182044

4. Syed LJ, Ilchak DL. Bladder pain syndrome in females. *J Nurse Pract*. 2017; 13(4): 291-295. doi: 10.1016/j.nurpra.2016.11.025

5. Van de Merwe JP, Nordling J, Bouchelouche P, Bouchelouche K, Cervigni M, Daha LK, et al. Diagnostic criteria, classification, and nomenclature for painful bladder syndrome/interstitial cystitis: An ESSIC proposal. *Eur Urol.* 2008; 53(1): 60-67. doi: 10.1016/j.eururo.2007.09.019

6. Hanno PM, Erickson D, Moldwin R, Faraday MM. American Urological Association. Diagnosis and treatment of interstitial cystitis/bladder pain syndrome: AUA guideline amendment. *J Urol.* 2015; 193(5): 1545-1553. doi: 10.1016/j.juro.2015.01.086

7. Tailor VK, Morris E, Bhide AA, Fernando R, Digesu GA, Khullar V. Does cystoscopy method affect the investigation of bladder pain syndrome/interstitial cystitis? *Int Urogynecol J.* 2020; 1-7. doi: 10.1007/s00192-020-04512-0

8. Logadottir Y, Fall M, Kabjorn-Gustafsson C, Peeker R. Clinical characteristics differ considerably between phenotypes of bladder pain syndrome/interstitial cystitis. *Scand J Urol Nephrol*. 2012; 46(5): 365-370. doi: 10.3109/00365599.2012.689008

9. Whitmore KE, Fall M, Sengiku A, Tomoe H, Logadottir Y, Kim Y.H. Hunner lesion versus non-Hunner lesion interstitial cystitis/bladder pain syndrome. *Int J Urol.* 2019; 1: 26-34. doi: 10.1111/iju.13971

10. Ens G, Garrido GL. Role of cystoscopy and hydrodistention in the diagnosis of interstitial cystitis/bladder pain syndrome.

Transl Androl Urol. 2015; 4(6): 624-628. doi: 10.3978/j.issn.2223-4683.2015.09.04

11. Gillenwater JY, Wein AJ. Summary of the National Institute of Arthritis, Diabetes and Kidney Diseases. Workshop on interstitial cystitis. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, August 28-29, 1987. *J Urol.* 1988; 140(1): 203-206. doi: 10.1016/S0022-5347(17)41529-1

12. Parsons CL, Greenberger M, Gabal L, Bidair M, Barme G. The role of urinary potassium in the pathogenesis and diagnosis of interstitial cystitis. *J Urol.* 1998; 159: 1862-1866.

13. Chung SD, Liao CH, Chen YC, Kuo HC. Urgency severity scale could predict urodynamic detrusor overactivity in patients with overactive bladder syndrome. *Neurourol Urodyn*. 2011; 30(7): 1300-1304. doi: 10.1002/nau.21057

14. Rigaud J, Delavierre D, Sibert L, Labat JJ. Hydrodistension in the therapeutic management of painful bladder syndrome. *Prog Urol.* 2010; 20(12): 1054-1059. doi: 10.1016/j.purol.2010.08.049

15. World Medical Association Declaration of Helsinki Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. *JAMA*. 2013; 310(20): 2191-2194. doi: 10.1001/jama.2013.281053

16. Cox A, Golda N, Nadeau G, Nickel JC, Carr L, Corcos J, et al. CUA guideline: Diagnosis and treatment of interstitial cystitis/bladder pain syndrome**.** *Can Urol Assoc J.* 2016; 10(5-6): E136-E155. doi: 10.5489/cuaj.3786

17. Jiang Y-H, Jhang J-F, Kuo H-C. Revisiting the role of potassium sensitivity testing and cystoscopic hydrodistention for the diagnosis of interstitial cystitis. *PLoS ONE.* 2016; 11(3): e0151692. doi: 10.1371/journal.pone.0151692

18. Аль-Шукри С.Х., Кузьмин И.В., Слесаревская М.Н., Игнашов Ю.А. Гидродистензия мочевого пузыря в лечении больных интерстициальным циститом/синдромом болезненного мочевого пузыря. *Урология*. 2018; 1: 26-29. doi: 10.18565/urology.2018.1.26-29

19. Аль-Шукри С.Х., Кузьмин И.В., Слесаревская М.Н., Игнашов Ю.А. Применение русскоязычной версии шкалы симптомов тазовой боли, ургентности и частоты мочеиспускания (PUF Scale) у больных с синдромом болезненного мочевого пузыря. *Урологические ведомости*. 2017; 7(2): 5-9. doi: 10.17816/uroved725-9

20. Аль-Шукри С.Х., Кузьмин И.В., Слесаревская М.Н., Игнашов Ю.А. Симптоматика и цистоскопическая картина у женщин с синдромом болезненного мочевого пузыря. *Учёные записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова*. 2017; 24(4): 50-54. doi: 10.24884/1607-4181-2017-24-4-50-54

21. Parsons CL. The role of a leaky epithelium and potassium in the generation of bladder symptoms in interstitial cystitis/overactive bladder, urethral syndrome, prostatitis and gynaecological chronic pelvic pain. *BJU Int*. 2011; 107(3): 370-375. doi: 10.1111/j.1464-410X.2010.09843.x

22. Gülpınar Ö, Esen B, Akpınar Ç, Baklacı U, Gökce Mİ, Süer E, et al. Potassium sensitivity test predicts hydrodistention efficacy in patients with bladder pain syndrome/interstitial cystitis. *Turk J Urol*. 2020; 46(3): 231-235. doi: 10.5152/tud.2019.19084

23. Пушкарь Д.Ю., Зайцев А.В., Гундорова Л.В., Ковылина М.В. Ретроспективный анализ морфологических исследований у больных интерстициальным циститом. *Урология.* 2005; 4: 53-56.

24. Grossklaus DJ, Franke JJ. Vesical necrosis after hydrodistension of the urinary bladder in a patient with interstitial cystitis. *BJU Int.* 2000; 86: 140-141. doi: 10.1046/j.1464-410x.2000.01739.x

REFERENCES

1. Zajcev AV, Sharov MN, Aref'eva OA, Pushkar DJu. Painful bladder syndrome/interstitial cystitis: predictors of the clinical course of the disease. *Vestnik Urologii*. 2018; 6(3): 26-35. (In Russ.). doi: 10.21886/2308-6424-2017-6-3-26-35

2. Pape J, Falconi G, De Mattos Lourenco TR, Doumouchtsis SK, Betschart C. Variations in bladder pain syndrome/interstitial cystitis (IC) definitions, pathogenesis, diagnostics and treatment: A systematic review and evaluation of national and international guidelines. *Int Urogynecol J*. 2019; 30(11): 1795-1805. doi: 10.1007/s00192-019-03970-5

3. Hurst RE. Structure, function, and pathology of proteoglycans and glycosaminoglycans in the urinary tract. *World J Urol*. 1994; 12(1): 3-10. doi: 10.1007 / BF00182044

4. Syed LJ, Ilchak DL. Bladder pain syndrome in females. *J Nurse Pract*. 2017; 13(4): 291-295. doi: 10.1016/j.nurpra.2016.11.025

5. Van de Merwe JP, Nordling J, Bouchelouche P, Bouchelouche K, Cervigni M, Daha LK, et al. Diagnostic criteria, classification, and nomenclature for painful bladder syndrome/interstitial cystitis: An ESSIC proposal. *Eur Urol.* 2008; 53(1): 60-67. doi: 10.1016/j.eururo.2007.09.019

6. Hanno PM, Erickson D, Moldwin R, Faraday MM. American Urological Association. Diagnosis and treatment of interstitial cystitis/bladder pain syndrome: AUA guideline amendment. *J Urol.* 2015; 193(5): 1545-1553. doi: 10.1016/j.juro.2015.01.086

7. Tailor VK, Morris E, Bhide AA, Fernando R, Digesu GA, Khullar V. Does cystoscopy method affect the investigation of bladder pain syndrome/interstitial cystitis? *Int Urogynecol J.* 2020; 1-7. doi: 10.1007/s00192-020-04512-0

8. Logadottir Y, Fall M, Kabjorn-Gustafsson C, Peeker R. Clinical characteristics differ considerably between phenotypes of bladder pain syndrome/interstitial cystitis. *Scand J Urol Nephrol*. 2012; 46(5): 365-370. doi: 10.3109/00365599.2012.689008

9. Whitmore KE, Fall M, Sengiku A, Tomoe H, Logadottir Y, Kim Y.H. Hunner lesion versus non-Hunner lesion interstitial cystitis/bladder pain syndrome. *Int J Urol.* 2019; 1: 26-34. doi: 10.1111/iju.13971

10. Ens G, Garrido GL. Role of cystoscopy and hydrodistention in the diagnosis of interstitial cystitis/bladder pain syndrome. *Transl Androl Urol.* 2015; 4(6): 624-628. doi: 10.3978/j.issn.2223-4683.2015.09.04

11. Gillenwater JY, Wein AJ. Summary of the National Institute of Arthritis, Diabetes and Kidney Diseases. Workshop on interstitial cystitis. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, August 28-29, 1987. *J Urol.* 1988; 140(1): 203-206. doi: 10.1016/S0022-5347(17)41529-1

12. Parsons CL, Greenberger M, Gabal L, Bidair M, Barme G. The role of urinary potassium in the pathogenesis and diagnosis of interstitial cystitis. *J Urol.* 1998; 159: 1862-1866.

13. Chung SD, Liao CH, Chen YC, Kuo HC. Urgency severity scale could predict urodynamic detrusor overactivity in patients with overactive bladder syndrome. *Neurourol Urodyn*. 2011; 30(7): 1300-1304. doi: 10.1002/nau.21057

14. Rigaud J, Delavierre D, Sibert L, Labat JJ. Hydrodistension in the therapeutic management of painful bladder syndrome. *Prog Urol.* 2010; 20(12): 1054-1059. doi: 10.1016/j.purol.2010.08.049

15. World Medical Association Declaration of Helsinki Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. *JAMA*. 2013; 310(20): 2191-2194. doi: 10.1001/jama.2013.281053

16. Cox A, Golda N, Nadeau G, Nickel JC, Carr L, Corcos J, et al. CUA guideline: Diagnosis and treatment of interstitial cystitis/bladder pain syndrome**.** *Can Urol Assoc J.* 2016; 10(5-6): E136-E155. doi: 10.5489/cuaj.3786

17. Jiang Y-H, Jhang J-F, Kuo H-C. Revisiting the role of potassium sensitivity testing and cystoscopic hydrodistention for the diagnosis of interstitial cystitis. *PLoS ONE.* 2016; 11(3): e0151692. doi: 10.1371/journal.pone.0151692

18. Al-Shukri SH, Kuzmin IV, Slesarevskaya MN, Ignashov YuA. Hydrodistension of the bladder in the treatment of patients with interstitial cystitis/painful bladder syndrome. *Urologiia*. 2018; 1: 26-29. (In Russ.). doi: 10.18565/urology.2018.1.26-29

19. Al-Shukri SK, Kuzmin IV, Slesarevskaya MN, Ignashov YA. Use of the Russian version of pelvic pain and urgency/frequency patient symptom scale (PUF scale) in patients with the bladder pain syndrome. *Urology reports (St.-Petersburg)*. 2017; 7(2): 5-9. (In Russ.). doi: 10.17816/uroved725-9

20. Al-Shukri SH, Kuzmin IV, Slesarevskaya MN, Ignashov YuA. Symptomatics and cystoscopic results in women with the pain

bladder syndrome. *Record of the I.P. Pavlov St. Petersburg State Medical University*. 2017; 24(4): 50-54. (In Russ.). doi: 10.24884/1607-4181-2017-24-4-50-54

21. Parsons CL. The role of a leaky epithelium and potassium in the generation of bladder symptoms in interstitial cystitis/overactive bladder, urethral syndrome, prostatitis and gynaecological chronic pelvic pain. *BJU Int*. 2011; 107(3): 370-375. doi: 10.1111/j.1464-410X.2010.09843.x

22. Gülpınar Ö, Esen B, Akpınar Ç, Baklacı U, Gökce Mİ, Süer E, et al. Potassium sensitivity test predicts hydrodistention efficacy in patients with bladder pain syndrome/interstitial cystitis. *Turk J Urol*. 2020; 46(3): 231-235. doi: 10.5152/tud.2019.19084

23. Pushkar DYu, Zaitsev AV, Gundorova LV, Kovylina MV. Retrospective analysis of morphological studies in patients with interstitial cystitis. *Urologiia*. 2005; 4: 53-56. (In Russ.)

24. Grossklaus DJ, Franke JJ. Vesical necrosis after hydrodistension of the urinary bladder in a patient with interstitial cystitis. *BJU Int*. 2000; 86: 140-141. doi: 10.1046/j.1464-410x.2000.01739.x

Сведения об авторе

Шолан Рашад Фархад оглы – кандидат медицинских наук, заведующий отделением «Почечные болезни и трансплантология», Республиканский лечебно-диагностический центр Министерства Здравоохранения Азербайджанской Республики, e-mail: drrashad@hotmail.com, https://orcid.org/0000-0002-1047-167X

Information about the author

Sholan Rashad Farkhad ogly – Cand. Sc. (Med.), Head of the Department of Renal Diseases and Transplantology, Republican Centre of Diagnosis and Treatment of Azerbaijan Health Ministry, e-mail: drrashad@hotmail.com, https://orcid.org/0000-0002-1047-167X

Статья получена: 25.02.2021. Статья принята: 23.04.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 25.02.2021. Accepted: 23.04.2021. Published: 15.06.2021.

ЭКОНОМИКА И МЕНЕДЖМЕНТ В ЗДРАВООХРАНЕНИИ
ECONOMICS AND MANAGEMENT IN PUBLIC HEALTH SERVICE

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.23

Маркетинг генетических исследований: пилотное исследование

Баирова Т.А., Немчинова Н.В., 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

С развитием молекулярной генетики персонализированная медицина, основанная на генетическом тестировании индивида, активно развивается во всём мире. К настоящему времени разработано много генетических тестов, которые позволяют выявить риски для здоровья, питания, оценить спортивные возможности, подверженность травмам, происхождение и генеалогию индивидуума, а также прогнозировать индивидуальную чувствительность к лекарственным препаратам. Однако информации об осведомлённости и возможности генетического тестирования у потенциальных потребителей недостаточно.

Цель исследования: *оценить осведомлённость и готовность проведения генетического тестирования в популяции крупного промышленного города России (на примере г. Иркутска).*

Материалы и методы. *Проведено анкетирование 305 респондентов, из которых 265 опрошенных – студенты высших учебных учреждений г. Иркутска. Исследование проводилось на условиях анонимности. Анкета для респондентов составлена в виде Google формы, что позволяет проводить дистанционное онлайн-анкетирование.*

Результаты. *94,1 % респондентов заинтересованы в проведении генетического тестирования на коммерческой основе. Из общего числа участников анкетирования 72,8 % выразили желание пройти анализ «Наследственная предрасположенность», 61 % – «Моногенные заболевания», 52,1 % – «Этно». Кроме того, из общего числа опрошенных респондентов 36,7 % желали пройти генетическое тестирование на исследование особенностей обмена веществ и пищевой непереносимости («Диета»), 22 % – на исследование подверженности к травмам и скорости восстановления физической формы («Спорт»), 18 % – на исследование наследственно детерминированной восприимчивости к лекарственным препаратам («Аптека»). Из ответов следует, что наибольший интерес среди опрошенных вызывает определение предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям (72,5 %), болезни Альцгеймера (48,3 %) и сахарному диабету (40,3 %).*

Заключение. *Полученные результаты указывают на интерес к исследованиям предрасположенности к сердечно-сосудистым и нейродегенеративным заболеваниям. Высока необходимость анализа оценки клинической полезности генетических исследований, оценки влияния результатов исследования на поведение людей и системы регулирования генетического тестирования в здравоохранении в целом.*

Ключевые слова: *маркетинг, персонализированная медицина, генетическое исследование*

Для цитирования: Баирова Т.А., Немчинова Н.В., Самбялова А.Ю. Маркетинг генетических исследований: пилотное исследование. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 205-212. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.23.

The Commercialization of Genetic Research: A Pilot Study

Bairova T.A., Nemchinova N.V., 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

With the development of molecular genetics, the field of personalized medicine based on genetic data has been growing at a phenomenal pace. Genetic tests can identify health risks, ancestry, and genealogy, as well as the prediction of drug responses. However, very limited research exists about the marketing practices of companies, which promote and sell DNA ancestry and health-related genetic tests directly to the public.

Aim. *To evaluate the awareness and attitude about genetic testing in the population of a large industrial city in Russia (on the example of Irkutsk).*

Materials and methods*. A total of 305 respondents – 265 of them were students of higher educational institutions of Irkutsk. The study was conducted on condition of anonymity. The questionnaire was available on the Internet on the basis of the Google Forms service. All basic concepts were explained to the participants during the survey.*

Results. *94.1 % are interested in conducting genetic testing on a commercial basis. Of the total number of survey participants, 72.8 % expressed a desire to undergo the analysis "Hereditary predisposition to diseases", 61 % – "Monogenic diseases", 52.1 % – "Ethno". In addition, out of the total number of respondents surveyed, 36.7 % want to undergo genetic*

testing for research: features of metabolism and food intolerance "Diet", 22 % – susceptibility to injuries and speed of recovery of physical form "Sport", 18 % – to hereditarily determined susceptibility to drugs "Pharmacy". It follows from the answers that the greatest interest among the surveyed people is the determination of predisposition to cardiovascular diseases – 72.5 %, to Alzheimer's disease – 48.3 % and diabetes mellitus – 40.3 %.
Conclusion. *The results obtained indicate an interest in the study of predisposition to cardiovascular and neurodegenerative diseases. There is a high need to analyze the assessment of the clinical usefulness of genetic research, to assess the impact of research results on human behavior and the system of regulation of genetic testing in healthcare in general.*

Key words: *marketing, personalized medicine, genetic research*

For citation: Bairova T.A, Nemchinova N.V, Sambyalova A.Yu. The Commercialization of Genetic Research: A Pilot Study. *Acta biomedica scientifica.* 2021; 6(2): 205-212. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.23.

ВВЕДЕНИЕ

С момента завершения в 2003 г. проекта «Геном человека» возникла концепция молекулярной медицины, опиравшаяся на идею персонального подхода к пациенту с помощью ДНК-тестирования [1, 2].

Генетическое тестирование включает в себя изучение ДНК человека с целью выявления изменений в генах, которые могут влиять на здоровье человека при воздействии средовых факторов [3]. Эти изменения в генах могут способствовать развитию предрасположенности к заболеваниям, определять индивидуальную чувствительность к лекарственным препаратам, влияние физических нагрузок на организм, особенности обмена веществ и пищевой переносимости, этническое происхождение, и т. д. В эпоху стремительного прогресса молекулярной медицины генетические тесты могут стать реальной «базой» для реализации идеи персонализированной медицины, заложенной более двух столетий назад врачом М.Я. Мудровым (1776–1831), вызывая интерес врачебной общественности и пациентов как потенциальных потребителей.

Вместе с тем внедрение результатов молекулярной медицины имеет ряд барьеров: не только необходимость в увеличении материальных затрат на оснащение медицинских организаций современным оборудованием и подготовку врачей в области молекулярной медицины, а также финансовых расходов на проведение лабораторных исследований и их интерпретацию, но и, самое главное, тот факт, что результаты генетического тестирования должны опираться на концепцию доказательной медицины, что в значительной степени может повлиять на политику в области здравоохранения.

В настоящее время данные предложения коммерциализованы. Существует очень ограниченное количество исследований о маркетинговой практике компаний, которые продвигают и продают генетические тесты, связанные со здоровьем, непосредственно общественности [4]. В целом в последнее время повышен спрос на генетические исследования. Это связано с тем, что Всемирная паутина открыла новые возможности для компаний по запуску рекламы и прямого обращения к потребителю для прохождения генетического тестирования [5, 6].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить осведомлённость и готовность проведения генетического тестирования в популяции крупного промышленного города России.

МЕТОДЫ

Пилотное кросс-секционное исследование проведено в ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (НЦ ПЗСРЧ) в период май – август 2017 года. На данный период прейскурант НЦ ПЗСРЧ включал ряд генетических исследований: «Наследственная предрасположенность» (тромбофилии, нарушения обмена гомоцистеина); предрасположенность к онкологической патологии молочных желез (BRCA); «Аптека» с идентификацией полиморфных локусов генов-метаболизаторов варфарина (лицензия на осуществление медицинской деятельности Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения № ФС-38-01-001833 от 24.05.2018). Исследования осуществляли с помощью метода полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени на амплификаторе «ДТ-Прайм» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). В работе использовали коммерческие наборы реагентов.

Анкета для респондентов «Мой ген – моё здоровье» составлена в виде Google Формы, что позволило проводить дистанционное онлайн-анкетирование. Она включала общие данные о респонденте и вопросы, касающиеся интереса анкетируемого к генетическому тестированию, в том, числе о том, какой вид генетического тестирования представляет наибольший интерес («Моногенные заболевания», «Наследственная предрасположенность», «Диета», «Спорт», «Аптека» или «Этно») (рис. 1). В анкете для респондентов представлена краткая справка по каждому виду генетического тестирования, а также по каждому заболеванию из «Наследственной предрасположенности».

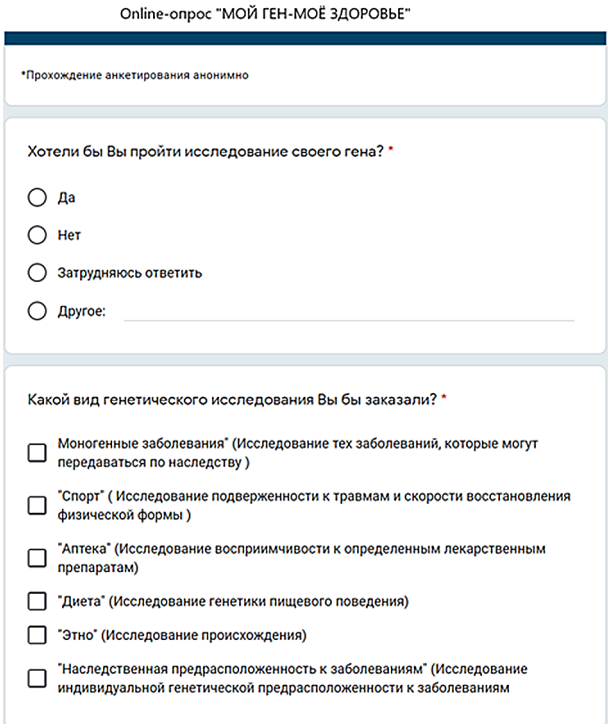


Рис. 1. Скриншот анкеты-опросника
Fig. 1. Screenshot of the questionnaire

Приглашения респондентам рассылались через социальные сети на условиях добровольности и анонимности по ссылке: https://docs.google.com/forms/d/1Js0BNIALEdaSTvYzX5RmFDRVevWVDi4MZrjet_LFSTg/edit#responses. Всего в анкетировании приняли участие 305 респондентов. Все респонденты проживали в Иркутске.

Иркутск – административный центр Иркутской области, один из крупнейших промышленных и научно-образовательных городов Сибири. Численность населения Иркутска составляет 623 479 человек, в том числе 55 945 человек в возрасте 18–25 лет [7].

Распределение участников опроса по возрасту, полу и образованию представлено в таблице 1.

Таблица 1
Распределение респондентов по возрасту, полу и образованию
Table 1
Distribution of respondents by age, gender and education

Показатель	абс.	% [95% ДИ]
Возраст		
18–25 лет	266	87,2 [83,5÷90,9]
26–35 лет	23	7,5 [4,56÷10,44]
36–45 лет	7	2,3 [0,6÷4]
46–55 лет	4	1,3 [0,3÷2,6]
От 56 лет	5	1,6 [0,19÷3,01]
Пол		
Женщины	224	73,4 [68,5÷78,3]
Мужчины	81	26,6 [21,7÷31,5]
Образование		
Студенты	131	43 [37,5÷48,5]
Высшее	121	39,7 [34,2÷45,2]
Среднее	26	8,5 [5,4÷11,6]
Средне-специальное	24	7,9 [4,96÷10,84]
Неполное среднее	3	0,98 [0÷2,08]
Ученая степень/звание	4	1,3 [0,03÷2,6]

Установлено, что основной возраст респондентов составил 18–25 лет (266/305 – 87,2 %), что, вероятно, связано с большей интернет-коммуникацией среди лиц молодого возраста [8]. Среди участников анкетирования преобладали студенты (131/305 – 43 %); среди опрошенных женщин было больше, чем мужчин (224 (73,44 %) и 81 (26,56 %)человек соответственно). В таблице 2 указан ежемесячный доход респондентов.

Таблица 2
Распределение респондентов по ежемесячному доходу
Table 2
Distribution of respondents by monthly income

Доход, руб.	абс.	% [95% ДИ]
Менее 15 000	90	29,5 [24,4÷34,6]
От 15 000 до 25 000	148	48,5 [42,8÷54,2]
От 26 000 до 35 000	28	9,2 [5,9÷12,5]
От 36 000 до 45 000	18	5,9 [3,2÷8,6]
От 46 000 и выше	21	6,9 [3,96÷9,84]

Если среднемесячная заработная плата работников предприятий и организаций Иркутской области за 2018 г. составляла 42 647 руб., то каждый второй респондент (48,5 %) указал на средний доход от 15 000 до 25 000 руб. в месяц.

Статистическая обработка материалов исследования проведена с использованием программного обеспечения BioStat (издательский дом «Практика», 2006) по общепринятым методикам. Данные представлены в виде абсолютных (*n*) величин. При анализе качественных признаков проводилась оценка относительной частоты признака (распространённость) и доверительного интервала с уровнем значимости 95 % (95% ДИ). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

По результатам исследования показано, что большая часть участников анкетирования (287/305 – 94,1 %) желали пройти генетическое тестирование на коммерческой основе (рис. 2).

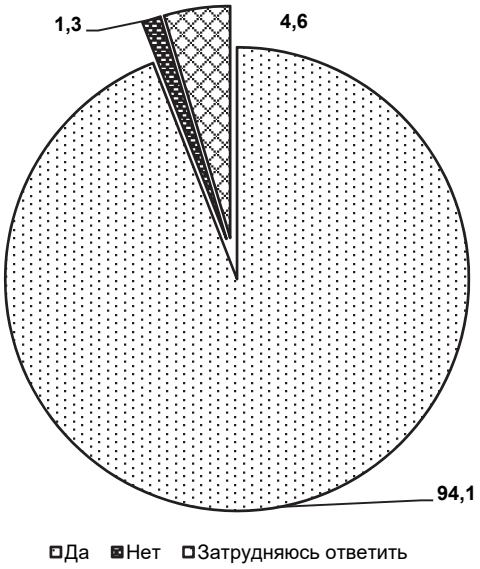


Рис. 2. Диаграмма распределения ответов участников анкетирования на вопрос о желании пройти генетическое тестирование

Fig. 2. Diagram of the distribution of responses of survey participants

При этом всего 1,3 % (4/305) опрошенных не хотели бы проходить генетическое исследование, и 4,6 % (14/305) затруднились ответить на данный вопрос. Следовательно, при среднем доходе 15 000–25 000 руб. респонденты имеют высокую заинтересованность к прохождению генетического тестирования, за выполнение которого готовы платить из личных средств.

Распределение ответов на вопрос об интересующем виде генетического тестирования представлены на рисунке 3.

Наибольший интерес респонденты изъявили к исследованиям наследственной предрасположенности к заболеваниям (221 (72,5 %) человек) и к обследованию на моногенные заболевания (186 (61 %) случаев).

Ведущими причинами смертности в регионе являются болезни системы кровообращения (627,3 случая на 100 000 населения), новообразования (215,2 случая на 100 000 населения) [7], которые относятся к заболеваниям человека с наследственной предрасположен-

ностью, т. е. к заболеваниям, обусловленным взаимодействием определённых комбинаций аллелей многих генов и внешних факторов. Комплексная генетическая диагностика заболеваний с наследственной предрасположенностью предлагает прогноз риска его развития, что может мотивировать человека пройти клиническое обследование и изменить образ жизни.

В отличие от заболеваний с наследственной предрасположенностью, моногенные не зависят от влияния внешней среды и наследуются в соответствии с законами классической генетики. Такие заболевания подразделяются по типу наследования на доминантные, рецессивные и другие типы. В случае доминантного типа наследования одной копии мутации гена достаточно для проявления заболевания; такие больные, как правило, знают о наличии у них заболевания. В связи с этим риск рождения ребёнка с такой же патологией, как у родителей, высокий, что может мотивировать родителей обратиться за специализированной медицинской помощью (медико-генетическая консультация). Однако иногда это может стать неожиданной информацией, т. к. наследственные заболевания с клинической точки зрения имеют разную степень проявления. При рецессивном типе наследования мутация в гене не проявляется, носитель зачастую не осведомлён о своём носительстве мутации, и в случае, если брачный партнёр также будет носителем такой же мутации, она может быть передана потомству. Генетический тест «Моногенные заболевания» позволяет выявить носительство патологических, мутаций и вовремя получить специализированную медицинскую помощь.

Не меньший интерес вызывает исследование происхождения респондента «Этно» (52,1 %). Этот тест позволяет реализовать информационный интерес о гаплогруппах предков и узнать часть света, из которой много лет назад произошёл род [9].

Удивительно, но меньший интерес респондентов вызывали генетические исследования по оценке особенностей обмена веществ и пищевой непереносимости – «Диета» (36,7 %), по предрасположенности к спортивным нагрузкам, к травмам и скорости восстановления физической формы – «Спорт» (22 %), несмотря на то, что основной возраст респондентов составил 18–25 лет.

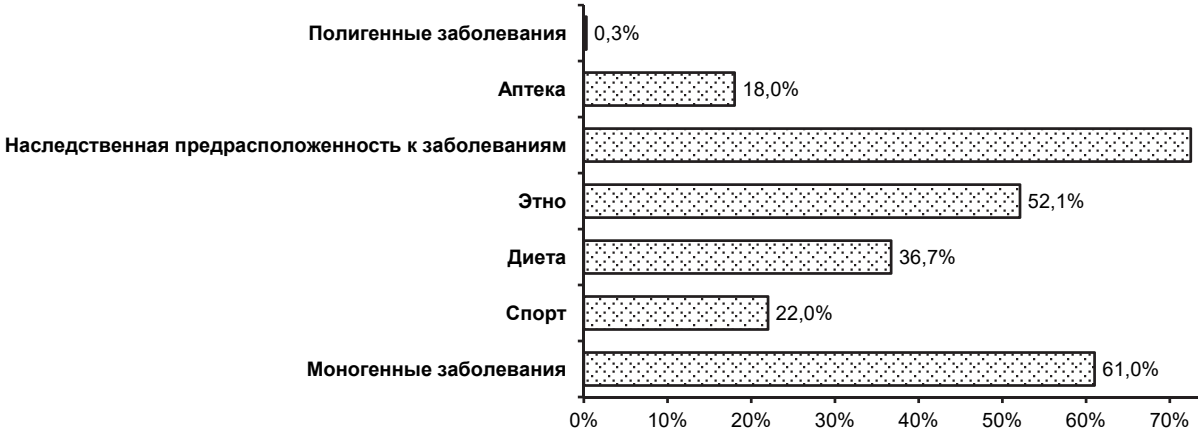


Рис. 3. Диаграмма распределения ответов участников анкетирования на вопрос о интересуемом виде генетического исследования
Fig. 3. Diagram of the distribution of responses of survey participants

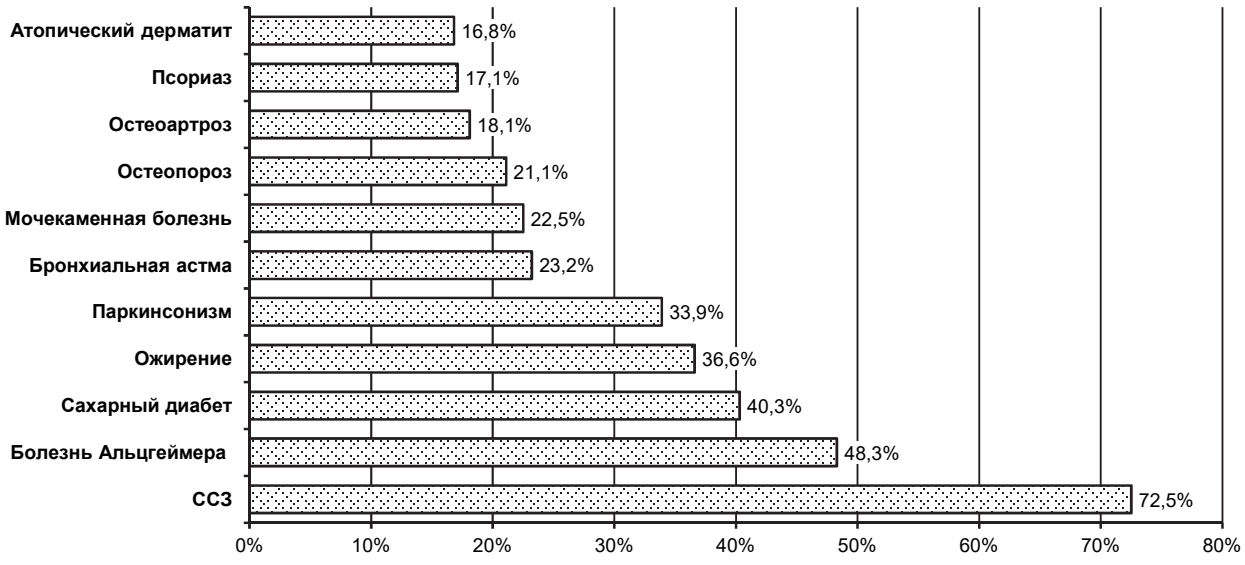


Рис. 4. Диаграмма распределения ответов участников анкетирования на вопрос о желании узнать о предрасположенности к конкретным заболеваниям
Fig. 4. Diagram of the distribution of responses of survey participants

Также меньший интерес респондентов вызывало генетическое исследование по оценке переносимости и эффективности медикаментозной терапии – «Аптека» (18 %). Наши результаты оценки интереса к фармакогенетическим исследованиям ниже, чем в аналогичном исследовании ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) с коллаборатором (октябрь–декабрь 2017): 86,2 % среди студентов-медиков и 82,8 % среди студентов немедицинских вузов против 18 % в нашем исследовании [10]. В настоящее время известно, что фармакогенетические исследования позволяют снизить риск развития нежелательных лекарственных реакций за счёт индивидуального подбора фармакологической группы и дозы препарата [11, 12].

Распределение ответов на вопрос «Предрасположенность к каким заболеваниям вы бы хотели узнать?» представлено на рисунке 4. Респонденты могли ознакомиться с краткой справкой по каждому заболеванию, заполняя анкету.

Из ответов следует, что наибольший интерес среди респондентов вызывает определение предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям (72,5 %) и ассоциированным с ними патологиям – сахарному диабету (40,3 %) и ожирению (36,6 %). Удивительным является высокий интерес респондентов к заболеваниям нервной системы: болезни Альцгеймера (48,3 %) и паркинсонизму (33,9 %), – несмотря на то, что основной возраст респондентов составляет 18–25 лет и может быть связан с небольшой выборкой.

ОБСУЖДЕНИЕ

Завершение в 2003 году проекта «Геном человека» создало совершенно новую область в исследовании здоровья человека – молекулярную медицину. Дальнейшее совершенствование технологических подходов к генетическому анализу, увеличивающийся массив данных поиска генотип-фенотип взаимосвязей помогает выяснить молекулярные основы полигенных заболеваний, расширить спектр тестируемых моногенных заболеваний.

Если в 2003 г. секвенирование генома стоило более 2,7 млрд долларов, то в 2016 г. его стоимость снизилась до 1000 долларов и ниже [13]. На 2021 г. в РФ цена полногеномного секвенирования в коммерческих научных центрах составляет 99 000 рублей.

Сумма, которую клиент должен заплатить за генетическое тестирование, играет решающую роль в разработке продукта. Сегодня диапазон цен на услуги генетического тестирования может варьировать от 50 до 1000 долларов. В Европе и США услуги генетического исследования стоят менее 300 долларов [14] при средней заработной плате 3100 долларов (в 2016–2017 гг., по данным Международной организации труда) [15]. Согласно результатам представленного исследования, более 90 % респондентов готовы пройти генетическое тестирование на коммерческой основе, имея при этом доход от 15 000 до 25 000 рублей. При региональном прожиточном минимуме в период проводимого исследования, составляющем от 9825 руб./мес. (Постановление Правительства Иркутской области 30.01.2018 № 46-пп) до 10226 руб./мес. (Постановление Правительства Иркутской области 30.10.2017 № 707-пп), указание на готовность к генетическому исследованию свидетельствует больше об интересе респондентов к генетическому тестированию в условиях недостаточности финансовых ресурсов.

Сегодня генетическое тестирование как источник уникальных биологических данных нуждается в маркетинговых исследованиях. Если понимать маркетинг как процесс управления, который отвечает за предвидение и удовлетворение требований потребителей, то интерес представляют «продукты» генетического тестирования, их ценностный потенциал. Государственные и частные компании предлагают широкий спектр услуг по пренатальному и постнатальному молекулярно-генетическому тестированию на моногенные и полигенные заболевания, классический и молекулярно- цитогенетический анализ хромосомных перестроек, таргетное фармакогенетическое тестирование при онкологических заболеваниях, и др. Согласно K.A. Phillips (2018), в США самый высокий спрос был на пренатальные генетические исследования, на втором месте – исследования на предрасположенность к раковым заболеваниям. Общее количество генетических тестов, которые активно продаются сертифицированными лабораториями Clinical Laboratory Improvement Amendments в США, в 2018 году составило 74 448, что составляет приблизительно 10 000 уникальных типов тестов. Ежедневно в прейскуранте добавляется 10 новых генетических тестов. При этом 135 000 генетических тестов пользуются низким спросом. Из предлагаемых в США тестов 86 % являются тестами на определение мутации в одном гене, остальные тесты основаны на панелях, включая 9311 «мультианалитических» анализов [16].

Сфера услуг геномного тестирования и генетического консультирования в Малайзии весьма разнообразна. Достаточно интересно, что такие тесты, как тест на наличие заболеваний с наследственной предрасположенностью и носительство моногенных заболеваний, тест на образ жизни (с рекомендациями по образу жизни на основе генетического тестирования), являются наиболее распространенными услугами, проводимыми в Малайзии (40 %) за которыми следуют услуги пренатального тестирования (35 %). Тесты на родство/происхождение предоставляются в небольшом количестве лабораторий, и их доля составляет 15 % от всех генетических исследований, в то время как такое же количество генетических лабораторий предлагает услуги фармакогенетического тестирования [17].

К приоритетным исследованиям в Греции, по данным A. Sagia и др., следует отнести молекулярно-генетические анализы на наследственные заболевания, за которыми следуют классические и/или другие современные исследования, как, например, в цитогенетике при хромосомных аномалиях. Следует отметить увеличение количества молекулярно-генетических тестов на микробиоту и предрасположенность. Кроме того, широкое распространение получило фармакогенетическое тестирование по направлениям от узких специалистов: психиатров, кардиологов и онкологов. Основной целевой группой для генетических лабораторий Греции являются врачи, заинтересованные лица и стороны, такие как диагностические центры, больницы и фармацевтические компании. Основными специальностями, с которыми в основном сотрудничают такие генетические службы (включающие лабораторию и врача-генетика), являются акушеры/гинекологи, затем кардиологи, психиатры и другие специалисты, а именно онкологи, педиатры, гематологи и неврологи [18].

Одна из критических проблем генетического тестирования независимо от того, предлагается ли оно напрямую потребителю или нет, – это клиническая полезность полученных результатов исследования, основанная на доказательной медицине [19]. Практикующие врачи должны быть готовы к пациентам, чей интерес и знания о медицинском прогрессе происходят из иных источников, например, из интернета. Многие из генетических тестов направлены на определение одиночных полиморфизмов, которые могут быть ассоциированы с конкретными заболеваниями. Несмотря на открытия, сделанные в ходе общегеномных ассоциативных исследований GWAS, мало информации о генетических основах полигенных заболеваний в разных возрастных и расовых выборках, а также о взаимодействии генетических маркеров с окружающей средой как о факторе риска дебюта заболеваний [20].

Дезинформация или неправильное использование информации могут быть одними из опасностей генетического тестирования. Так, одним из первых одобренных FDA (Food Drug Administration, Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов, ветеринарии, а также косметическими, табачными и иными изделиями) генетических тестов, используемым потребителем напрямую (от потребителя в лабораторию, direct-to-consumer (DTC)), являлся тест на мутации в генах *BRCA1*/*BRCA2* для выявления риска рака молочной железы и яичников, предложенный корпорацией «23andMe» [21]. В настоящее время «23andMe» тестирует только три специфические мутации: две – в гене *BRCA1* (BRCA1 c.68_69delAG и BRCA1 c.5266dupC) и одну – в гене *BRCA2* (BRCA2 c.5946delT), – которые встречаются почти исключительно в еврейском населении ашкенази [22]. И как следствие, возникают вопросы относительно интерпретации и понимания обследованных полученных результатов генетического тестирования [23]. В РФ наиболее часто определяют аллельные варианты генов человека *BRCA1* (мутации 185delAG, 4153delA, 5382insC, 3819delGTAAA, 3875delGTCT, 300T>G (Cys61Gly), 2080delA) и *BRCA2* (мутация 6174delT), ассоциированных с риском развития рака молочной железы и рака яичников с использованием зарегистрированных реагентов. Регулирование генетического тестирования на территории США в последнее время привлекает значительное внимание FDA [24]. В то время как регулярные дебаты между компаниями, предоставляющими генетическое тестирование, и FDA продолжаются, поставщикам медицинских услуг и потребителям важно понимать риски и преимущества генетических услуг как с медицинской, так и с биоэтической и социально-экономической позиций [4].

Генетическая диагностика может стать мощным инструментом в прогнозировании риска для здоровья и источником предполагаемой экономии средств в условиях предупреждения раннего дебюта страхового случая. С другой стороны, имеется насторожённость относительно генетической дискриминации, когда потребители могут оказаться лишёнными права на страхование жизни или страхование от инвалидности, если они сообщают о генетической предрасположенности к заболеванию [25].

Наши данные подтверждают обеспокоенность населения сердечно-сосудистыми заболеваниями. Смерти от сердечно-сосудистых заболеваний в РФ на первом месте, их доля в 2015 г. составляла 48,7 % от общего числа всех смертей; такая же ситуация наблюдается в Иркутской области. Часть 2 ст. 30 федерального закона от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» посвящена профилактике неинфекционных заболеваний, предупреждению возникновения, распространения и раннему выявлению таких заболеваний, а также снижению риска их развития, предупреждению и устранению отрицательного воздействия на здоровье факторов внутренней и внешней среды, формированию здорового образа жизни.

Генетическое тестирование направлено на ранее выявление предрасположенности и профилактику заболеваний. Однако его результаты могут повлиять на дальнейшее поведение людей и привести к непреднамеренным последствиям. Исследователи M. Mackert, M. Guadagno, A. Mabry обеспокоены влиянием результатов генетического тестирования на поведение людей и убеждены в необходимости дальнейших исследований в этой области. Так, повышение доступности генетического тестирования может дать потребителям возможность быть более активными в отношении своего здоровья – это наиболее желаемый результат. Однако потребители могут по-разному воспринимать информацию из научного отчёта по результатам генетического теста: так, «низкий риск» способен инициировать у некоторых лиц более рисковое поведение в виде нарушения режима физической нагрузки и пищевого поведения [26]. Из этого следует необходимость врачебного, медицинского сопровождения результатов генетического тестирования.

Безусловно, необходим анализ надёжности и маркетинга генетических тестов с разработкой оптимальных маршрутов от назначения до получения результатов генетического тестирования с расширением информационной ценности по профилактике, диагностике заболеваний, а также с персонализированным подбором лекарственных средств.

Ограничения исследования

1. Большинство включённых в исследование респондентов – молодого возраста. Необходимо проведение дополнительного анкетирования путём опросов граждан старшего поколения для объективности анализа.
2. Не определён объём выборки респондентов.
3. Не включён в исследование медицинский персонал, в том числе врачи как потенциальные потребители услуг по генетическому тестированию.
4. В анкетирование не включены вопросы, касающиеся стоимости генетических исследований. Готовность проходить генетическое тестирование на коммерческой основе напрямую зависит от суммы исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Целью персонализированной медицины является формирование интегрального подхода к оказанию медицинской услуги, включающей тестирование на предрасположенность к болезням, составление профилактических рекомендаций, выбор персонализированных препаратов и определение схемы лечения, учитывающей индивидуальные особенности пациента и осуществление мониторинга состояния здоровья пациента. Генетическое тестирование не включено в систему ОМС и ДМС, поэтому потенциальный потребитель генетических услуг сам оплачивает исследование, стоимость

которого варьирует в зависимости от вида (от мутации в одном гене – 500 руб. до полного генома – 100 000 руб.), но в целом относительно высока по стране. Тем не менее, лица молодого возраста выражают интерес к проведению генетического тестирования на коммерческой основе, несмотря на не очень высокие доходы. В приоритетности запросов лидирующие позиции занимают исследования по поиску предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям, психическим заболеваниям, а также носительства моногенных заболеваний. Исследование указывает на появление растущего потребительского рынка генетических данных, который предоставляет клиентам цифровое пространство для взаимодействия. Существует также острая потребность в дальнейших исследованиях, направленных на поиск и устранение проблем, возникающих при генетическом тестировании, таких как клиническая полезность исследования, влияние результатов исследования на поведение людей и система регулирования генетического тестирования в целом.

Конфликт интересов

Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Johansen CT, Hegele RA. Predictive genetic testing for coronary artery disease. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2009; 46(5-6): 343-360. doi: 10.3109/07388550903422075

2. Pagon RA. Molecular genetic testing for inherited disorders. *Expert Rev Mol Diagn*. 2004; 4(2): 135-140. doi: 10.1586/14737159.4.2.135

3. *Mayo Foundation for Medical Education and Research. Genetic Testing.* URL: https://www.mayo.edu/research/clinical-trials/tests-procedures/genetic-testing [Accessed: 12th September 2020].

4. Patsiaouras G. 'Fault' genes and false needs? A critical review on the direct-to-consumer marketing of genetic tests. *Mark Rev*. 2017; 17(2): 217-237. doi: 10.1362/146934717X14909733966191

5. Gollust SE, Hull SC, Wilfond BS. Limitations of direct-to-consumer advertising for clinical genetic testing. *JAMA*. 2002; 288(14): 1762-1767. doi: 10.1001/jama.288.14.1762

6. Williams-Jones B. Where there's a web, there's a way: Commercial genetic testing and the Internet. *Community Genet*. 2003; 6(1): 46-57. doi: 10.1159/000069538

7. *Территориальный орган Федеральной службы государственной статистики по Иркутской области.* URL: https://irkutskstat.gks.ru/ofstatistics [Дата обращения: 28 августа 2020].

8. Куликова А.В. Особенности Интернет-коммуникации. *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. Серия: Социальные науки*. 2012; (4): 19-24.

9. Ilumäe AM, Reidla M, Chukhryaeva M, Järve M, Post H, Karmin M, et al. Human Y chromosome haplogroup N: A non-trivial time-resolved phylogeography that cuts across language families. *Am J Hum Genet*. 2016; 99(1): 163-173. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.05.025

10. Киричук Я.В., Царьков С.С., Орлова А.С., Силина Е.В., Керимова К.С., Дадаева В.А., и др. Определение отношения российских студентов к проведению генетического тестирования и фармакогенетического анализа. *РМЖ*. 2019; 1(I): 37-40.

11. Баирова Т.А., Самбялова А.Ю., Рычкова Л.В., Новикова Е.А., Белялов Ф.И., Саргаева Д.С., и др. Фармакогенетический алгоритм дозирования варфарина в российской популяции. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 40-44. doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.5

12. Баирова Т.А., Новикова Е.А., Белялов Ф.И., Щедреева Е.А., Иевлева К.Д., Калюжная О.В., и др. Распространённость полиморфизмов генов цитохромов Р450 – метаболизаторов варфарина – в Восточной Сибири. *Acta biomedica scientifica*. 2018; 3(5): 39-48. doi: 10.29413/ABS.2018-3.5.6

13. Agarwal R, Dugas M, Gao G, Kannan PK. Emerging technologies and analytics for a new era of value-centered marketing in healthcare. *J Acad Mark Sci*. 2020; 48(1): 9-23. doi: 10.1007/s11747-019-00692-4

14. Mitropoulou C, Giannouri D, Karamperis K, Wadge S, Patrinos GP. Defining genetic-testing delivery and promotional strategies for personalized medicine. In: Patrinos GP (ed.). *Applied Genomics and Public Health*. Academic Press; 2020: 329-344. doi: 10.1016/b978-0-12-813695-9.00019-4

15. International Labor Office. Global employment trends 2014: Risk of a jobless recovery? URL: https://www.ilo.org/global/research/global-reports/global-employment-trends/2014/lang--en/index.htm [Accessed: 22th September 2020].

16. Phillips KA, Deverka PA, Hooker GW, Douglas MP. Genetic test availability and spending: Where are we now? Where are we going? *Health Aff (Millwood).* 2018; 37(5): 710-716. doi: 10.1377/hlthaff.2017.1427

17. Balasopoulou A, Mooy FM, Baker DJ, Mitropoulou C, Skoufas E, Bulgiba A, et al. Advancing global precision medicine: An overview of genomic testing and counseling Services in Malaysia. *OMICS*. 2017; 21(12): 733-740. doi: 10.1089/omi.2017.0136

18. Sagia A, Cooper DN, Poulas K, Stathakopoulos V, Patrinos GP. Critical appraisal of the private genetic and pharmacogenomic testing environment in Greece. *Per Med*. 2011; 8(4): 413-420. doi: 10.2217/pme.11.24

19. Grosse SD, Khoury MJ. What is the clinical utility of genetic testing? *Genet Med.* 2006; 8(7): 448-450. doi: 10.1097/01.gim.0000227935.26763.c6

20. Field A, Krokosky A, Terry SF. Direct-to-consumer marketing of genetic tests: Access does not reflect clinical utility. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2010; 14(6): 731-732. doi: 10.1089/gtmb.2010.1514

21. U.S. Food and Drug Administration. FDA authorizes, with special controls, direct-to-consumer test that reports three mutations in the BRCA breast cancer genes. URL: https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-authorizes-special-controls-direct-consumer-test-reports-three-mutations-brca-breast-cancer [Accessed: 20th August 2020].

22. Kilbride MK, Domchek SM, Bradbury AR. How should patients and providers interpret the US Food and Drug Administration's regulatory language for direct-to-consumer genetic tests? *J Clin Oncol*. 2019; 37(28): 2514-2517. doi: 10.1200/JCO.18.01418

23. Geransar R, Einsiedel E. Evaluating online direct-to-consumer marketing of genetic tests: Informed choices or buyers beware? *Genet Test.* 2008; 12(1): 13-23. doi: 10.1089/gte.2007.0024

24. Gray SW, Abel GA. Update on direct-to-consumer marketing in oncology. *J Oncol Pract*. 2012; 8(2): 124-127. doi: 10.1200/JOP.2011.000513

25. Wolfberg AJ. Genes on the Web-direct-to-consumer marketing of genetic testing. *N Engl J Med*. 2006; 355(6): 543-545. doi: 10.1056/NEJMp068079

26. Mackert M, Guadagno M, Mabry A, Chilek L. DTC drug advertising ethics: Laboratory for medical marketing. *Int J Pharm Healthc Mark*. 2013; 7(4): 374-390. doi: 10.1108/IJPHM-04-2013-0018

REFERENCES

1. Johansen CT, Hegele RA. Predictive genetic testing for coronary artery disease. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2009; 46(5-6): 343-360. doi: 10.3109/07388550903422075

2. Pagon RA. Molecular genetic testing for inherited disorders. *Expert Rev Mol Diagn*. 2004; 4(2): 135-140. doi: 10.1586/14737159.4.2.135

3. *Mayo Foundation for Medical Education and Research. Genetic Testing.* URL: https://www.mayo.edu/research/clinical-trials/tests-procedures/genetic-testing [Accessed: 12th September 2020].

4. Patsiaouras G. 'Fault' genes and false needs? A critical review on the direct-to-consumer marketing of genetic tests. *Mark Rev*. 2017; 17(2): 217-237. doi: 10.1362/146934717X14909733966191

5. Gollust SE, Hull SC, Wilfond BS. Limitations of direct-to-consumer advertising for clinical genetic testing. *JAMA*. 2002; 288(14): 1762-1767. doi: 10.1001/jama.288.14.1762

6. Williams-Jones B. Where there's a web, there's a way: Commercial genetic testing and the Internet. *Community Genet*. 2003; 6(1): 46-57. doi: 10.1159/000069538

7. *Territorial body of the Federal State Statistics Service in the Irkutsk Region.* URL: https://irkutskstat.gks.ru/ofstatistics [Дата обращения: 28 августа 2020]. (In Russ.)

8. Kulikova AV. Features of Internet communication. *Vestnik of Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod. Series: Social Sciences.* 2012; (4): 19-24. (In Russ.)

9. Ilumäe AM, Reidla M, Chukhryaeva M, Järve M, Post H, Karmin M, et al. Human Y chromosome haplogroup N: A non-trivial time-resolved phylogeography that cuts across language families. *Am J Hum Genet*. 2016; 99(1): 163-173. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.05.025

10. Kirichuk YaV, Tsarkov SS, Orlova AS, Silina EV, Kerimova KS, Dadaeva VA, et al. Determination of the attitude of Russian students to genetic testing and pharmacogenetic analysis. *Russian Medical Journal*. 2019; 1(I): 37-40. (In Russ.)

11. Bairova TA, Sambyalova AYu, Rychkova LV, Novikova EA, Belyalov FI, Sargaeva DS, et al. Pharmacogenetic warfarin dosing algorithm in the Russian population. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(3): 40-44. (In Russ.). doi: 10.29413/ABS.2019-4.3.5

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

13. Agarwal R, Dugas M, Gao G, Kannan PK. Emerging technologies and analytics for a new era of value-centered marketing in healthcare. *J Acad Mark Sci*. 2020; 48(1): 9-23. doi: 10.1007/s11747-019-00692-4

14. Mitropoulou C, Giannouri D, Karamperis K, Wadge S, Patrinos GP. Defining genetic-testing delivery and promotional strategies for personalized medicine. In: Patrinos GP (ed.). *Applied Genomics and Public Health*. Academic Press; 2020: 329-344. doi: 10.1016/b978-0-12-813695-9.00019-4

15. International Labor Office. Global employment trends 2014: Risk of a jobless recovery? URL: https://www.ilo.org/global/research/global-reports/global-employment-trends/2014/lang--en/index.htm [Accessed: 22th September 2020].

16. Phillips KA, Deverka PA, Hooker GW, Douglas MP. Genetic test availability and spending: Where are we now? Where are we going? *Health Aff (Millwood)*. 2018; 37(5): 710-716. doi: 10.1377/hlthaff.2017.1427

17. Balasopoulou A, Mooy FM, Baker DJ, Mitropoulou C, Skoufas E, Bulgiba A, et al. Advancing global precision medicine: An overview of genomic testing and counseling Services in Malaysia. *OMICS*. 2017; 21(12): 733-740. doi: 10.1089/omi.2017.0136

18. Sagia A, Cooper DN, Poulas K, Stathakopoulos V, Patrinos GP. Critical appraisal of the private genetic and pharmacogenomic testing environment in Greece. *Per Med*. 2011; 8(4): 413-420. doi: 10.2217/pme.11.24

19. Grosse SD, Khoury MJ. What is the clinical utility of genetic testing? *Genet Med.* 2006; 8(7): 448-450. doi: 10.1097/01.gim.0000227935.26763.c6

20. Field A, Krokosky A, Terry SF. Direct-to-consumer marketing of genetic tests: Access does not reflect clinical utility. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2010; 14(6): 731-732. doi: 10.1089/gtmb.2010.1514

21. U.S. Food and Drug Administration. FDA authorizes, with special controls, direct-to-consumer test that reports three mutations in the BRCA breast cancer genes. URL: https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-authorizes-special-controls-direct-consumer-test-reports-three-mutations-brca-breast-cancer [Accessed: 20th August 2020].

22. Kilbride MK, Domchek SM, Bradbury AR. How should patients and providers interpret the US Food and Drug Administration's regulatory language for direct-to-consumer genetic tests? *J Clin Oncol*. 2019; 37(28): 2514-2517. doi: 10.1200/JCO.18.01418

23. Geransar R, Einsiedel E. Evaluating online direct-to-consumer marketing of genetic tests: Informed choices or buyers beware? *Genet Test*. 2008; 12(1): 13-23. doi: 10.1089/gte.2007.0024

24. Gray SW, Abel GA. Update on direct-to-consumer marketing in oncology. *J Oncol Pract*. 2012; 8(2): 124-127. doi: 10.1200/JOP.2011.000513

25. Wolfberg AJ. Genes on the Web-direct-to-consumer marketing of genetic testing. *N Engl J Med*. 2006; 355(6): 543-545. doi: 10.1056/NEJMp068079

26. Mackert M, Guadagno M, Mabry A, Chilek L. DTC drug advertising ethics: Laboratory for medical marketing. *Int J Pharm Healthc Mark*. 2013; 7(4): 374-390. doi: 10.1108/IJPHM-04-2013-0018

Сведения об авторах

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

Немчинова Надежда Владимировна – лаборант-исследователь лаборатории персонализированной медицины, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: nemchinova.nad@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-9720-8750

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 authors

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

Nadezhda V. Nemchinova – Research Assistant at the Laboratory of Personalized Medicine, Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: nemchinova.nad@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-9720-8750

Aleksandra 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: 11.01.2021. Статья принята: 25.03.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 11.01.2021. Accepted: 25.03.2021. Published: 15.06.2021.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ
EPIDEMIOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.24

Эпидемиологический риск дирофиляриоза на территории Воронежской области

Беспалова Н.С. [1], **Золотых Т.А.** [2]

[1] ФГБОУ ВО Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I (394087, г. Воронеж, ул. Мичурина, 1, Россия); [2] Ветеринарная клиника «ВетЛига» (394005, г. Воронеж, ул. Минская, 9, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Беспалова Надежда Сергеевна, e-mail: Nadezh.bespalova2014@yandex.ru

Резюме

Обоснование. *Дирофиляриоз – трансмиссивный гельминтоз, который имеет тенденцию к расширению пространственных границ на территории с умеренным и холодным климатом. В Воронежской области, расположенной в Центрально-Чернозёмном регионе РФ, ранее имелись единичные сообщения о случаях дирофиляриоза у людей и собак, но специально этот вопрос не изучался.*

Цель исследований. *Определение степени заражённости собак Dirofilaria immitis и Dirofilaria repens в Воронежской области для определения уровня эпидемиологического риска.*

Материалы и методы. *В течение семи лет была проведена целенаправленная работа по изучению распространения разных видов дирофилярий у собак в Воронежской области. Исследована кровь от 3498 собак разных пород, возрастов, условий содержания и хозяйственного назначения. Личинок дирофилярий подсчитывали с помощью камеры Фукса – Розенталя. Вид личинок дирофилярий, выделенных из крови собак, определяли гистохимическим методом. Антиген имагинальной формы D. immitis выявляли, используя хроматографическую тест-систему Immuno Run Antigen Detection Kit Caninae Heartworm Biogal (Израиль). Статистическую обработку материала проводили в программе Microsoft Excel 2010. Исследования проведены с согласия владельцев животных и в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1986).*

Результаты. *Было установлено, что в Воронежской области средняя экстенсивность инвазии (ЭИ) домашних собак (Canis familiaris) дирофиляриозом составляет 14,14 ± 0,31 %. Показатель зависит от условий содержания животных и составляет 27,15 % у бездомных, 25,26 % – у служебных, 10,54 % – у квартирных собак. У служебных собак вид D. repens встречается в 52,39 % случаев, D. immitis – в 42,95 %, микстинвазия – 4,80 % случаев. У бездомных собак преобладает вид D. repens (80,10 %). Второй вид D. immitis был установлен в 10,0 % случаев. Одновременно оба вида, также, были установлены в 10,0 % случаев. Максимальное число случаев дирофиляриоза приходится на городских собак (65,87 %), что связано с высокой плотностью их субпопуляции и тесным контактом с вектором передачи: комарами на урбанизированных территориях. Сезонная динамика инвазии определяется круглогодичным выявлением случаев заболевания с пиком в октябре (46,77 %). Экстенсивность инвазии увеличивается с возрастом, у собак от года до шести лет составляет максимум – 63,26 %.*

Ключевые слова: *эпидемиологический риск, биогельминтоз, зооноз, дирофиляриоз, синантропный очаг, природный очаг, эпизоотическая ситуация, собака*

Для цитирования: Беспалова Н.С., Золотых Т.А. Эпидемиологический риск дирофиляриоза на территории Воронежской области. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 213-217. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.24.

Epidemiological Risk of Dirofilariasis in the Voronezh Region

Bespalova N.S. [1], **Zolotykh T.A.** [2]

[1] Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great (Michurina str. 1, Voronezh 394087, Russian Federation); [2] Veterinary Clinic "VetLiga" (Minskaya str. 9, Voronezh 394005, Russian Federation)

Corresponding author: Nadezhda S. Bespalova, e-mail: Nadezh.bespalova2014@yandex.ru

Abstract

Background. *Dirofilariasis is a vector-borne helminthiasis that tends to expand spatial boundaries in areas with temperate and cold climates. In the Voronezh oblast, located in the Central Black Earth Region of the Russian Federation there were previously isolated reports of cases of dirofilariasis in humans and dogs, but this issue was not specifically studied.*

Aims. *To determine the degree of infection of dogs with Dirofilaria immitis and Dirofilaria repens in the Voronezh oblast in order to determine the level of epidemiological risk.*

Materials and methods. *For seven years, targeted work was carried out to study the spread of different types of dirofilariae in dogs in the Voronezh region. Blood from 3 498 dogs of different breeds, ages, conditions of keeping and*

household use was examined. Dirofilaria larvae were counted using the Fuchs-Rosenthal camera. The type of dirofilaria larvae isolated from the blood of dogs was determined by the histochemical method. The antigen of the imaginal form of D. immitis was detected using a chromatographic test system the ImmunoRun Antigen Detection Kit Caninae Heartworm Biogal chromatographic test system (Israel). Statistical processing of the material was carried out in the Microsoft Excel 2010 program. Studies were carried out with the consent of animal owners and in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebral Animals used for experimental and other scientific purposes (Strasbourg, 1986).

Results. *As a result of the conducted studies, it was found that in the Voronezh oblast, the average infection of domestic dogs (Canis familiaris) with dirofilariasis is 14.14 ± 0.31 %. The indicator depends on the conditions of keeping animals and makes 27.15 % in stray dogs, 25.26 % – in service dogs and 10.54 % – in apartment dogs. In service dogs, the species D. repens occurs in 52.39 % of cases, D. immitis – in 42.95 %, mixtinvasia – in 4.80 % of cases. In stray dogs, the species D. repens prevails (80.10 %). The second type of D. immitis was established in 10.0 % of cases. At the same time, both types were also established in 10.0 % of cases. The maximum number of cases of dirofilariasis occurs in urban dogs (65.87 %), which is due to the high density of their population and close contact with the vector of transmission in urbanized areas. The seasonal dynamics of infestation is determined by the year-round detection of cases with a peak in October (46.77 %). The number of cases of dirofilariasis increases with age, in dogs from one to six years old it reaches maximum of 63.26 %. There is an epidemiological risk of dirofilariasis in the Voronezh oblast. This is due to the existence and active functioning of synanthropic and natural foci of invasion on the territory of the Voronezh oblast.*

Key words: *epidemiological risk, biohelminthiasis, zoonosis, dirofilariasis, synanthropic focus, natural focus, epizootic situation, dog*

For citation: Bespalova N.S., Zolotykh T.A. Epidemiological Risk of Dirofilariasis in the Voronezh Region. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 213-217. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.24.

ОБОСНОВАНИЕ

Существенное изменение климатических условий и природной среды повлекло за собой смещение ареала распространения возбудителей зоонозов из южных географических зон на территории с умеренно-континентальным и холодным климатом, где раньше они не встречались. Одним из таких зоонозов является дирофиляриоз. Сообщается о случаях инвазии у собак во многих странах мира, в том числе в Соединённых Штатах Америки [1], Португалии [2], Сербии [3], Германии [4], Италии и других странах [5].

На территории Российской Федерации за последние десять лет наблюдается существенное увеличение числа заражений человека дирофиляриозом [6]. Зооноз регистрируется на всей Европейской части России, в Западной Сибири, на Дальнем Востоке. Северная граница распространения дирофиляриоза определяется абиотическими факторами, ключевым из которых является положительная среднесуточная температура в пределах +14 °С в летнее время, необходимая для реализации биологического цикла паразита. Смещение северных границ установленных случаев дирофиляриоза связано с перемещением населения и заражённых животных из ранее неблагополучных по дирофиляриозу областей. На территории Российской Федерации выделяют три эпидемические зоны дирофиляриоза: низкого, умеренного и устойчивого риска заражения, – в зависимости от их климато-географического расположения [7]. Наиболее благоприятные абиотические условия для развития возбудителя дирофиляриоза имеются в Центральном Черноземье России, Ростовской области, Краснодарском крае и в Крыму [8].

Целый ряд учёных, занимающихся данной проблемой, сообщают об обнаружении местных случаев дирофиляриоза в областях России с умеренным климатом. Например, в Нижнем Новгороде выявлено 12,8 % местных случаев дирофиляриоза [9], в Ульяновской – 14 % [10], в Кировской – 4,7 % [11]; в Калужской области в 2016 г зарегистрированы 6 случаев дирофиляриоза [12]. В Омской области с 2016 по 2019 гг. средняя экстенсивность инвазии составила 3,0 ± 0,6 % при интенсивности инвазии 896,6 ± 452,1 экз./мл крови [13].

По данным Центра гигиены и эпидемиологии, на территории Воронежской области с 2011 г. наблюдается увеличение количества случаев заболевания человека дирофиляриозом. Эпидемиологический коэффициент в период с 2011 по 2015 гг увеличился в 7,5 раза и составил 0,3 на 100 тысяч населения, что определяет актуальность и необходимость изучения данной проблемы. Совокупность биологических, социально-хозяйственных и факторных причин привела к адаптации и динамичному распространению нематод рода *Dirofilaria (Railliet et Henry, 1911)* на изучаемой территории с умеренным континентальным климатом.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение степени заражённости собак *Dirofilaria immitis* и *Dirofilaria repens* в Воронежской области для определения уровня эпидемиологического риска.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для определения эпидемиологического риска зооноза в течение 7 лет была проведена целенаправленная работа по изучению распространения разных форм дирофиляриоза у собак на территории Воронежской области. Исследована кровь от 3498 собак разных пород, возрастов, условий содержания и хозяйственного назначения. *Идентификацию видов личинок дирофилярий*, выделенных из крови собак, про*водили гистохимическим методом* [14]. *Антиген взрослых половозрелых дирофилярий определяли, используя хроматографическую тест-систему* Immuno Run Antigen Detection Kit CANINE HEARTWORM Biogal *(Израиль)*. *Микрофилярий подсчитывали с помощью камеры Фукса – Розенталя*. Статистическую обработку материала проводили в программе Microsoft Excel 2010. Исследования проведены с согласия владельцев животных и в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1986).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проведённые исследования позволили установить дирофиляриоз у 20,12 % субпопуляции сельских

и у 65,87 % субпопуляции городских собак в Воронежской области с преобладанием вида *D. repens,* вызывающего подкожную форму болезни у человека и животных. На него приходится 58,51 % случаев от всех обследованных собак. Реже встречается вид *D. immitis,* вызывающий сердечную форму болезни. На него приходится 35,40 % случаев. В 6,12 % случаев были зарегистрированы оба вида одновременно.

Распространению зооноза на территории Кировской области способствуют потепление климата, перемещения людей и животных, увеличивающаяся популяция домашних и диких плотоядных, адаптация личинок гельминтов к развитию в широком температурном диапазоне [11].

В Воронежской области инвазия установлена у 27,15 % бездомных беспородных собак и у 25,26 % собак служебных пород, содержащихся на улице. Среди собак мелких и средних пород, содержащихся в квартирах и частных домах, уровень заражённости составил 10,54 %. Два случая инвазии были установлены у собак породы йоркширский терьер, содержащихся без выгула. При комнатном содержании сердечная или подкожная формы болезни были установлены в равной степени по 46,20 % случаев. Одновременно обе формы болезни, вызываемые разными видами дирофилярий у одного животного, были зарегистрированы в 7,64 % случаев. У служебных собак сердечная форма дирофиляриоза встречалась в 52,39 % случаев, подкожная – в 42,95 %. Обе формы болезни одновременно были зарегистрированы в 4,80 % случаев. У бездомных собак подкожная форма дирофиляриоза была зарегистрирована в 80,10 % случаев, сердечная – в 10,0 %, одновременно обе формы болезни – также в 10,0 % случаев.

О.Ю. Старостина с соавт. [13] сообщают, что у собак с установленным диагнозом была обнаружена только ДНК *Dirofilaria repens*. Среди инвазированных животных преобладали самцы старше 3-летнего возраста; инвазию диагностировали во все сезоны года.

В Воронежской области дирофиляриоз установлен у кобелей в 57,73 % случаев, у сук – в 42,34 %. Породный состав собак с установленным диагнозом зависит от предпочтений населения, стоимости животных, целевого назначения и постоянно меняется. За период исследований из общего количества обращений в ветеринарные клиники Воронежской области 44,40 % собак относились к породе восточно-европейская овчарка, 22,91 % – бернский зенненхунд, 25,56 % – немецкая овчарка. Доля собак пород среднеазиатская овчарка, кавказская овчарка, лабрадор, йоркширский терьер составила от 11,11 до 15,65 %, спаниель – 9,13 %.

Р.В. Слободяник с соавт. [15] установили, что собаки в хозяйствах Республики Армения заражены дирофиляриозом на 8,5 %. Самый высокий уровень экстенсивности инвазии (75 %) наблюдали у собак в возрасте от 5 до 8 лет. Автор также указывает на зависимость степени заражённости собак от климатических условий разных областей республики и хозяйственного использования животных.

В Воронежской области дирофиляриоз регистрируется у собак в возрастном диапазоне от одного года до четырнадцати лет. Латентная форма болезни отмечается в 63,26 % случаев у собак в возрасте от 1 года до 6 лет. У собак старше 6 лет болезнь диагностировали при общем обследовании по другим причинам. Оба вида нематод были установлены у 18 (22,2 %) цирковых собак породы бобтейл, гастролирующих с цирком по всей территории России. Эта категория собак является ещё одним источником распространения инвазии и создаёт эпидемиологический риск.

Изучение сезонной динамики инвазии разными авторами показало, что пик микрофиляриемии приходится на весенне-летний и осенний периоды, что обусловлено биологическими особенностями паразита. По наблюдениям И.Б. Ивановой [16], экстенсивность инвазии практически не изменялась в течение года и составляла 28 % в летний и 26,4 % – в зимний периоды, оставаясь достаточно высокой весной (23,8 %) и осенью (21,7 %).

В Воронежской области случаи дирофиляриоза у собак ветеринарные специалисты стали выявлять в течение всех сезонов года. Максимум подтверждённых диагнозов (46,77 %) был зарегистрирован в октябре, в январе – 20,23 %, в марте – 12,80 %, в июле – 19,21 %. Это связано с особенностями биологии возбудителя и длительным развитием в организме окончательного хозяина.

Решающее значение в успешной диагностике инвазии имеет выбранный ветеринарным врачом метод. Для постановки диагноза и эффективной борьбы с дирофиляриозом необходимо целенаправленное и поголовное обследование собак, поступающих на приём в ветеринарные клиники, с применением современных информативных методов. Животные с неустановленным диагнозом представляют серьёзную угрозу здоровью человека как источник инвазии на синантропных территориях и способствуют формированию и функционированию синантропных очагов дирофиляриоза. Бродячих собак периодически отлавливают, стерилизуют и прививают, потом возвращают в естественную среду обитания, но численность их на синантропных территориях не снижается. В дальнейшем противопаразитарных обработок таких животных никто не проводит, мониторинг ситуации по паразитарным болезням систематически не ведётся. Бродячие собаки, мигрируя из синантропных на природные территории, участвуют в поддержании и синантропного и природного очагов дирофиляриоза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённые исследования показали, что на территории Воронежской области существует эпидемиологический риск дирофиляриоза, что обусловлено существованием и активным функционированием синантропного и природного очагов инвазии, вызываемой двумя видами нематод рода *Dirofilaria (Railliet et Henry, 1911): Dirofilaria repens u Dirofilaria immitis.* Для эффективной борьбы с дирофиляриозом на территории Воронежской области необходим постоянный мониторинг эпидемиологической и эпизоотологической ситуации со стороны как медицинских, так и ветеринарных специалистов, а для выяснения полной картины эпидемиологического риска необходимо изучение векторов передачи возбудителей дирофиляриоза-комаров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Evans CC, Burkman EJ, Dzimianski MT, Moorhead AR, Savadelis MD, Angenendt C, et al. Periodicity of *Dirofilaria immitisin* long-term infections. *Parasitol Res.* 2017; 116(1): 75-80. doi: 10.1007/s00436-017-5493-z

2. Kulke D, Maia C, Lorentz S, Cardoso L, Otranto D, Naucke TJ. Detection of *Dirofilaria repens* microfilariae in a dog from Portugal.

Parasitol Res. 2016; 115(1): 441-443. doi: 10.1007/s00436-015-4796-1

3. Penezić A, Moriano R, Spasić M, Ćirović D. First report of a naturally patent infection with *Dirofilaria immitis* in an otter (*Lutra lutra*). *Parasitol Res.* 2018; 117(3): 929-931. doi: 10.1007/s00436-018-5769-y

4. Härtwig V, Schulze C, Pfeffer M, Daugschies A, Dyachenko V. No evidence of Dirofilaria repens infection in red foxes (*Vulpes vulpes*) and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) from Brandenburg, Germany. *Parasitol Res*. 2016; 115: 867-871. doi: 10.1007/s00436-015-4820-5

5. Miterpáková M, Valentová D, Čabanová V, Berešíková L. Heartworm on the rise—new insights into *Dirofilaria immitis* epidemiology. *Parasitol Res.* 2018; 117: 2347-2350. doi: 10.1007/s00436-018-5912-9

6. Супряга В.Г., Ракова В.М., Морозов Е.Н. Современное представление об облигатности и факультативности взаимоотношений человека и возбудителя *Dirofilaria (N.) repens*. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2016; 4: 3-7.

7. Супряга В.Г., Морозова Л.Ф., Ракова В.М., Морозов Е.Н., Сергиев В.П., Иванова Т.Н., и др. Дирофиляриоз человека: особенности клинической диагностики, связанные с различными стадиями развития возбудителя. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2017; 2: 3-9.

8. Шедько М.А., Миронова В.А., Коренной Ф.И., Гузеева Т.М. Моделирование благоприятности условий для распространения дирофиляриоза в Европейской части России. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2020; 3: 36-40. doi: 10.33092/0025-8326mp2020.3.25-31

9. Россоловский А.П., Пьяных В.А., Игнатьева В.И., Матина О.Н., Шевчук Е.А., Данилова Е.П., и др. Дирофиляриоз в Новгородской области. *Инфекция и иммунитет*. 2012; 2(1-2): 376.

10. Щеголенкова А.Е., Акимов Д.Ю., Индирякова Т.А., Романов В.В. Структура и экстенсивность гельминтоинвазий в популяции бродячих собак на территории Ульяновской области. *Материалы VIII Всероссийской научно-практической конференции*. Саратов; 2014: 294-298.

11. Пилип Л.В., Бякова О.В. Социально значимые гельминтозы человека в Кировской области. *Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. 2020; 3: 23-26. doi: 10.24411/2074-5036-2020-10027

12. Никанорова А.М., Василевич Ф.И. Случаи дирофиляриоза собак в Калужской области. Ветеринария. 2017; 11: 44.

13. Старостина О.Ю., Рязанова Т.С., Свердлова А.В. Зараженность дирофиляриями собак в Омской области. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2020; 2: 32-35. doi: 10.33092/0025-8326mp2020.2.37-42

14. Шайтанов В.М., Ястреб В.Б. Методика гистохимической окраски на активность кислой фосфатазы для идентификации личинок первой стадии нематод видов *Dirofilaria immitis, D. repens, Acanthocheilonema dracunculoides и A. reconditum* из крови собак. *Российский паразитологический журнал*. 2018; 12(2): 117-120. doi: 10.31016/1998-8435-2018-12-2-117-120

15. Слободяник Р.В., Кряжев А.Л. Основные клинические признаки и ранняя диагностика дирофиляриоза собак в ветеринарной практике хозяйств Республики Армения. *Российский паразитологический журнал*. 2020; 14(3): 63-68. doi: 10.31016/1998-8435-2020-14-3-63-68

16. Иванова И.Б. *Паразитарная система Dirofilaria sp. в городе Хабаровск*е: автореф. дис. … канд. биол. наук. 2013.

REFERENCES

1. Evans CC, Burkman EJ, Dzimianski MT, Moorhead AR, Savadelis MD, Angenendt C, et al. Periodicity of *Dirofilaria immitisin* long-term infections. *Parasitol Res.* 2017; 116(1): 75-80. doi: 10.1007/s00436-017-5493-z

2. Kulke D, Maia C, Lorentz S, Cardoso L, Otranto D, Naucke TJ. Detection of *Dirofilaria repens* microfilariae in a dog from Portugal. *Parasitol Res*. 2016; 115(1): 441-443. doi: 10.1007/s00436-015-4796-1

3. Penezić A, Moriano R, Spasić M, Ćirović D. First report of a naturally patent infection with *Dirofilaria immitis* in an otter (*Lutra lutra*). *Parasitol Res.* 2018; 117(3): 929-931. doi: 10.1007/s00436-018-5769-y

4. Härtwig V, Schulze C, Pfeffer M, Daugschies A, Dyachenko V. No evidence of Dirofilaria repens infection in red foxes (*Vulpes vulpes*) and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) from Brandenburg, Germany. *Parasitol Res*. 2016; 115: 867-871. doi: 10.1007/s00436-015-4820-5

5. Miterpáková M, Valentová D, Čabanová V, Berešíková L. Heartworm on the rise—new insights into *Dirofilaria immitis* epidemiology. *Parasitol Res.* 2018; 117: 2347-2350. doi: 10.1007/s00436-018-5912-9

6. Supryaga VG, Rakova VM, Morozov EN. The modern understanding of the obligate and facultative relationship between a human and *Dirofilaria (N.) repens* pathogen. *Medical parasitology and parasitic diseases*. 2016; 4: 3-7. (In Russ.)

7. Supryaga VG, Morozova LF, Rakova VM, Morozov EN, Sergiev VP, Ivanova TN, et al. Human dirofilariasis: Features of clinical diagnosis associated with different stages of development of the pathogen. *Medical parasitology and parasitic diseases*. 2017; 2: 3-9. (In Russ.)

8. Shedko MA, Mironova VA, Korennoy FI, Guzeeva TM. Modeling favorable conditions for the spread of dirofilariasis in the European part of Russia. *Medical parasitology and parasitic diseases*. 2020; 3: 36-40. (In Russ.). doi: 10.33092/0025-8326mp2020.3.25-31

9. Rossolovskiy AP, Pyanykh VA, Ignatieva VI, Matina ON, Shevchuk EA, Danilova EP, et al. Dirofilariasis in the Novgorod region. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*. 2012; 2(1-2): 376. (In Russ.)

10. Shchegolenkova AE, Akimov DYu, Indiryakova TA, Romanov VV. The structure and extent of helminthic invasions in the population of stray dogs in the Ulyanovsk region *Materialy VIII Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii*. Saratov; 2014: 294-298. (In Russ.)

11. Pilip LV, Byakova OV. Socially significant human helminthiasis in the Kirov region. *Actual Questions of Veterinary Biology*. 2020; 3: 23-26. (In Russ.). doi: 10.24411/2074-5036-2020-10027

12. Nikanorova AM, Vasilevich FI. Cases of canine dirofilariasis in the Kaluga region. *J. Veterinariya*. 2017; 11: 44. (In Russ.)

13. Starostina OYu, Ryazanova TS, Sverdlova AV. *Dirofilariae* infection of dogs in the Omsk region. *Medical parasitology and parasitic diseases*. 2020; 2: 32-35. (In Russ.). doi: 10.33092/0025-8326mp2020.2.37-42

14. Shaitanov VM, Yastreb VB. Method of histochemical staining for acid phosphatase activity for identification of larvae of the first stage of nematodes of the species *Dirofilaria immitis*, *D. repens*, *Acanthocheilonema dracunculoides* and *A. reconditum* from the blood of dogs. *Russian Journal of Parasitology*. 2018; 12(2): 117-120. (In Russ.). doi: 10.31016/1998-8435-2018-12-2-117-120

15. Slobodyanik RV, Kryazhev AL. The main clinical signs and early diagnosis of canine dirofilariasis in the veterinary practice of farms in the Republic of Armenia. *Russian Journal of Parasitology*. 2020; 14(3): 63-68. (In Russ.). doi: 10.31016/1998-8435-2020-14-3-63-68

16. Ivanova IB. *The parasitic system of Dirofilaria sp. in Khabarovsk*: Abstract of the Dissertation of Cand. Sc. (Biol.). 2013. (In Russ.)

Сведения об авторах

Беспалова Надежда Сергеевна – доктор ветеринарных наук, профессор, профессор кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы, эпизоотологии и паразитологии, ФГБОУ ВО Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I, e-mail: Nadezh.bespalova2014@yandex.ru

Золотых Татьяна Алексеевна – кандидат ветеринарных наук, ветеринарный врач, Ветеринарная клиника «ВетЛига», e-mail: zlata69@mail.ru

Information about the authors

Nadezhda S. Bespalova – Dr. Sc. (Vet.), Professor, Professor at the Department of Veterinary and Sanitary Expertise, Epizootology and Parasitology, Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter the Great, e-mail: Nadezh.bespalova2014@yandex.ru

Tatyana A. Zolotykh – Cand. Sc. (Vet.), Veterinarian, Veterinary Clinic "VetLiga", e-mail: zlata69@mail.ru

Статья поступила: 15.03.2021. Статья принята: 14.05.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 15.03.2021. Accepted: 14.05.2021. Published: 15.06.2021.

ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ И ЮБИЛЕИ
HISTORY OF MEDICINE AND ANNIVERSARIES

DOI: 10.29413/ABS.2021-6.2.25

Всеволод Иванович Астафьев – человек, опередивший время

Григорьев Е.Г., Оленькина Т.В.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия);
ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Григорьев Евгений Георгиевич, e-mail: egg@iokb.ru

Резюме

Статья подготовлена к 100-летию кафедры госпитальной хирургии ИГМУ и 40-летию Сибирского филиала ВНЦХ и подчёркивает роль в их развитии Всеволода Ивановича Астафьева – талантливого организатора здравоохранения и медицинского образования, известного учёного и крупного российского хирурга. Со студенчества В.И. Астафьев активно занимался неотложной хирургией, много работал в экспериментальной лаборатории. К окончанию Курского медицинского института завершил работу над кандидатской диссертацией, однако отказался от аспирантуры и стал работать хирургом районной больницы. Через два года он вернулся в Курский медицинский институт на должность ассистента кафедры госпитальной хирургии и успешно защитил кандидатскую диссертацию.

В возрасте 35 лет Всеволод Иванович защитил докторскую диссертацию и был избран на должность заведующего кафедрой госпитальной хирургии Иркутского медицинского института. В 1981 году по инициативе В.И. Астафьева организован Сибирский филиал Всесоюзного научного центра хирургии АМН СССР – первое в Иркутске академическое учреждение медицинского профиля. Филиал стал школой поливалентных хирургов, педагогов, учёных.

В 1987 году В.И. Астафьев назначен заместителем главного врача Республиканской больницы Якутии. Вскоре после приезда он был избран депутатом Верховного Совета Якутской АССР. По его инициативе при поддержке руководства республики в течение короткого времени был построен и введён в действие современный оснащённый медицинский центр, который по-прежнему успешно работает на уровне ведущих российских и зарубежные клиник.

Ключевые слова: *история медицины, Иркутский государственный медицинский университет, кафедра госпитальной хирургии, Иркутская областная клиническая больница, Сибирский филиал ВНЦХ АМН СССР*

Для цитирования: Григорьев Е.Г., Оленькина Т.В. Всеволод Иванович Астафьев – человек, опередивший время. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 217-222. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.25.

Vsevolod I. Astafyev – the Man ahead of Time

Grigoryev E.G., Olenkina T.V.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation);
Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Evgeniy G. Grigoryev, e-mail: egg@iokb.ru

Abstract

The authors describe the life and activity of a famous scientist and qualified Russian surgeon, a great man with distinguished leadership ability in medicine and higher medical education, Professor Vsevolod Ivanovich Astafyev.

As a student, Vsevolod I. Astafyev was keen about emergency surgery, and worked a lot in experimental laboratory. He graduated from the Kursk medical institute with honors, completing by the time his PhD thesis. However, he gave up postgraduate study and began working as a surgeon in a district hospital. After returning to the Kursk medical institute, Vsevolod I. Astafyev worked as an assistant at the hospital surgery department and successfully defended his PhD thesis. At the age of 35, he defended his doctorate thesis and competed for a post of the head of hospital surgery department at the Irkutsk medical institute. He had continued to be actively engaged in science, pedagogy and practical surgery, and organized the Siberian branch of the All-Soviet Union Scientific Center of Surgery of the USSR Academy of Medical Sciences. The branch had a clinical base with 220 beds at the Irkutsk regional hospital. Vsevolod I. Astafyev created a school of polyvalent surgeons, lecturers, and scholars.

In 1987, Vsevolod Astafyev accepted an offer to become the deputy head doctor of the Republican hospital of Yakutia. Shortly after coming to Yakutsk city, he was elected a deputy of the supreme council of the Yakut Republic. On his initiative, supported by the Republic's governance, a modern equipped medical center was built and put into operation within a short time. The so-called "sanctuary of science" still successfully works as one of the leading clinics of Russia and abroad.

Key words: *history of medicine, Irkutsk State Medical University, Department of Hospital Surgery, Irkutsk Regional Clinic, Siberian Branch of All-Soviet Union Scientific Centre of Surgery*

For citation: Grigoryev E.G., Olenkina T.V. Vsevolod I. Astafyev – the Man ahead of Time. *Acta biomedica scientifica*. 2021; 6(2): 217-222. doi: 10.29413/ABS.2021-6.2.25

В 2021 году кафедра госпитальной хирургии Иркутского государственного медицинского университета отмечает 100-летний юбилей, а сорок лет назад, в 1981 году, в Иркутске был открыт Сибирский филиал Всесоюзного научного центра хирургии АМН СССР с клиникой на 220 коек. Обе структуры объединены именем Всеволода Ивановича Астафьева – четвертого заведующего кафедрой и первого директора филиала.

Вклад Всеволода Ивановича в развитие образования в Иркутском медицинском институте, подготовку врачебных кадров, развитие хирургии области уникален. Он опережал время, впечатляя окружающих работоспособностью, энергией, передовыми взглядами, оригинальным мышлением. Бесстрашно брался за всё новое, изумлял энциклопедическими знаниями.

Всеволод Иванович родился в Воронеже 26 сентября 1933 года. В 1951 году поступил в Курский медицинский институт. Под руководством профессора А.В. Беличенко он занимался в научном кружке кафедры госпитальной хирургии, дежурил в клинике, со второго курса ассистировал на экстренных операциях (рис. 1).

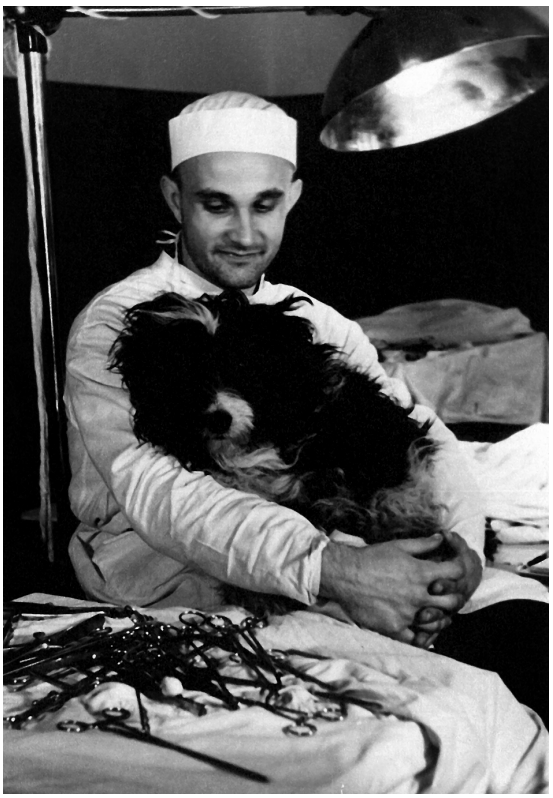


Рис. 1. В.И. Астафьев – студент 5-го курса Курского медицинского института. Выполнение экспериментальной части научной работы

Fig. 1. Vsevolod Astafyev is a student of the 5th year of Kursk medical institution. Experimental part of his scientific work

В 1957 году, окончив вуз с отличием, В.И. Астафьев приступил к работе хирургом Верхне-Любажской больницы, где в свое время заведовал отделением В.Ф. Войно-Ясенецкий. Через два года он был переведён в Курскую областную больницу, стажировался в Москве в клинике Б.В. Петровского. Присутствовал на операциях А.Н. Бакулева, Е.Н. Мешалкина [2].

В 26 лет Всеволод Иванович успешно защитил кандидатскую диссертацию «Гомотрансплантация грудной аорты в условиях гипотермии», исследование по которой начал на 3-м курсе института, и стал самым молодым кандидатом медицинских наук в СССР (рис. 2).

Рис. 2. Самый молодой кандидат медицинских наук СССР

Fig. 2. The youngest Candidate of Medical Sciences in the Soviet Union

Одиннадцать лет В.И. Астафьев работал ассистентом, затем доцентом кафедры госпитальной хирургии Курского медицинского института, читал курс лекций по травматологии и ортопедии. Всеволод Иванович активно оперировал, выполнял вмешательства при заболеваниях желудка и пищевода, опухолях средостения, раке прямой кишки. Из редких в то время вмешательств можно назвать восстановительную операцию при пересечении правого главного бронха вследствие ножевого ранения. Он выполнил несколько реконструктивных операций на почках с резекцией лоханочно-мочеточникового сегмента. Провёл первые реконструктивные вмешательства на брюшной аорте и магистральных артериях при облитерирующем атеросклерозе. Внедрил регионарную перфузию при остеомиелитах, тромбозе

глубоких вен нижних конечностей и больших кожно-мышечных дефектах при трофических язвах.

Темой докторской диссертации Всеволод Иванович выбрал врачебные ошибки в неотложной хирургии. Консультантом был главный хирург РСФСР Н.И. Краковский. Необычной стала идея использовать в медицине методы кибернетики, к которой на тот момент отношение было скептическим. Защита состоялась в 1971 году в Самарском медицинском институте при единогласном одобрении членов авторитетного диссертационного совета. Однако решение не было утверждено ВАКом. Есть основания думать, что причиной стали изыскания в области кибернетики и медицинской информатики [1].

В том же году Всеволод Иванович по предложению главного хирурга Иркутской области П.А. Маценко принял участие в конкурсе на заведование кафедрой госпитальной хирургии Иркутского государственного медицинского института. К тому времени он был опытным поливалентным хирургом, состоявшимся педагогом и уч`ным, имевшим более 70 научных публикаций (рис. 3).

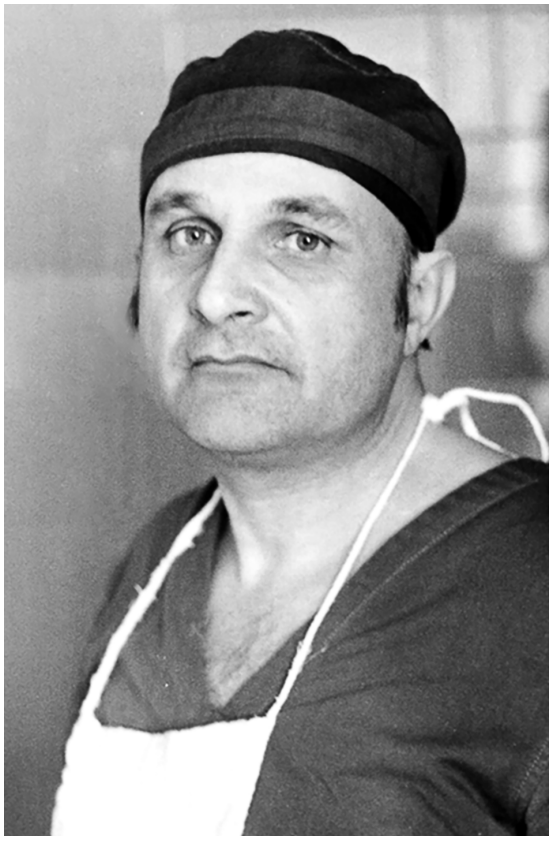


Рис. 3. Заведующий кафедрой госпитальной хирургии ИГМИ

Fig. 3. Head of the Department of Advanced Level Surgery at Irkutsk State Medical Institute

В апреле 1972 года Всеволод Иванович приехал в Иркутск. Став заведующим кафедрой в 39 лет, он поставил ближайшие задачи: расширение клинической базы (кафедра располагала 90 койками), оснащение современным диагностическим оборудованием, решение проблемы кадров за счёт привлечения перспективной молодёжи.

Всеволоду Ивановичу удалось убедить заместителя министра здравоохранения СССР сделать для Иркутского мединститута исключение и выделить 8 мест в клиническую ординатуру кафедры. Они были заполнены выпускниками 1973 года.

Молодые врачи – аспиранты и ординаторы кафедры – с увлечением включились в лечебную и научную работу. Началось оснащение современной аппаратурой клинической базы – Иркутской областной клинической больницы. Это стало возможно благодаря настойчивости и предприимчивости заведующего кафедрой. Он добивался выделения валюты на приобретение медицинского оборудования через Минздрав СССР, получал помощь от промышленных предприятий области, организовывал проведение в Иркутске на базе кафедры международных выставок медицинской аппаратуры, которая потом оставалась в регионе. Приобретённая техника определила лечебно-научный потенциал клиники на много лет вперед.

Была увеличена коечная база областной больницы. Сохранив гастроэнтерологическую школу профессора З.Т. Сенчилло-Явербаум, Всеволод Иванович инициировал открытие специализированных отделений: кардиохирургии, грудной хирургии, хирургической инфекции, анестезиологии и реанимации, эндоскопии, микрохирургии, колопроктологии, неотложной хирургии. На кафедру и в клинику пришли новые кадры.

Весной 1973 года В.И. Астафьев выполнил первые закрытые операции на сердце (рис. 4). В 1974 году он направил в Москву группу врачей для освоения методов искусственного кровообращения, а на базе клиники организовал межобластной кардиохирургический центр. К открытию были обучены специалисты, приобретено оборудование, накоплен опыт закрытых операций на сердце. В 1976 году кардиохирургический центр включал 50 коек, кардиореанимацию, лабораторию экстренной диагностики, лабораторию искусственного кровообращения [1].

Рис. 4. Первая в Иркутске операция в условиях искусственного кровообращения выполнена В.И. Астафьевым 23 августа 1974 г.

Fig. 4. Vsevolod Astafyev performed the first in Irkutsk operation under extracorporeal circulation on August 23, 1974

В это же время открыт областной центр рентгеноконтрастных методов исследования, оснащённый современным ангиографическим комплексом. Для других направлений лечебной работы были приобретены ультразвуковой аппарат, гастро- и бронхоскопы, лабораторные приборы и много иной медицинской техники. К концу 1979 года оснащение клиники было в целом завершено.

По мнению В.И. Астафьева, успех клиники госпитальной хирургии обеспечивали в первую очередь специалисты высокого уровня: П.Н. Викулин, Н.Р. Зеленин, Е.А. Пак, В.Ф. Пирожков, М.Б. Скворцов, М.С. Чекан, В.Н. Ванеева, Ф.А. Черкашин, В.Л. Манн, В.Е. Дьячков, Л.А. Матханов и другие.

Кафедры госпитальной хирургии, появившиеся в медицинских вузах по предложению Н.И. Пирогова, призваны окончательно сформировать клиническое мышление выпускников, обучить первым навыкам работы хирургом. Особая роль в этом отводилась субординатуре. Именно В.И. Астафьев создал методику обучения субординаторов-хирургов в ИГМИ. Разработанные им принципы кафедра использовала на протяжении последующих 26 лет. Система подготовки включала лекционные занятия по субботам, еженедельные конференции, доклады студентов. Ни одна операция не проводилась без участия субординаторов. К концу учебного года будущие хирурги выполняли 10–15 аппендэктомий и 2–5 грыжесечений. На протяжении нескольких лет он внедрял не сдачу госэкзаменов, а защиту дипломов, что было совсем не характерно для медицинских вузов [1]. Кафедра подготовила свыше тысячи хирургов для Иркутской области, Бурятии, Якутии, Забайкальского края. Бывшие субординаторы успешно работают в Германии, Израиле, США и т. д.

Первое в Иркутске аортокоронарное шунтирование при ишемической болезни сердца Всеволод Иванович выполнил в 1975 году. К тому времени был накоплен опыт селективной фармакоангиографии при заболеваниях органов брюшной и грудной полостей, освоена коронарография. В 1981 году начата работа по малоизученной проблеме – тромболитической терапии острого инфаркта миокарда. Было организовано круглосуточное дежурство всех специалистов. Много сделано для оснащения рентгеноперационной, координации работы с врачами-кардиологами скорой помощи. Метод селективного коронарного тромболизиса позволил более чем в три раза снизить летальность при трансмуральном инфаркте миокарда. С 1983 года стали выполнять баллонную дилатацию стенозированных коронарных артерий при ишемической болезни сердца. Эндоваскулярные вмешательства применялись также при лечении различных заболеваний лёгких, печени, поджелудочной железы, желудочном и лёгочном кровотечениях.

В.И. Астафьев при поддержке министра здравоохранения академика Б.В. Петровского провёл подготовительную работу по созданию на базе кафедры объединённого с нею Сибирского филиала ВНЦХ АМН СССР, который был открыт в 1981 году (рис. 5).

Клиническая база составила 220 коек в Иркутской областной клинической больнице, в 1986 году их стало 310. В 1984 году после согласования с областным комитетом КПСС для строительства собственного комплекса зданий филиала был выделен земельный участок 19,4 га, подготовлена проектно-сметная документация. В 1986 году должно было начаться сооружение клинического корпуса.

1987 год стал драматическим для кафедры и филиала. В декабре Иркутский обком КПСС освободил В.И. Астафьева от занимаемых должностей без достаточного обоснования такого решения.

Но общепризнанный авторитет иркутской школы хирургии всегда будет связан с его именем. За годы работы в Иркутске под его руководством и при личном участии были реализованы новаторские проекты, многое было

Рис. 5. Открытие Сибирского филиала ВНЦХ АМН СССР в 1981 году. Третий слева – министр здравоохранения СССР Б.В. Петровский

Fig. 5. Opening of Siberian Branch of All-Soviet Union Scientific Centre of Surgery in 1981. The Minister of Health of the USSR Boris Petrovskiy is the third one on the left

выполнено впервые на территории Сибири и Дальнего Востока.

Хирург, учёный, организатор высокого уровня не мог остаться без работы. Отклонив предложения о работе в Москве и Ереване, он выбрал Якутск. У кафедры госпитальной хирургии сложились прочные рабочие связи с Министерством здравоохранения и главным хирургом Якутии. Коллектив кафедры осуществлял консультативную и лечебную помощь, подготовку кадров для республики. Работая в Иркутске, Всеволод Иванович и его ученики не раз приезжали в Якутск и выполняли плановые и экстренные операции. Хирурги из Якутии проходили стажировку на кафедре госпитальной хирургии, участвовали в конференциях. По согласованию с руководством республики в июне 1988 года профессор Астафьев был приглашён в Якутскую республиканскую больницу на должность заместителя главного врача по лечебной работе.

Подробностями деятельности Всеволода Ивановича в Якутске поделился Местников Иван Иванович, министр здравоохранения ЯАССР в 1984–1990 годах: «Открытие в Якутске Национального медицинского центра – уникального больничного комплекса, не имеющего аналогов в Сибири и на Дальнем Востоке, – стало возможным во многом благодаря Астафьеву В.И.».

Министр здравоохранения СССР Е.И. Чазов и министр здравоохранения РСФСР А.И. Потапов, будучи в Якутске, одобрили идею строительства крупного медицинского комплекса и посоветовали поручить этот проект В.И. Астафьеву [3].

В мае 1989 года был подписан трёхсторонний строительный контракт между Министерством здравоохранения ЯАССР, СП «Фарус» и австрийской фирмой «Поленски Цолнер», которая привлекала к выполнению контракта более 50 зарубежных фирм-субподрядчиков [3].

В августе 1989 года заложен фундамент здания. Учитывая грандиозность замысла, экстремальные климатические условия, строительство планировалось закончить за 70 месяцев. Мало кто верил, что проект вообще возможен в условиях вечной мерзлоты. Однако через 27 месяцев объект был сдан в эксплуатацию (рис. 6).

В реализации грандиозного плана встретилось много препятствий, которые были преодолены благодаря усилиям правительства республики, ответственности советских участников стройки и опыту профессора Астафьева.

В июле 1992 года приступили к работе поликлинические и диагностические структуры, с осени постепенно стали вводить в действие стационар. Эту дату можно считать фактическим началом истории медцентра. Как писал в воспоминаниях сам Всеволод Иванович, «медицинский центр в Якутске по своему проектному решению, функциональным связям и уровню оснащения медицинской техникой ещё долгие годы в Сибири и на Дальнем Востоке не будет иметь себе равных, а приобретённый опыт организации строительства и финансирования будет оставаться уникальным. То, что обстоятельства не позволили мне осуществить в Иркутске, удалось полностью реализовать в Якутске».

В.И. Астафьев был избран депутатом Верховного Совета Якутской АССР. Из шести кандидатов Всеволод Иванович вышел победителем во втором туре с большим преимуществом. Его встречи с избирателями часто заканчивались врачебными консультациями и осмотрами. Астафьев работал в двух комитетах Верховного Совета: по научно-технической политике и экономике [3].

В 1992 году В.И. Астафьев переехал в Москву и активно включился в работу Международной академии информатизации в должности вице-президента. В его круг интересов входили вопросы информатики и гомеостатики. Его заслуги в развитии информатизации были высоко

Рис. 5. Здание Национального центра медицины Республики Саха (Якутия)
Fig. 5. The National Medical Center of the Republic of Sakha (Yakutia)

оценены. Он стал лауреатом Международной премии и Золотой медали «За выдающиеся заслуги в области информатизации мирового сообщества», в 1995 году был награждён медалью Организации Объединённых Наций. Население северной республики с благодарностью вспоминает добрые дела Всеволода Ивановича. В июне 2017 года в Якутске состоялось торжественное открытие мемориальной доски в честь выдающегося человека, врача, учёного.

10 мая 1999 года болезнь преждевременно оборвала жизнь Всеволода Ивановича. В сентябре 2007 года была открыта памятная доска на здании операционного блока Иркутской областной клинической больницы, создание которого, безусловно, связано с новаторскими идеями хирурга В.И. Астафьева.

ЛИТЕРАТУРА

1. Григорьев Е.Г., Смирнов В.Л. *Госпитальная хирургическая клиника: 1921–2001 гг.* Иркутск: Иркутский дом печати; 2001.

2. *Курская энциклопедия.* URL: http://www.mke.su [Дата доступа: 14.04.2021].

3. Местников И.И. К 80-летию со дня рождения профессора В.И. Астафьева. *Якутский медицинский журнал*. 2013; 4: 100-101.

REFERENCES

1. Grigoryev EG, Smirnov VL. *Hospital surgical clinic in 1921–2001*. Irkutsk: Irkutskiy dom pechati; 2001. (In Russ.)

2. *Encyclopedia of Kursk*. URL: http://www.mke.su [Date of access: 14.04.2021]. (In Russ.)

3. Mestnikov II. 80th anniversary of professor Vsevolod I. Astafyev. *Yakut Medical Journal*. 2013; 4: 100-101. (In Russ.)

Сведения об авторах

Григорьев Евгений Георгиевич – доктор медицинских наук, профессор, 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: egg@iokb.ru, https://orcid.org/0000-0002-5082-7028

Оленькина Татьяна Витальевна – помощник научного руководителя, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; старший лаборант кафедры госпитальной хирургии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: to.irk@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-2018-0478

Information about the authors

Evgeny G. Grigoryev – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Scientific Advisor, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Head of the Department of Advanced Level Surgery, Irkutsk State Medical University, e-mail: egg@iokb.ru, https://orcid.org/0000-0002-5082-7028

Tatyana V. Olenkina – Assistant of Scientific Advisor, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Senior Assistant at the Department of Advanced Level Surgery, Irkutsk State Medical University, e-mail: to.irk@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-2018-0478

Статья поступила: 16.04.2021. Статья принята: 19.04.2021. Статья опубликована: 15.06.2021.
Received: 16.04.2021. Accepted: 19.04.2021. Published: 15.06.2021.

Формат А4 (60×84/8). Бумага офсетная. Сдано в печать 18.05.2021.
Подписано в печать 11.06.2021, дата выхода в свет 15.06.2021.
Печ. л. 28,0. Усл. печ. л. 26. Уч. изд. л. 22,8. Зак. 020-21. 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